

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 49

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2024

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

**Baş Editör / Editor-in Chief**

ÇAKIR, İbrahim; *Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey*

**Editörler / Editors**

AVCI, Ayşe; *Sakarya University, Turkey*

AYDIN, Furkan; *Aksaray University, Turkey*

ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; *Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey*

DEMİRKESEN MERT; İlkem, *Ministry of Agriculture and Forestry, Turkey*

DEMİROK SONCU, Eda; *Ankara University, Turkey*

ERİNÇ, Hakan; *Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey*

EYİLER, Esen; *Akdeniz University, Turkey*

KULEAŞAN, Şükran; *Mehmet Akif University, Turkey*

TORUN, Mehmet; *Akdeniz University, Turkey*

YILMAZ, Merve Silanur; *Bilis Eren University, Turkey*

**Yönetim Yeri**

**Adres / Address**

Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey

**Tel:** (+90) 0534 968 5994 • **Faks:** (+90) 312 317 8711

**E-posta / E-mail:** dergi@gidadernegi.org

**URL:** <http://www.gidadernegi.org>

**Yayın Türü:** Yaygın süreli ve hakemli

**Hazırlayan / Prepared**

Sim Ajans

19. Sokak No: 47/1 Emek / Ankara

Tel : (+90) 312 925 25 95

e-mail: simajans@simajans.com

**Yayın Tarihi / Publication Date**

15 08 2024

**Danışma Kurulu / Advisory Board**

Akköse, Ahmet; *Atatürk University, Turkey*

Ank, Gökşen G.; *Balıkesir University, Turkey*

Atalar, İlyas; *Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey*

Baysal, A. Handan; *İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey*

Bezirtzoglou, Eugenia; *Democritus University of Thrace, Greece*

Bozkır, Hamza; *Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey*

Çilak, Gizem Ö.; *Hitit University, Turkey*

Draughon, Ann *Tennessee University, USA*

El Soda, *Morsi University of Alexandria, Egypt*

Erbay, Zafer; *Adana Bilim ve Teknik University, Turkey*

Evren, Mustafa; *Ondokuz Mayıs University, Turkey*

Fogliano, Vincenzo *University of Napoli Federico II, Italy*

Gerçekaslan, K. Emre; *Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey*

Ghosh, Bikash C. *National Dairy Research Institute, India*

Gollop, Natan *The Volcani Center, ARO, Israel*

Griffiths, Mansel *University of Guelph, Canada*

Güneşer, Onur; *Uşak University, Turkey*

Güven, Esra Ç.; *İstanbul Teknik University, Turkey*

Ho, Chi-Tang *The State University of New Jersey, USA*

Hoşoğlu, Müge İ.; *Gebze Teknik University, Turkey*

Hüner, İrem D.; *Trakya University, Turkey*

Kahraman, Kevser; *Abdullah Gül University, Turkey*

Karaca, Hakan; *Pamukkale University, Turkey*

Koçan, Deniz; *Aksaray University, Turkey*

Konuşkan, Dilşat B.; *Mustafa Kemal University, Turkey*

Kuleaşan, Hakan; *Süleyman Demirel University, Turkey*

Meral, Raciye; *Yüzüncü Yıl University, Turkey*

Mete, Aylin A.; *Mersin University, Turkey*

Morales, Francisco J. *CSIC Instituto del Fr o, Spain*

Mujtaba, Mustafa G. *Florida Gulf Coast University, USA*

Mutlu, Türkan K.; *Çukurova University, Turkey*

Öztürk, Fatma; *Kâtip Çelebi University, Turkey*

Paalme, Toomas *Tallinn University of Technology, Estonia*

Parlar, Harun *Technical University of Munich, Germany*

Raspor, Peter *University of Primorska, Slovenia*

Rezessy-Szabo, Judit M. *Corvinus University of Budapest, Hungary*

Sarı, Ferda; *Cumburiyet University, Turkey*

Şengün, İlkin Y.; *Ege University, Turkey*

Soyer, Yeşim; *Orta Doğu Teknik University, Turkey*

Toğay, Sine Ö.; *Bursa Uludağ University, Turkey*

Toker, Ömer S.; *Yıldız Teknik University, Turkey*

Velioglu, Murat; *Namık Kemal University, Turkey*

Yemiş, Gökçe P.; *Sakarya University, Turkey*

Yolaçaner, Elif; *Hacettepe University, Turkey*

Yorulmaz, Aslı; *Adnan Menderes University, Turkey*

Zorba, Murat; *Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey*

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

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

# İçindekiler / Content GIDA (2024)49(4)

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Dağdelen, A. F., Kırac Demirel, F. T., Sarıcaoğlu, F. T. (2024). Preventing of migration in food contact polyvinyl chloride-based stretch films with polylactic acid layer / Gıda ile temas eden polivinil klorür bazlı streç filmlerdeki migrasyonun polilaktik asit katmanı ile engellenmesi . . . . .624-640

Aydın, E. (2024). The impact of raisin consumption on quercetin bioavailability: An in vivo approach / Kuru üzüm tüketiminin kuersetin biyoyararlanımı üzerindeki etkisi: In vivo yaklaşım . . . . .741-750

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Elmas, E. T., Karagül Yüceer, Y. (2024). Yoğurdun uçucu bileşen profili ve duyuşal özellikleri üzerine kültür çeşidinin etkileri / Effects of culture type on volatile component profile and sensory properties of yogurt . . . . .595-606

Akbulut, H. F. (2024). *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. kırmızı alıç türlerinin meyve, çekirdek, sap kısımlarının fitokimyasal ve antioksidan özellikler açısından değerlendirilmesi / Evaluation of fruits, seeds and stem parts of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. red hawthorn species in terms of phytochemical and antioxidant properties . . . . .669-681

Öztürk, B., Kılıç, G., Kırmızıgül Peker, A., Atlama, K., Yahşi, Y., Yücel Şengün, İ. (2024). Türkiye’de satışa sunulan şalgam sularının laktik asit bakterileri potansiyelinin değerlendirilmesi / Investigation of the microbiological properties of shalgam juice exposed for sale in Turkey . . . . .624-640

Ok, S., Yılmaz, E. (2024). Üç boyutlu (3D) baskı tekniğiyle elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin üretimi ve karakterizasyonu / Production of apple and carrot juice based products using three-dimensional (3D) printing technique and their characterization . . . . .714-729

Uyanık, T., Bölükbaş, A., Gücükoğlu, A., Çadırcı, Ö., Sezener Kabay, M. G. (2024). Sığır karkaslarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşturma özellikleri ile quorum sensing ve major karbapenemaz genlerinin araştırılması / Assessment of biofilm formation, quorum sensing and major carbapenemase genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cattle carcasses . . . . .730-740

## Derlemeler (İngilizce) / Reviews (English)

Can, B., Majoo, F., Öztürkcan, A. (2024). Consumer acceptance, attitude and knowledge studies on alternative protein sources: Insight review / Alternatif protein kaynakları üzerine tüketici kabulü, tutumu ve bilgi çalışmaları: Derleme makalesi . . . . .682-702

Doğan Güney, H., Göbel, P. (2024). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): A comprehensive look at their attributes, phytochemical profile, and impact on health / Chia tohumu (*Salvia hispanica* L.): Genel bakış, fitokimyasal profili ve sağlık üzerine etkisi . . . . .766-776

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve çoğunluk algılama (quorum sensing) sistemi / Biodiversity of *Pseudomonas*, spoilage characteristics, biofilm production, and quorum sensing system in meat and meat products . . . . .607-623

Öztürk, B., Sulak, G., Eker, S., Yücel Şengün, İ. (2024). Paraprobiyotikler ve postbiyotikler: Gıda ve farmakoloji uygulamaları / Paraprobiotics and postbiotics: Applications in food and pharmacology . . . . .641-655

Özdemir, M., Şengül, A. K., Bulamacı, B., Taşdemir, B. (2024). Soğuk plazma teknolojisinin meyve, sebze, et, tavuk ve su ürünlerindeki uygulamaları / Applications of cold plasma technology in fruit, vegetable, meat, chicken and aquatic products . . . . .656-668

Kaya, B., Karagül Yüceer, Y. (2024). Filamentli fungusların (küflerin) alternatif besin kaynağı olarak değerlendirilmesi / Evaluating filamentous fungi (molds) as a food source . . . . .751-765



## YOĞURDUN UÇUCU BİLEŞEN PROFİLİ VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE KÜLTÜR ÇEŞİDİNİN ETKİLERİ

**Emine Tuğçe ELMAS, Yonca KARAGÜL YÜCEER\***

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

Geliş/Received: 18.04.2024; Kabul /Accepted: 04.06.2024; Online baskı /Published online: 24.06.2024

Elmas, E. T., Karagül Yüceer, Y. (2024). Yoğurdun uçucu bileşen profili ve duyuşsal özellikleri üzerine kültür çeşidinin etkileri. GIDA (2024) 49 (4) 595-606 doi: 10.15237/ gida.GD24045

*Elmas, E. T., Karagül Yüceer, Y. (2024). Effects of culture type on volatile component profile and sensory properties of yogurt. GIDA (2024) 49 (4) 595-606 doi: 10.15237/ gida.GD24045*

### ÖZ

Çalışmada, yoğurt üretiminde farklı kültür çeşitleri kullanımının yoğurdun bazı kimyasal ve duyuşsal özellikleri ile uçucu bileşenleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla altı farklı ticari kültür kullanılmıştır. Yoğurt örneklerinin protein, kül, titrasyon asitliği, laktoz ve tirozin değerlerinin sırasıyla %4.13-4.38, %1.10-1.21, %0.92-1.23, %5.62-6.19 ve 9.57-14.76 mg tirozin/100 g yoğurt arasında değiştiği ortaya konmuştur. Uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla katı faz mikroekstraksiyon tekniği ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi kullanılmıştır. Analiz sonucunda asetaldehit, diasetil, asetoin, asetik asit, bütanoik asit ve hekzanoik asit yoğurtların karakteristik uçucu bileşenleri olarak saptanmıştır. Tanımlayıcı duyuşsal analizler sonucunda topaklı yapı, kıvam, sünen yapı, fermente ve ekşi terimleri panelistlerce en yoğun algılanan duyuşsal özellikler olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yoğurt, kültür, uçucu bileşen, duyuşsal

## EFFECTS OF CULTURE TYPE ON VOLATILE COMPONENT PROFILE AND SENSORY PROPERTIES OF YOGURT

### ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of using different varieties of cultures in yogurt production on some chemical, sensory properties and volatile compounds. Six different starter cultures were used for this purpose. It was revealed that the protein, ash, titratable acidity, lactose and tyrosine values of yoghurts varied between 4.13-4.38%, 1.10-1.21%, 0.92-1.23%, 5.62-6.19% and 9.57-14.76 mg tyrosine/100g yogurt, respectively. Solid phase microextraction technique and Gas Chromatography-Mass Spectrometry were used to determine volatile components. Acetaldehyde, diacetyl, acetoin, acetic acid, butanoic acid and hexanoic acid were determined as the characteristic volatile compounds of yoghurts. As a result of descriptive sensory analysis, the terms lumpy structure, consistency, ropy structure, fermented and sour were determined as the most intensely perceived sensory characteristics by the panelists.

**Keywords:** Yogurt, culture, volatile component, sensory

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: yoncayuceer@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018/20051

☎: (+90) 286 218 0541

Emine Tuğçe Elmas: 0000-0002-6694-0957

Yonca Karagül Yüceer: 0000-0002-9028-2923



## GİRİŞ

Yoğurt, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kültürleri kullanılarak üretilen ve yaygın tüketilen fermente bir süt ürünüdür. Günümüzde yoğurdun yaygın olarak tüketilen bir gıda olmasının sebebi, çeşitli sağlık faydalarının yanı sıra tat ve duyuşal özellikleri ile de ilişkilidir. Yoğurt, 'yeşil elma' aromasına ve pürüzsüz, viskoz jel benzeri bir yapıya sahip bir gıdadır. Bu özellikler yoğurdun tüketiciler tarafından kabul edilebilir özelliklere sahip olmasında önemli rol oynamaktadır. Tüketiciler tarafından tercih edilen tipik yoğurt aroması, yoğurt yapımında sütün fermantasyonu amacıyla kullanılan starter kültürler tarafından laktik asit fermantasyonu sırasında oluşmaktadır. Yoğurt starter kültürleri, fermantasyon sırasında başta laktoz olmak üzere diğer besin maddelerini çeşitli lezzet ve aroma bileşenlerine dönüştürmektedir. Bugüne kadar çeşitli yoğurt kültürleri tarafından üretilen 100'den fazla farklı uçucu bileşen rapor edilmiştir (Krastanov vd., 2023).

Temel gıda muhafaza yöntemlerinden biri olan fermantasyon, gıdaların besin değerini, raf ömrünü ve duyuşal niteliklerini önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu süreç, gıdanın temel bileşenlerinin (karbohidratlar, proteinler ve lipitler) biyokimyasal materyallerini parçalayan, sindirimi ile tadını iyileştiren ve gıdanın farmakolojik ve besinsel faydalarını artıran çeşitli mikroorganizmaları içerir. Yoğurtta bulunan lezzet bileşiklerinin çoğu starter kültürlerdeki mikroorganizmaların yani laktik asit bakteri aktivitesinin bir sonucu oluşmaktadır. Bu starter kültürlerde bulunan mikroorganizmalar, fermantasyon sırasında süt yağının serbest yağ asitlerine (lipoliz), kazeinin peptidlere ve serbest amino asitlere (proteoliz) ve karbohidratların laktik aside veya diğer metabolitlere parçalanmasını içeren üç temel biyokimyasal görevi yerine getirmektedir.

Lezzet gıdalarda oldukça önemlidir; tüketiciler için lezzet, gıdanın tüketim miktarını ve genel kabul edilebilirlik değerini gösteren önemli bir parametredir (Panesar, 2011). Starter kültürler, işleme koşulları, sütün türü ve diğer bazı bileşenleri içermesi bakımından yoğurdun

lezzetinde oldukça etkili rol oynamaktadır. Ancak bu parametreler dahilinde olsa bile yoğurttaki lezzet bileşenlerinin gelişimi çoğunlukla kullanılan starter kültürlerden kaynaklanmaktadır (Akan vd., 2021). Yoğurt üretiminde kullanılan iki bakteri arasındaki simbiyotik ilişki, proto-kooperasyon olarak adlandırılmaktadır ve her biri sütte tek başına gelişse de fermantasyon sırasında karşılıklı olarak birbirlerinin gelişimini teşvik etmektedirler. İlişkisel gelişimleri ve karşılıklı uyanımları nedeniyle, birlikte kullanıldıkları kültürlerdeki lezzet bileşenlerinin sayısı, ayrı ayrı kullanıldıkları kültürlerin her birinden önemli ölçüde daha yüksektir. Laktik asit fermantasyonu sırasında bu kültürlerin faaliyeti sonucu yüksek oranda aroma bileşiği üretildiği belirlenmiştir (Cheng, 2010).

Laktik asit bakterileri sütte bulunan laktozu birincil enerji ve karbon kaynağı olarak kullanmaktadır. Aslında, yoğurdun kendine özgü asidik tadı, laktozun laktik asit bakterileri tarafından laktik aside dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır. Laktik asit bakterilerindeki iki farklı karbohidrat fermantasyon yolu olan homofermantasyon ve heterofermantasyon laktik asit bakteri türlerine, substrata ve çevresel faktörlere bağlı olarak çeşitli metabolik son ürünlerle sonuçlanır. Yoğurdun karakteristik aroması asetaldehit, diasetil, aseton, aseton ve 2, 3-bütandiol gibi çeşitli bileşikler tarafından üretilmektedir. Bu moleküller, belirli laktik asit bakterileri tarafından sitrat veya glikoliz metabolizması sonucunda üretilmektedir. Diasetil, önemli bir lezzet bileşiğidir ve hem *S. thermophilus* hem de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından üretilmektedir (Tamime ve Robinson, 1999).

Yoğurdun hoş bir tat ve aromaya sahip olması için proteoliz önemli biyokimyasal bir adımdır. Bazı laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitesi sonucunda proteinler hidrolize olarak amino asitlerin ve peptitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Proteoliz ve bir aminoasidin parçalanması süreci iki aşamadan oluşur. Proteinazlar, proteinlerin oligopeptitlere parçalanmasına neden olur ve yoğurtta da kazeinin proteolize uğramasını sağlamaktadır. İkinci aşama ise di-, tri- ve oligopeptitlerin

hücreye taşınması olayıdır. Peptidazlar, kazeinden türetilmiş peptitleri hidrolize eder. Kazeinden türetilmiş peptitler ise laktik asit bakterileri tarafından amino asitlere kadar parçalanır (Krastanov vd., 2023). Proteoliz sonucu üretilen serbest amino asitlerden amonyak, aminler, aldehitler, fenoller, indol ve alkoller dahil olmak üzere çeşitli lezzet bileşikleri oluşur ve bu bileşiklerin tümü yoğurdun lezzetine katkıda bulunmaktadır (Cheng, 2010).

Fermente gıdalarda lezzet bileşenleri üreten iki ana süreç lipoliz ve yağ asidi oksidasyonudur. Fermente gıdaların çoğu lipitlerin (trigliseritler, digliseritler ve monogliseritler) parçalanmasıyla üretilen önemli lezzet bileşenlerinden olan serbest yağ asitlerini içermektedir. *Lactobacillus* suşları lipaz aktivitesi sayesinde serbest yağ asitlerini üreterek özellikle doymuş ve doymamış yağ asitleri, alkanlar, metil ketonlar, esterler, ikincil alkoller ve laktonlar dahil olmak üzere çeşitli uçucu bileşiklerin üretilmesini sağlamaktadır (Tamime ve Robinson, 1999). Güçlü meyvemsi aromalar sağlayan  $\alpha$ - $\delta$ -laktonlara dönüşen 4-5-hidroksi asitlerin sentezi, doymamış yağ asidi metabolizmasından da kaynaklanabilir (Krastanov vd., 2023).

Çeşitli çalışmalarda, yoğurtta bulunan bazı uçucu bileşikler laktik asit bakteri türleriyle ilişkilendirilmiştir ve bu da laktik asit bakterilerinin yoğurt da dahil olmak üzere birçok fermente gıdanın lezzetini önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir (Tamime ve Robinson, 1999; Cheng, 2010; Köse ve Ocak, 2014). Yoğurtta *Lactobacillus* türü baskındır ve bu tür esterler, aldehitler, asitler, ketonlar ve alkollerin oluşmasına katkı sağlamaktadır (Krastanov vd., 2023). Dolayısıyla yoğurt kültürlerinin seçimi, kültürlerin oran ve kombinasyonlarının kullanım şekli yoğurtta arzu edilen lezzet özelliklerinin elde edilmesinde oldukça önemlidir. Yoğurtta bulunan uçucu asitlerin, aroma ve tat oluşumu yanında beslenme ve sağlık üzerine de olumlu etkileri bulunmaktadır (Oyeniran vd., 2020). Yoğurdun tercihinde yoğurt üretiminde kullanılan starter kültürler önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle çalışmada, yoğurt üretiminde kullanılan farklı ticari kültür çeşitlerinin ürünün uçucu bileşen

profilini ve duyuşal özellikleri üzerine etkilerinin kantitatif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Yoğurt Üretimi

Standart bir hammadde olması amacıyla, Enka Süt ve Mamulleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Konya) tarafından sağlanan yağsız sütozu kullanılarak rekonstitüe süt elde edilmiştir. Üretimde kullanılan Yo-tech K-44 (A), Yo-tech M-51 (B) ve Yo-tech M-71 (C) kültürler Maysa Gıda (İstanbul) firmasından ve CH-1 (D), YF-L903 (E) ve Yoflex Advance 2.0 (F) kültürler ise Chr. Hansen (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Kuru maddesi yaklaşık %12'ye ayarlanan 30 L yağsız rekonstitüe süt 6 eşit kısma ayrılarak su banyosunda 85°C'de 30 dakika pastörize edildikten sonra hızla 45°C'ye soğutulmuştur. Her süt partisine üretici firma tarafından önerilen miktarda yoğurt kültürleri ayrı ayrı ilave edilerek 210 mL hacmindeki cam kavanozlara dolun yapılan sütler 45°C'de inkübasyona bırakılmıştır. pH değeri 4.8 olan yoğurt örneklerinin inkübasyonu sonlandırılmış ve hızla soğutulmuş buzdolabı koşullarında ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) 21 gün depolanmıştır. Yoğurt üretimi iki tekrarlı gerçekleştirilmiştir.

#### Kimyasal Analizler

Yoğurt örneklerinde; % laktik asit cinsinden titrasyon asitliği (LA), protein ve kül değerleri (AOAC, 2000) belirlenmiştir. Örneklerdeki laktoz miktarı (Lane-Eynon) (Kırdar, 2019) ve proteoliz düzeyinin saptanması amacıyla ise tirozin miktarı (Hull, 1947) tespit edilmiştir.

#### Uçucu Bileşen Analizi

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktar belirlemesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ve HP-INNOWax (60 m  $\times$  0.25 mm ID, 0.25  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies) kullanılmıştır. Uçucu bileşenler katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak izole edilmiştir. 40 mL hacmindeki SPME vialine (Supelco, Bellafonte, ABD) 5 g yoğurt, 1 g sodyum klorür ve 10  $\mu\text{L}$  iç standart (1 mL'sinde 5  $\mu\text{L}$  2-metil valerik asit ve 0.5  $\mu\text{L}$  2-metil-3-heptanon içermektedir) ilave

edilerek 40 °C'de 20 dk süreyle su banyosunda bekletilmiştir. Ardından su banyosundaki vialer SPME fiber (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Supelco, Bellafonte, ABD) daldırılarak 40 °C'de 20 dk daha bekletilmiş ve GC-MS'e enjekte edilmiştir. GC-MS koşulları: taşıyıcı gaz akışı 1.0 mL/dk, fırın programı başlangıç sıcaklığı ve süresi: 40 °C'de 10 dakika, rampa: 5 °C/dk, son sıcaklık ve süre: 250°C'da 10 dakika olmak üzere toplam 62 dakikadır. MS şartları; kapiler arayüz sıcaklığı 280 °C, iyonizasyon enerjisi 70 eV, kütle aralığı 35 ile 350 amu, tarama hızı 4.45 scans/s. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Tanımlanan uçucu bileşenlerin alıkonma indeksleri (RI) Van den Dool ve Kratz (1963) tarafından belirtildiği şekilde, miktarları ise iç standartlarla kıyaslanarak oransal bolluklarına göre belirlenmiş (Avsar vd., 2004) ve sonuçlar µg/kg yoğurt olarak verilmiştir.

### Duyusal Analiz

Yoğurt örneklerinin duyu özelliklerini belirlemek amacıyla tanımlayıcı duyu analiz ve tüketici testi olmak üzere iki farklı yöntem uygulanmıştır. Yoğurtların tanımlayıcı duyu değerlendirmeleri yaşları 20-54 arasında değişen 4'ü kadın 2'si erkek 6 kişilik bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Terimlerin geliştirilmesi ve skala kullanımı konusunda panel üyelerine Spectrum™ metodu kullanılarak yaklaşık 20 saatlik bir eğitim verilmiştir (Meilgaard vd., 1999). Panelistler eğitimler sırasında yoğurtlara ait yapı (topaklı yapı, kıvam, tebeşirimsi ve sünen yapı) ve lezzet (pişmiş, fermente, kremamsı, yavan, ekşi, tatlı, tuzlu) terimlerini belirlemişlerdir. Değerlendirmelerde 15 puanlık skala (0: tanımlanan özelliğin hiç tespit edilememesi; 15: tanımlanan özelliğin en yoğun tespit edilmesi) kullanılmış olup geliştirilen terimler ve tanımları Çizelge 1'de verilmiştir. Rastgele 3 haneli rakamlarla kodlanmış ve oda sıcaklığında (25±1°C) 15 dakika bekletilen yoğurt örnekleri panelistlere sunulmuş ve panelistlerden terimlerin yoğunluklarını belirtmeleri istenmiştir. Her bir oturumda 6 örnek iki tekerrürlü olarak panelistler tarafından değerlendirilmiştir. Panelistlere tadım sırasında ağızlarını nötrlemeleri amacıyla su ve kraker sunulmuştur.

Çizelge 1. Tanımlayıcı duyu terimler

Table 1. Descriptive sensory terms

Terim/Term	Tanım/Description
Topaklı yapı/ <i>Lumpy</i>	Karıştırıldıktan sonra görülen topaklar/ <i>Lumps visible after mixing</i>
Kıvam/ <i>Consistency</i>	Dil ile damak arasında kolay dağılmayan yapı/ <i>Structure, not spread easily between the tongue and palate</i>
Tebeşirimsi/ <i>Chalky</i>	Ağızda hissedilen tebeşirimsi yapı/ <i>Chalky structure felt in the mouth</i>
Sünen yapı/ <i>Ropy</i>	Kaşıkla alındığında uzayan yapı/ <i>Ropy structure when taken with spoon</i>
Pişmiş/ <i>Cooked</i>	Pişmiş süt aroması/ <i>Aromatics associated with cooked milk</i>
Kremamsı/ <i>Creamy</i>	Süt yağı aroması/ <i>Aromatics associated with milk fat</i>
Fermente/ <i>Fermented</i>	Yoğurt aroması/ <i>Aromatics associated with yogurt</i>
Yavan/ <i>Flat</i>	Tat-aroma eksikliği/ <i>Lack of taste and aroma</i>
Ekşi/ <i>Sour</i>	Asidik tat/ <i>Taste sensation elicited by citric acid</i>
Tatlı/ <i>Sweet</i>	Şekerli tat/ <i>Taste sensation elicited by saccharose</i>
Tuzlu/ <i>Salty</i>	Tuzlu tat/ <i>Taste sensation elicited by sodium chloride</i>

Tüketici testi amacıyla yoğurt örnekleri 40 mL'lik kapaklı sos kaplarında ve kaplar rastgele 3 basamaklı sayılar ile kodlanarak panelistlere sunulmuştur. Teste yaşları 19-54 arasında değişen 85'i kadın 37'si erkek olmak üzere 122 kişi

katılmıştır. Yoğurtlar üretildikten 5 gün sonra tüketiciler tarafından 9 puanlı hedonik skala kullanılarak görünüş, kıvam ve tat-koku özellikleri bakımından değerlendirilmiştir.

**İstatistiksel Analiz**

Farklı kültür ve depolama sürelerinin üretilen yoğurtların uçucu bileşen ve duyuşsal özelliklerine etkisinin araştırılmasında faktöriyel düzende varyans analizi (ANOVA) tekniğinden yararlanılmıştır (Yiğit ve Mendeş, 2018). Söz konusu istatistiksel analizlerin yapılmasında Minitab 17 ve IBM SPSS Statistics 23 istatistik paket programları kullanılmıştır.

**BULGULAR VE TARTIŞMA**

Depolamanın birinci gününde yoğurt örneklerinde belirlenen asitlik, genel bileşim, laktoz ve tirozin değerleri Çizelge 2'de sunulmuştur. Yoğurtların asitliği ve genel bileşimleri incelendiğinde titrasyon asitliğinin %0.92-1.23, protein değerlerinin %4.24-4.29 ve kül miktarlarının %1.15-1.19 arasında değıştiğı görölmektedir (Çizelge 2). Laktoz miktarının

%5.62-6.19 ve tirozin değerlerinin 9.57-14.76 mg tirozin/100 g yoğurt arasında olduğı belirlenmiştir. Titrasyon asitliği değerleri incelendiğinde, A örneğı %1.23 değıeri ile en yüksek, F örneğı ise %0.92 değıeri ile en düşük titrasyon asitliğine sahiptir. Yoğurtta laktik asit üretimi önemli bir biyokimyasal olay olup yoğurt bakterileri tarafından üretilmektedir. Üretilen laktik asit, kazein misellerinin stabilitesini bozarak sütün koagüle olmasına ve yoğurt pıhtısının oluşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca laktik asit yoğurda tipik aromatik özellik de kazandırmaktadır (Özdemir ve Bodur, 1994). Kullanılan kültüre göre de yoğurtlardaki titrasyon asitliği değıerlerinin farklılık gösterdiğı belirlenmiştir. Güzel-Seydim (2005) ve Gürsoy vd. (2010) tarafından yoğurtlarda yapılan çalışmalarda benzer bulgular elde edilmiştir.

Çizelge 2. Yoğurt örneklerinin bileşimine ait tanıtıcı istatistikler

Table 2. Descriptive statistics of composition of yogurt samples

	Yoğurt/Yogurt					
	A	B	C	D	E	F
% Laktik asit/ <i>Lactic acid</i> %	1.23±0.02 <sup>a</sup>	0.96±0.02 <sup>bc</sup>	0.92±0.01 <sup>c</sup>	0.96±0.01 <sup>b</sup>	0.95±0.02 <sup>bc</sup>	0.92±0.02 <sup>bc</sup>
% Protein/ <i>Protein</i> %	4.28±0.03 <sup>a</sup>	4.26±0.02 <sup>a</sup>	4.28±0.00 <sup>a</sup>	4.25±0.01 <sup>a</sup>	4.29±0.02 <sup>a</sup>	4.24±0.02 <sup>a</sup>
% Kül/ <i>Ash</i> %	1.15±0.02 <sup>a</sup>	1.17±0.01 <sup>a</sup>	1.19±0.01 <sup>a</sup>	1.17±0.01 <sup>a</sup>	1.16±0.01 <sup>a</sup>	1.15±0.01 <sup>a</sup>
% Laktoz/ <i>Lactose</i> %	5.62±0.11 <sup>d</sup>	5.72±0.23 <sup>cd</sup>	6.19±0.08 <sup>a</sup>	5.92±0.09 <sup>bc</sup>	6.14±0.04 <sup>ab</sup>	5.98±0.05 <sup>abc</sup>
Tirozin (mg/100 g yoğurt)	14.76±1.86 <sup>a</sup>	10.51±1.12 <sup>b</sup>	8.49±1.02 <sup>b</sup>	11.93±1.10 <sup>ab</sup>	10.76±1.03 <sup>b</sup>	9.57±2.82 <sup>b</sup>
<i>Tyrosine</i> (mg/100 g yoğurt)						

Sonuçlar ortalama± standart hata olarak sunulmuştur. <sup>a-d</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ).

*Values presented as mean ± standard error. <sup>a-d</sup>Differences among the means in the same row followed by different letters are significant ( $P < 0.05$ )*

Laktoz içeriğı bakımından C örneğı %6.19 değıeri ile en yüksek, A örneğı ise %5.62 değıeri ile en düşük laktoz içeriğine sahip bulunmuştur (Çizelge 2). Laktoz yoğurt üretimi sırasında laktik asit fermantasyonunun başlangıç materyali olmasına karşın fermantasyon sonrasında bile yoğurtta yüksek düzeyde laktoz bulunmaktadır. Bunun asıl nedeni yoğurt bakterilerinin laktozu sınırlı düzeyde fermente etmesinden kaynaklanmaktadır.

Yoğurtlarda tirozin miktarı 8.49-14.76 mg tirozin/100 g yoğurt arasında değışmektedir. En yüksek tirozin değıerine sahip olan yoğurdun A örneğı, en düşük tirozin değıerine sahip olan yoğurdun ise C örneğı olduğı görölmüştür. Süt

proteinleri, özellikle kazeinler, yoğurt bakterileri için temel azot kaynağıdır. Yoğurt bakterileri tarafından kazein hidrolizasyonunun birinci basamağı proteinaşlar tarafından gerçekleştirilmektedir. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un birçok suşu proteinaş aktivitesine sahiptir. Özellikle *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kaynaklı proteinaşlar 45-55°C ve pH 5.2-5.8 aralığında optimum aktivite göstermektedir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından sentezlenen proteaşlar tarafından açığa çıkarılan oligopeptitler, endo- ve ekzopeptidazlar aracılığı ile düşük molekül ağırlığına sahip peptitlere ve amino asitlere parçalanmaktadır ve bu azotlu bileşikler *S. thermophilus* tarafından kullanılmaktadır. Bu olay,

iki yoğurt bakterisi arasındaki simbiyotik ilişkinin temelini oluşturmaktadır (Özer, 2006). Ayrıca yoğurttaki asitlik arttıkça amino asit içeriği de artış göstermektedir (Yaygın, 1999). Yoğurdun tirozin içeriği ile titrasyon asitliği arasında ilişki olduğu, titrasyon asitliği düşük olan yoğurdun tirozin değerlerinin de düşük olduğu bildirilmektedir. Çalışmada elde edilen bulgular bu açıdan incelendiğinde düşük titrasyon asitliğine sahip C ve F yoğurtlarının yine düşük tirozin içeriğine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 2). Benzer şekilde Güven ve Karaca (2003) tarafından yapılan çalışmada yoğurt örneklerinin birinci gün tirozin içerikleri incelendiğinde, en yüksek pH değerine sahip olan yoğurdun en düşük tirozin içeriğine sahip olduğu, en düşük pH değerine sahip olan yoğurdun ise en yüksek tirozin içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir.

Yoğurtlarda bulunan uçucu bileşenler katı faz mikroekstraksiyon (SPME) GC-MS tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Tepe boşluğu yöntemi ile depolamanın birinci gününde belirlenen uçucu bileşenler Çizelge 3'te sunulmuştur. Karbohidratlar, alkoller, alditler, ketonlar, asitler, esterler, laktonlar, aromatik bileşikler, kükürt içeren bileşikler ve heterosiklik bileşikler dahil olmak üzere 100'den fazla uçucu bileşenin yoğurdun tat ve aroma dengesinin belirlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Beskhova vd., 1998; Cheng, 2010). Yoğurttaki karbonil bileşikler birincil aromatik maddelerdir ve bu bileşikler aldehit ve ketonlardan oluşmaktadır. Fermantasyon sırasında elde edilen bileşiklerin türü ve konsantrasyonu kullanılan kültür çeşidine bağlıdır. Sitrik asit ve amino asit metabolizması ile laktik asit bakterisi tarafından üretilen ve yoğurttaki istenen aromadan sorumlu karbonil bileşiklerinin asetaldehit, diasetil, aseton, aseton ve 2-bütanon olduğu bildirilmiştir (Kneifel vd., 1992; Marshall, 1993; Ulbert, 1991; Ulbert ve Kneifel, 1992). Yoğurttaki az miktarda bulunmasına rağmen bu bileşiklerin organoleptik açıdan oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Çalışmada asetaldehit miktarları 21.2-47.7 µg/kg arasında bulunmuştur (Çizelge 3). En yüksek asetaldehit miktarının D örneğinde, en düşük asetaldehit miktarının ise E örneğinde olduğu belirlenmiştir. Diasetil bir diğer karbonil

bileşenidir ve asetaldehiti destekleyici veya asetaldehitin yetersiz olması durumunda dengeli bir tat ve aromanın oluşumu için önem arz etmektedir. Yoğurdun duyu kalitesi bakımından asetaldehit kadar önemlidir. Yoğurttaki karakteristik tereyağı aromasını üreten diasetil hem *S. thermophilus* hem de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından üretilmektedir (Drake vd., 1999). Bu çalışmada diasetil miktarının 23.4-42.0 µg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek diasetil miktarının C örneğinde, en düşük diasetil miktarının ise E örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Yoğurttaki yaygın olarak bulunan bir diğer bileşen olan hafif kremi, hafif tatlı, tereyağı benzeri bir lezzet veren aseton, diasetil redüktaz tarafından katalizlenen geri dönüşümsüz bir reaksiyon ile diasetilden oluşmaktadır (Özer, 2006). Çalışmada aseton miktarları 0.3-1.1 µg/kg arasında tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Asidik özellikteki bileşikler tüm yoğurt aromasının yaklaşık %14'ünü oluşturmaktadır. Asitlerin birçoğu yağın ayrışması ve kısmen laktik asit bakterisi fermantasyonu yoluyla fermantasyon sürecinde üretilmektedir (Tian vd., 2019). Çalışmada yoğurt örneklerinde değişen konsantrasyonlarda asetik asit, propoik asit, izobütirik asit, bütanoik asit, izovalerik asit, pentanoik asit, hekzanoik asit, heptanoik asit, oktanoik asit, nonanoik asit ve dekanik asit tespit edilmiştir (Çizelge 3). Asetik asit heterofermentatif laktik asit bakterileri tarafından üretilen önemli bir asittir. Konsantrasyona bağlı olarak sirke benzeri bir aroma verdiği için yüksek konsantrasyonları yoğurt lezzetini olumsuz etkilemektedir (Tian vd., 2019). Çalışmada yoğurtlarda belirlenen asetik asit miktarlarının 221.8-1112.0 µg/kg arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 3). Moineau-Jean vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, yağsız süt kullanılmasına rağmen oktanoik, dekanik ve nonanoik asitlerin bir miktar lipoliz veya yağ asidi sentezi sırasında meydana geldiği belirtilmiş ve oktanoik ve dekanik asitlerin yoğurt lezzetine katkısının olumlu yönde olduğu fakat nonanoik asidin lezzete katkısının olumsuz yönde olduğu vurgulanmıştır. Çalışmada genel olarak asit miktarlarının diğer örneklere kıyasla D örneğinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Yoğurt kültürünün uçucu bileşenlere ve duyuşal özelliklere etkisi

Çizelge 3. Yoğurt örneklerinde belirlenen uçucu bileşenler  
Table 3. Volatile compounds determined in yogurt samples

Uçucu Bileşenler/ <i>Volatiles</i>	RI	Yoğurt/ <i>Yogurt</i> (µg/kg)					
		A	B	C	D	E	F
Asetaldehit/ <i>Acetaldehyde</i>	774	31.8±0.4	30.9±0.2	39.3±14.3	47.7±13.4	21.2±1.4	33.5±0.9
Diasetil/ <i>Diacetyl</i>	974	29.4±3.6	35.7±0.9	42.0±2.0	40.1±15.5	23.4±2.1	40.2±9.7
2-Bütenal, 3-metil/2- <i>Butenal, 3-methyl</i>	1203	1.4±1.2	-	-	-	-	-
3-Büten-1-ol, 3-metil/3- <i>Buten-1-ol, 3-methyl</i>	1241	0.7±0.1	-	-	0.5±0.1	-	0.5±0.1
5-Nonanon/ <i>5-Nonanone</i>	1282	0.6±0.3	-	-	-	-	-
2-Propanon, 1-hidroksi/2- <i>Propanone, 1-hydroxy</i>	1289	-	-	1.9±1.9	1.8±1.2	-	-
2-Büten-1-ol, 3-metil/2- <i>Buten-1-ol, 3-methyl</i>	1309	0.7±0.1	0.6±0.2	0.8±0.1	0.8±0.1	0.3±0.1	0.6±0.1
1-Hekzanol/ <i>1-Hexanol</i>	1339	0.2±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1	0.3±0.1
3-Pentanol, 2-metil/3- <i>Pentanol, 2-methyl</i>	1341	3.6±0.4	3.3±0.1	5.0±0.7	-	1.8±0.2	-
İzopropil alkol/ <i>Isopropyl alcohol</i>	1346	2.9±0.4	2.9±0.1	4.1±0.5	3.4±0.5	1.2±0.1	1.8±0.2
2-Nonanon/ <i>2-Nonanone</i>	1376	2.0±0.8	0.4±0.1	0.3±0.1	1.3±0.1	1.0±0.8	0.4±0.2
2(3H)-Furanon, 5-metil/2(3H)- <i>Furanone, 5-methyl</i>	1395	-	-	-	0.7±0.7	-	-
Asetik asit/ <i>Acetic acid</i>	1440	1003.1±84.1	387.8±26.7	604.4±273.1	1112.0±267.4	221.8±9.6	317.3±40.9
2-Furankarboksaldehit/2- <i>Furancarboxaldehyde</i>	1457	0.2±0.1	0.3±0.1	2.3±2.0	2.5±1.6	0.2±0.1	0.1±0.1
2-Etilheksanol/2- <i>Ethylhexanol</i>	1473	0.4±0.1	1.2±0.3	1.2±0.1	2.2±0.5	0.6±0.1	1.4±0.1
2-Nonanol/ <i>2-Nonanol</i>	1516	0.3±0.00	-	-	-	-	-
Propanoik asit/ <i>Propanoic acid</i>	1527	10.5±0.5	1.6±0.1	2.3±0.8	27.2±4.5	3.1±0.6	4.9±1.0
1-Oktanol/ <i>1-Octanol</i>	1542	0.2±0.2	0.1±0.1	0.1±0.0	0.2±0.1	0.1±0.0	0.1±0.1
İzobütirik asit/ <i>Isobutyric acid</i>	1566	22.3±0.8	21.6±0.1	23.3±3.5	30.8±3.8	-	195.5±7.1
Asetoin/ <i>Acetoin</i>	1570	0.9±0.1	1.0±0.2	1.0±0.2	1.1±0.1	0.3±0.1	0.6±0.1
Bütanoik asit/ <i>Butanoic acid</i>	1615	407.4±22.4	275.3±14.0	297.9±62.1	502.5±73.5	252.3±21.1	323.3±5.2
γ-Bütrolakton/ <i>γ-Butyrolactone</i>	1633	-	0.1±0.1	0.6±0.6	0.8±0.5	-	-
1-Nonanol/ <i>1-Nonanol</i>	1647	0.4±0.1	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.1	0.12±0.1	0.3±0.1
2-Furanmetanol/2- <i>Furanmethanol</i>	1652	0.6±0.1	0.5±0.1	10.7±10.2	11.9±9.0	0.3±0.1	0.4±0.1
İzovalerik asit/ <i>Isovaleric acid</i>	1659	99.6±3.4	70.1±0.9	70.8±6.5	111.3±7.6	72.5±10.3	89.8±4.3
Pentanoik asit/ <i>Pentanoic acid</i>	1726	8.9±2.1	2.1±0.1	8.0±6.1	3.23±0.4	1.7±0.2	2.0±0.1
Oksime-metoksi-fenil/ <i>Oxime-methoxy-phenyl</i>	1749	16.8±3.0	19.3±8.4	9.3±3.8	22.9±6.7	3.0±0.7	3.5±0.6
α-Krotonolakton/ <i>α-Crotonolactone</i>	1765	-	-	-	2.0±0.8	-	-
Hekzanoik asit/ <i>Hexanoic acid</i>	1839	543.1±27.4	545.5±29.2	678.4±134.8	1068.8±156.8	548.1±59.0	704.8±31.6
1H-Purin-6-amin, [(2-fluorofenil) metil]-/ <i>1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl) methyl]-</i>	1904	-	0.8±0.1	0.7±0.1	1.0±0.1	0.6±0.1	-
Dimetil sülfür/ <i>Dimethyl sulfure</i>	1925	0.2±0.2	0.5±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
Hekzanoik asit, 2-etil/2- <i>Ethylhexanoic acid</i>	1943	3.8±3.8	3.2±0.6	4.3±0.8	5.0±0.9	-	-
Heptanoik asit/ <i>Heptanoic acid</i>	1953	11.6±2.5	34.9±9.1	24.2±0.9	29.5±0.3	21.1±6.1	21.7±7.2
Maltol/ <i>Maltol</i>	1984	-	-	-	0.6±0.5	-	-
Hidroksi dimetil furanon/ <i>Hydroxy dimethyl furanone</i>	2043	-	-	-	0.3±0.2	-	-
Oktanoik asit/ <i>Octanoic acid</i>	2060	184.9±1.1	238.1±0.2	341.0±72.7	531.6±84.0	201.4±24.3	278.0±7.9
Nonanoik asit/ <i>Nonanoic acid</i>	2170	16.8±5.1	157.8±21.5	200.1±49.8	257.7±67.3	11.1±3.1	6.3±1.7
Dekanoik asit/ <i>Decanoic acid</i>	2276	31.5±4.4	46.5±2.1	80.2±22.3	122.3±23.1	46.4±4.3	56.2±3.7

Sonuçlar ortalama± standart hata olarak sunulmuştur. RI: Alıkönma indeksi, "-" Tespit edilemedi.  
Values presented as mean ± standard error. RI: Retention index; "-" Not detected.

Laktonlar, hidroksiasitlerin hidroliz yoluyla molekül içi esterifikasyonu sonucu oluşan ve tereyağımsı/kremesi veya meyvemsi hoş bir kokuya sahip olarak tanımlanan bileşiklerdir. Çalışmada B, C ve D örneklerinde sırasıyla 0.1, 0.6 ve 0.8 µg/kg  $\gamma$ -bütirolakton ve yalnızca D örneğinde 2.0 µg/kg  $\alpha$ -krotonolakton tespit edilmiştir. Clarke vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada,  $\gamma$ -bütirolaktonun çiğ inek sütünde önemli bir uçucu bileşen olduğu ve elde edilen ürünün aroma ve lezzet özelliğini etkilediği vurgulanmıştır.

Genel olarak kükürt bileşiklerinin düşük duyuşal tespit eşik değerine sahip olduğu ve yoğurdun aromasını olumsuz etkilediği belirtilmektedir. Fermente süt ürünlerinde özellikle sülfür içeren metanetiol, dimetil disülfür ve hidrojen sülfür gibi bileşiklerin varlığı üründe istenmeyen aromanın oluşmasına neden olabilmektedir (Kraştanov vd., 2023). Bu çalışmada, yoğurt örneklerinde 0.2-0.6 µg/kg düzeylerinde dimetil sülfür bileşeni olduğu saptanmıştır (Çizelge 3). Moineau-Jean vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, tespit edilen ve fermantasyon sonucu üretilen 2-furanmetanol ve hidroksi dimetil furanon bileşiklerinin karakteristik yoğurt aroması ile negatif bir ilişkisinin olduğu belirtilmiştir. Yoğurtlarda 2-furanmetanol miktarları 0.3-11.9 µg/kg arasında değişmekteyken, hidroksi dimetil furanon bileşiği sadece D örneğinde 0.3 µg/kg olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3). Sonuç olarak yoğurt kültürlerinin sadece arzu edilen aromaları üreterek yoğurt lezzetine katkıda bulunmasının yanı sıra yoğurt ve benzeri ürünlerin lezzeti üzerinde olumsuz etkisi olan bileşenleri de üretebildiği bilinmektedir.

Eğitimli altı panelist tarafından yoğurtlarda belirlenen tanımlayıcı duyuşal terimler Çizelge 1’de sunulmuştur. Depolamanın 1. ve 21. günlerinde yoğurtlarda topaklı yapı, kıvam, tebeşirimsi, sünen yapı, pişmiş, kremamsı, fermente, yavan, ekşi, tatlı ve tuzlu terimleri belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 4’te sunulmuştur. Yoğurtlarda depolamanın 1. gününde belirlenen yapısal özelliklerden topaklı yapının 0.71-2.88, kıvamın 3.50-6.67 ve tebeşirimsi yapının 0.13-1.67 arasında değiştiği

belirlenmiştir. Kıvam yapısal özellikler içinde yüksek oranda algılanmış olup özellikle C ve F örneklerinde depolama boyunca arttığı saptanmıştır. Çalışmada kıvam özelliği bakımında A örneğinin depolamanın 1. ve 21. günlerinde en yüksek kıvam puanına sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4). Belirlenen lezzet terimlerinden pişmiş 2.17-4.13, kremamsı 1.38-2.92, fermente 4.00-10.13, yavan 0.88-3.46, ekşi 1.29-3.79, tatlı 1.54-3.58 ve tuzlu 0.83-1.38 değerlerini almıştır. Lezzet terimleri içinde en yoğun algılanan özellik fermente olup değerlerin depolamanın 1. gününde 4.00-10.13 arasında değiştiği saptanmıştır. İkinci olarak ise ekşi yoğun olarak algılanan özelliklerdendir ve 1.29-2.86 arasında değiştiği belirlenmiştir. Fermente bir süt ürünü olan yoğurdun en önemli ve kendine has karakteristik özelliği ‘fermente’ aromadır ve yoğurtlardaki fermente aromadan büyük ölçüde yoğurt kültürleri sorumludur. Aynı zamanda fermente aroma asetaldehit içeriğiyle ilişkilidir. Yoğurt örneklerinin depolama boyunca yapısal ve lezzet özelliklerine ait tanımlayıcı duyuşal özellikleri Şekil 1’de ayrı ayrı sunulmuştur. Şekil 1 incelendiğinde en yüksek fermente aroma A kültürü kullanıldığında, en düşük fermente aroma ise F kültürü kullanıldığında elde edilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen bulgular, set tipi yoğurt örnekleri ve probiyotik yoğurt örnekleri ile benzerlik göstermektedir (Heo vd., 2023; Dias vd., 2020). İşleten ve Karagül-Yüceer (2006) yaptıkları bir çalışmada, yoğurt örneklerinde belirlenen fermente aroma puanlarının 4.7-4.8 aralığında olduğunu belirlemişlerdir.

Görünüş, kıvam ve tat/koku özellikleri 9 puanlık skala kullanılarak değerlendirilen yoğurtlara ilişkin 122 kişi tarafından yapılan tüketici testi sonuçları Çizelge 5’te yer almaktadır. Sonuçlar incelendiğinde, değerlendirilen her bir özellik bakımında örnekler arasında istatistiksel olarak önemli farklar olduğu belirlenmiştir ( $P \leq 0.05$ ). Ortalama görünüş puanları bakımından panelistlerden yüksek puanı alan yoğurtlar A, B, C ve E örnekleri, en düşük puanı alan örnekler ise D ve F örnekleri olmuştur. Yoğurtlar kıvam yönünden incelendiğinde ise en düşük puanı alan örneğin F örneği olduğu belirlenmiştir. Tat-koku bakımından da A, B ve C örnekleri arasında



## Yoğurt kültürünün uçucu bileşenlere ve duyuşal özelliklere etkisi

istatistiksel olarak önemli fark olmadığı ancak diğer örneklerden daha yüksek beğeni skoru aldıkları saptanmıştır ( $P \leq 0.05$ ). Tüketici testinde genel olarak F örneğinin daha düşük puanlar almasının sebebinin en yüksek sünen yapı değerine sahip olmasından kaynaklandığı (Şekil 1) ve F örneğinde kullanılan kültür çeşidinin ekzopolisakkarit üretme yeteneği olan suşlardan oluştuğu düşünülmektedir. Güler-Akın vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, yağsız yoğurtlarda ekzopolisakkarit üreten ve üretmeyen suşlar kullanılmış ve çalışmamıza benzer olarak ekzopolisakkarit üreten yoğurtların genel olarak daha iyi bir ağız hissine sahip olmasına rağmen

tüketiciler tarafından tercih edilmediği belirtilmiştir. Benzer şekilde Gürsoy vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada da ekzopolisakkarit üretimi yüksek olan yerli *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (B3) ve *S. thermophilus* (W22) kültürleri ile ticari kültürler kullanılarak üretilen yoğurtlarda yapılan duyuşal değerlendirme sonucunda da örnekler panelistlerce beğenilmemiştir. En beğenilen örneklerden olan A, B ve C örneklerinin yüksek kıvam değerine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4). Ayrıca A ve E örneklerinin fermente değerlerinin de yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 1 ve Çizelge 4).

Çizelge 4. Yoğurtların tanımlayıcı duyuşal özellikleri  
Table 4. Descriptive sensory properties of yogurts

Tanımlayıcı terimler/ Descriptive terms	Gün/ Day	Yoğurt/Yogurt					
		A	B	C	D	E	F
Topaklı yapı/ <i>Lumpy</i>	1	1.67±0.65 <sup>BCa</sup>	1.21±0.40 <sup>CDa</sup>	2.88±0.31 <sup>Aa</sup>	2.83±0.72 <sup>Aa</sup>	2.08±0.29 <sup>Ba</sup>	0.71±0.26 <sup>Da</sup>
	21	1.50±0.67 <sup>Ca</sup>	0.83±0.33 <sup>Db</sup>	3.13±0.57 <sup>Ba</sup>	3.67±0.75 <sup>Ab</sup>	1.42±0.47 <sup>Cb</sup>	1.00±0.48 <sup>Da</sup>
Kıvam/ <i>Consistency</i>	1	6.67±0.89 <sup>Aa</sup>	4.83±0.81 <sup>Ba</sup>	4.00±0.56 <sup>BCa</sup>	3.67±0.91 <sup>Ca</sup>	3.50±0.71 <sup>Ca</sup>	3.58±0.56 <sup>Ca</sup>
	21	6.92±0.88 <sup>Aa</sup>	5.08±1.24 <sup>Ba</sup>	4.75±0.94 <sup>Bb</sup>	3.58±1.13 <sup>Da</sup>	3.75±0.94 <sup>CDa</sup>	4.17±0.39 <sup>Cb</sup>
Tebeşirimsi/ <i>Chalky</i>	1	0.88±0.68 <sup>BCa</sup>	1.58±0.88 <sup>ABa</sup>	0.13±0.31 <sup>Ca</sup>	1.17±0.39 <sup>ABa</sup>	1.21±0.40 <sup>ABa</sup>	1.67±0.86 <sup>Aa</sup>
	21	1.58±0.70 <sup>Ab</sup>	1.58±0.56 <sup>Aa</sup>	1.04±0.14 <sup>Bb</sup>	1.21±0.69 <sup>Ba</sup>	1.00±0.00 <sup>Ba</sup>	1.54±0.84 <sup>Aa</sup>
Sünen yapı/ <i>Ropy</i>	1	-	2.88±0.13 <sup>Ba</sup>	-	-	2.13±0.18 <sup>Ca</sup>	7.42±0.23 <sup>Aa</sup>
	21	-	1.23±0.22 <sup>Bb</sup>	-	-	1.54±0.13 <sup>Bb</sup>	5.96±1.33 <sup>Ab</sup>
Pişmiş/ <i>Cooked</i>	1	3.67±0.89 <sup>ABa</sup>	2.21±0.50 <sup>Da</sup>	3.17±0.49 <sup>BCa</sup>	3.96±0.33 <sup>ABa</sup>	2.29±0.81 <sup>CDa</sup>	4.13±1.28 <sup>Aa</sup>
	21	3.63±1.37 <sup>Aa</sup>	2.17±0.33 <sup>Ba</sup>	3.46±0.69 <sup>Aa</sup>	3.83±0.96 <sup>Aa</sup>	2.58±1.06 <sup>Ba</sup>	3.83±1.50 <sup>Aa</sup>
Kremamsı/ <i>Creamy</i>	1	1.79±0.40 <sup>BCa</sup>	1.38±0.71 <sup>Ca</sup>	1.75±0.58 <sup>BCa</sup>	2.46±0.66 <sup>ABa</sup>	2.92±0.67 <sup>Aa</sup>	2.21±0.50 <sup>ABa</sup>
	21	1.92±0.52 <sup>Ca</sup>	1.54±0.40 <sup>Da</sup>	1.88±0.74 <sup>Ca</sup>	1.79±0.50 <sup>CDb</sup>	2.83±0.69 <sup>Aa</sup>	2.46±0.66 <sup>Ba</sup>
Fermente/ <i>Fermented</i>	1	10.13±0.61 <sup>Aa</sup>	5.79±0.99 <sup>BCa</sup>	5.29±0.62 <sup>Ca</sup>	5.62±0.93 <sup>BCa</sup>	6.29±0.62 <sup>Ba</sup>	4.00±0.74 <sup>Da</sup>
	21	9.75±0.62 <sup>Aa</sup>	5.96±0.69 <sup>Ca</sup>	5.50±0.67 <sup>Da</sup>	6.33±0.96 <sup>Ca</sup>	7.79±0.72 <sup>Bb</sup>	6.13±0.91 <sup>Cb</sup>
Yavan/ <i>Flat</i>	1	1.50±0.67 <sup>CDa</sup>	2.67±0.49 <sup>ABa</sup>	2.29±0.84 <sup>BCa</sup>	0.88±0.31 <sup>Da</sup>	1.46±1.01 <sup>CDa</sup>	3.46±1.20 <sup>Aa</sup>
	21	0.96±0.40 <sup>Db</sup>	2.21±0.33 <sup>Ab</sup>	2.13±1.05 <sup>ABa</sup>	0.92±0.95 <sup>Da</sup>	1.67±0.49 <sup>Ca</sup>	1.83±0.39 <sup>BCb</sup>
Ekşi/ <i>Sour</i>	1	2.08±0.67 <sup>BCa</sup>	2.86±0.58 <sup>Aa</sup>	1.29±0.40 <sup>Da</sup>	2.59±0.82 <sup>ABa</sup>	1.50±0.60 <sup>CDa</sup>	1.83±0.54 <sup>CDa</sup>
	21	3.79±0.78 <sup>Ab</sup>	3.29±0.87 <sup>BCa</sup>	2.63±0.86 <sup>Db</sup>	2.92±0.67 <sup>CDa</sup>	3.33±0.58 <sup>Bb</sup>	3.38±0.74 <sup>Bb</sup>
Tatlı/ <i>Sweet</i>	1	2.33±0.49 <sup>BCa</sup>	2.83±0.65 <sup>ABa</sup>	1.83±0.49 <sup>Ca</sup>	2.92±0.47 <sup>ABa</sup>	2.79±0.58 <sup>Ba</sup>	3.58±0.97 <sup>Aa</sup>
	21	2.08±0.67 <sup>Aa</sup>	1.71±0.75 <sup>BCb</sup>	1.83±0.62 <sup>ABa</sup>	1.54±0.45 <sup>Cb</sup>	1.71±0.54 <sup>BCb</sup>	2.04±0.33 <sup>Ab</sup>
Tuzlu/ <i>Salty</i>	1	0.92±0.19 <sup>Aa</sup>	1.21±0.54 <sup>Aa</sup>	1.13±0.90 <sup>Aa</sup>	0.96±0.45 <sup>Aa</sup>	1.17±0.54 <sup>Aa</sup>	1.08±0.47 <sup>Aa</sup>
	21	1.33±0.58 <sup>ABb</sup>	1.17±0.44 <sup>BCa</sup>	0.83±0.25 <sup>Ea</sup>	1.04±0.14 <sup>CDa</sup>	0.92±0.19 <sup>DEa</sup>	1.38±0.53 <sup>Aa</sup>

Sonuçlar ortalama± standart hata olarak sunulmuştur, "-" Tespit edilemedi. <sup>A-E</sup> Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P < 0.05$ ). <sup>a-b</sup> Her bir terim için aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).

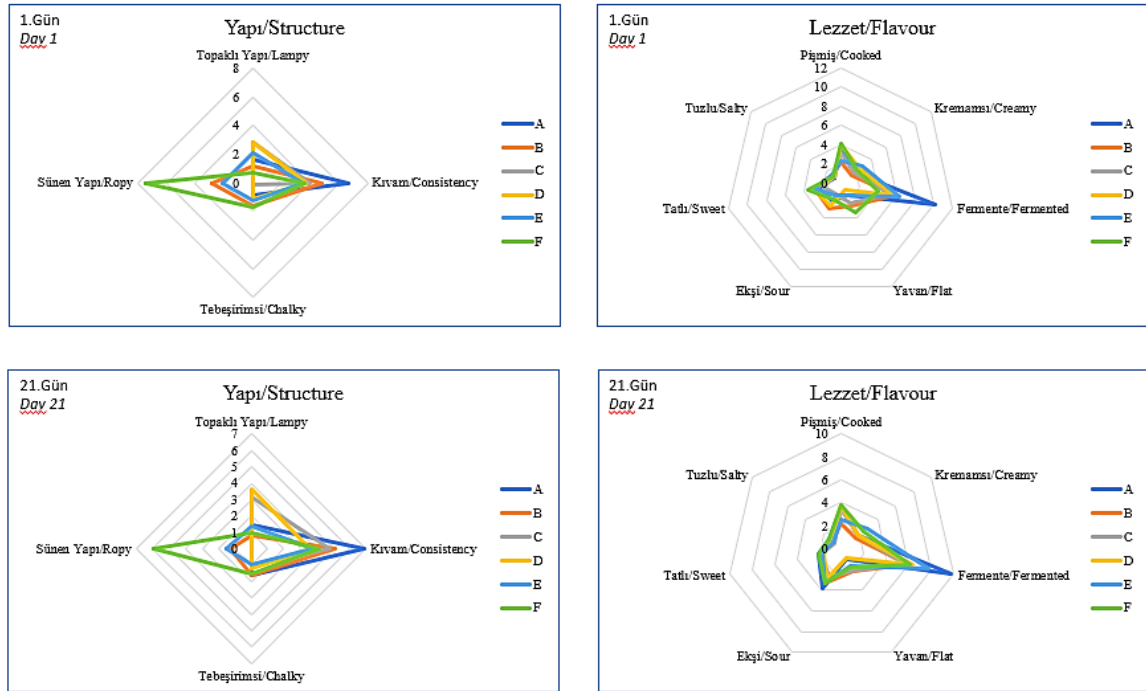
Values presented as mean ± standard error, "-" Not detected. <sup>A-E</sup> Differences among the means in the same row followed by different letters are significant ( $P < 0.05$ ). <sup>a-b</sup> Differences between the means in the same column for each term followed by different letters are significant ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 5. Yoğurtların tüketici testi sonuçları  
Table 5. Consumer test results of yogurts

Özellik/Attribute	Yoğurt/Yogurt					
	A	B	C	D	E	F
Görünüş/ <i>Appearance</i>	6.44±0.17 <sup>ab</sup>	6.79±0.18 <sup>a</sup>	6.39±0.18 <sup>ab</sup>	5.93±0.18 <sup>bc</sup>	6.58±0.17 <sup>ab</sup>	5.46±0.21 <sup>c</sup>
Kıvam/ <i>Consistency</i>	6.53±0.17 <sup>ab</sup>	6.74±0.16 <sup>a</sup>	6.28±0.17 <sup>ab</sup>	5.80±0.19 <sup>bc</sup>	6.66±0.17 <sup>a</sup>	5.06±0.23 <sup>c</sup>
Tat-koku/ <i>Taste-aroma</i>	6.34±0.19 <sup>a</sup>	6.02±0.19 <sup>a</sup>	5.96±0.18 <sup>a</sup>	4.91±0.22 <sup>bc</sup>	5.55±0.19 <sup>ab</sup>	4.53±0.21 <sup>c</sup>

Sonuçlar ortalama± standart hata olarak sunulmuştur. <sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle ifade edilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ).

Values presented as mean ± standard error. <sup>a-c</sup> Differences among the means in the same row followed by different letters are significant ( $P < 0.05$ ).



Şekil 1. Depolama boyunca yoğurtların tanımlayıcı duyu özellikleri  
Figure 1. Descriptive sensory characteristics of yogurts during storage

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Farklı kültürler kullanılarak üretilen yoğurtların bileşimi, uçucu bileşenleri ve duyu özellikleri tespit edilmiştir. Yoğurtlarda yoğun olarak belirlenen karakteristik uçucu bileşenler başta olmak üzere yoğurtta istenilen aromadan sorumlu karbonil bileşiklerinin asetaldehit, diasetil, asetoin ve 2-bütanon olduğu saptanmış olup kullanılan kültüre göre miktarlarının değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca asetik asit, propanoik asit, izobütirik asit, bütanoik asit, izovalerik asit ve hekzanoik asit belirlenen önemli asidik bileşiklerdir. Yoğurtlara uygulanan tanımlayıcı duyu analizler sonucu kıvam, pişmiş, fermente ve ekşi en yoğun

algılanan duyu özellikler olarak belirlenmiştir. Yoğurt örneklerine uygulanan tüketici testi sonuçlarından da görüleceği gibi genel olarak A, B, C ve E örneklerinin beğenildiği, F örneğinin ise en az beğenilen örnek olduğu tespit edilmiştir. F örneğinin daha düşük puan almasının sebebinin en yüksek sünen yapı değeri ile yavan aromaya ve en düşük fermente aromaya sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak yoğurt üretiminde kullanılan kültür çeşitleri uçucu bileşen profilinde ve duyu özelliklerde farklılıklara neden olmuştur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarların makale ile ilgili herhangi bir kişi veya kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZARLARIN KATKILARI

Çalışmanın süreç yönetiminde, analizlerin metodolojisini ve makale taslağının oluşturularak düzenlenmesinde Yonca Karagül Yüceer katkı sağlamıştır. Yoğurt üretimi, tüm analizler ve makale yazımı Emine Tuğçe Elmas tarafından gerçekleştirilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesinde Enka Süt ve Mamulleri Sanayi ve Ticaret A.Ş.'ye, Maysa Gıda'ya, Chr. Hansen Türkiye'ye ve duyuşal değerlendirmede görev alan Çanakale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü personeline ve lisansüstü öğrencilerine teşekkür ederiz. Çalışmanın istatistiksel analizlerine katkısından dolayı Prof. Dr. Mehmet Mendek'e ayrıca teşekkürlerimizi sunarız.

## KAYNAKLAR

Akan, E., Yerlikaya, O., Saygılı, D., Kınık, Ö. (2021). Farklı starter kültür kullanımının yoğurtların tekstürel ve viskozite özelliklerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58(3), 377-383.

AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, USA, <https://doi.org/10.3109/15563657608988149>.

Avsar Y. K., Karagül Yüceer Y., Drake M. A., Singh T. K., Yoon Y., Cadwallader K.R. (2004). Characterization of nutty flavor in cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 87: 1999-2010.

Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., Simov, Z. (1998). Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20(3): 180-186.

Cheng, H. (2010). Volatile flavor compounds in yogurt: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10): 938-950.

Clarke, H., Fitzpatrick, E., Hennessy, D., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. P., Kilcawley, K. N. (2022). The influence of pasture and non-pasture-

based feeding systems on the aroma of raw bovine milk. *Frontiers in Nutrition*, 9: 841454.

Dias, P.G.I., Sajiwani, J.W.A., Rathnayaka, R.M. (2020). Consumer perception and sensory profile of probiotic yogurt with added sugar and reduced milk fat. *Helikon*, 6(7): e04328.

Drake, M. A., Karagül-Yüceer, Y., Chen, X. Q., Cadwallader, K. R. (1999). Characterization of desirable and undesirable lactobacilli from cheese in fermented milk. *LWT-Food Science and Technology*, 32(7): 433-439.

Gursoy, A., Durlu-Özkaya, F., Yıldız F., Aslım, B. (2010). Set Type Yoghurt Production by Exopolysaccharide Producing Turkish Origin Domestic Strains of *Streptococcus thermophilus* (W22) and *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1): 81-86.

Güler-Akın, M.B., Akın, M.S., Korkmaz, A. (2009). Influence of different exopolysaccharide-producing strains on the physicochemical, sensory and syneresis characteristics of reduced-fat stirred yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3): 422-430.

Gürsoy, A., Durlu-Özkaya, F., Yıldız, F., Aslım, B. (2010). Set type yoghurt production by exopolysaccharide producing Turkish origin domestic strains of *Streptococcus thermophilus* (W22) and *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (B3). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16: 81-86.

Güven, M. ve Karaca, O. B. (2003). Farklı yöntemlerle kurumaddesi artırılan sütlerden üretilen yoğurtların özellikleri. *Gıda*, 28(4): 429-436.

Güzel-Seydim, Z. B., Sezgin, E., Seydim, A. C. (2005). Influences of exopolysaccharide producing cultures on the quality of plain set type yogurt. *Food Control*, 16(3): 205-209.

Heo, J., Lee, S.J., Oh, J., Kim, M.R., Kwak, H.S. (2023). Comparison of descriptive analysis and flash profile by naïve consumers and experts on commercial milk and yogurt products. *Food Quality and Preference*, 110, 104946.

Hull, M. E. (1947). Studies on milk proteins. 2. colorimetric determination of the partial

- hydrolysis of the proteins in milk. *Journal of Dairy Science*, 30: 881-884
- Isleten, M., Karagul-Yuceer, Y. (2006). Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. *Journal of Dairy science*, 89(8): 2865-2872.
- Kırdar, S. S. (2019). *Süt ve Ürünlerinde Laboratuvar Uygulamaları Analiz Yöntemleri*. Sidas Medya: İzmir.
- Kneifel, W., Ulberth, F., Erhard, F., Jaros, D. (1992). Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. I: Screening of commercially available starter cultures. *Milchwissenschaft*, 47(6): 362-365.
- Köse, Ş., Ocağ, E. (2014). Yoğurtta lezzet bileşenlerinin oluşumu ve bu oluşum üzerine etki eden faktörler. *Akademik Gıda*, 12(2): 101-107.
- Krastanov, A., Yeboah, P.J., Wijemanna, N.D., Eddin, A.S., Ayivi, R.D., Ibrahim, S.A. (2023). Volatile aromatic flavor compounds in yogurt: a review. *Current Issues and Advances in the Dairy Industry*. IntechOpen.
- Marshall, V.M. (1993). Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 46(2): 49-56.
- Meilgaard M., Civille G.V., Carr B.T., (1999). *Descriptive Analysis Techniques: Sensory Evaluation Techniques*. 3. Edition Crc Press, Inc. Boca Raton, Fl. 161-172.
- Moineau-Jean, A., Raymond, Y., Sabik, H., Graveline, N., Champagne, C. P., Roy, D., LaPointe, G. (2020). Effect of manufacturing processes and storage on aroma compounds and sensory properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, 105: 104662.
- NIST, (2008). NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08). National Institute of Standards and Technology. Gaithersburg, M.D 20899.
- Oyeniran, A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., Ibrahim, S. A. (2020). Probiotic characteristics and health benefits of the yogurt bacterium *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus*. In *Current Issues and Challenges in the Dairy Industry*. IntechOpen.
- Özdemir, S., Bodur A.E. (1994). Yoğurt üretimi sırasında oluşan fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olaylar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(3): 479- 487.
- Özer, B. (2006). *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*, Sidas Medya: İzmir.
- Panesar, P.S. (2011). Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences*, 2: 47-51.
- Tian, H., Shi, Y., Zhang, Y., Yu, H., Mu, H., Chen, C. (2019). Screening of aroma-producing lactic acid bacteria and their application in improving the aromatic profile of yogurt. *Journal of Food Biochemistry*, 43(10): e12837.
- Ulberth, F. (1991). Headspace gas chromatographic estimation of some yogurt volatiles. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 74(4): 630- 634.
- Ulberth, F., Kneifel, W. (1992). Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. II. Classification of starter cultures by means of cluster analysis. *Milchwissenschaft* 47: 432-434.
- WILEY, (2005). *Wiley Registry of Mass Spectral Data 7. Edition* (F. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251.
- Yaygın, H. (1999). Yoğurt Yapımında Saf Kültür Kullanımı ve Önemi III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 2-3 Haziran, Ankara, 83-94.
- Yiğit, S. ve Mendes, M. (2018). Which effect size measure is appropriate for one-way and two-way ANOVA models? A Monte Carlo simulation study. *Revstat-Statistical Journal*, 16(3): 295-313.



## ET VE ET ÜRÜNLERİNDE *PSEUDOMONAS* BİYOÇEŞİTLİLİĞİ, BOZUCU ÖZELLİKLERİ, BİYOFİLM ÜRETİMİ VE ÇOĞUNLUK ALGILAMA (QUORUM SENSING) SİSTEMİ

Yasemin Şefika KÜÇÜKATA\*, Hasan YETİM, Banu METİN  
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa bilimleri Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş /Received 28.03.2024; Kabul /Accepted: 12.06.2004.2024; Online baskı /Published online: 27.06.2024

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve çoğunluk algılama (quorum sensing) sistemi. GIDA (2024) 49 (4) 607-623 doi: 10.15237/gida.GD24036

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Biodiversity of *Pseudomonas*, spoilage characteristics, biofilm production, and quorum sensing system in meat and meat products. GIDA (2024) 49 (4) 607-623 doi: 10.15237/gida.GD24036

### ÖZ

Bozulma yapan mikroorganizmalar ve/veya patojenler gıda endüstrisinde bir endişe kaynağıdır. *Pseudomonas* türleri, düşük sıcaklıklarda depolanan gıda ürünlerinde gelişebilen, Gram negatif, aerobik ve psikrotrofik bakterilerdir. Çiğ ette bozulmaya sebebiyet veren türler arasında *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas lundensis* sayılmaktadır. Ette kötü koku, tat, renk bozulması ve mucus üretimine sebep olan psikrotrof pseudomonadlar, buzdolabı sıcaklıklarında ve aerobik şartlarda saklanan çiğ et için sorun teşkil etmektedir. Düşük sıcaklıklarda saklanan etlerde gelişen bazı *Pseudomonas* türleri güçlü biyofilm üreticileridir. Pseudomonadların bozulma faaliyetleri, çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS) olarak bilinen hücreler arası iletişim sistemi ile ilişkilidir. QS sistemi, bakterilerin olumsuz koşullara maruz kaldıklarında ürettikleri moleküller aracılığıyla çoğunluklarını algılayarak patojenite ile ilgili genlerin kodlanmasından sorumludur. Pseudomonadların ette bozulma yapma mekanizmasının anlaşılması, gelişmelerinin engellenebilmesi için önemlidir. Et pseudomonadlarının QS sistemi hakkındaki araştırmalar oldukça sınırlıdır. Bu derleme çalışmasında et pseudomonadlarının biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm oluşturma yetenekleri ve QS sistemlerinin, etin bozulma süreçleri üzerindeki etkileri tartışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm, et, *Pseudomonas*, çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS)

## BIODIVERSITY OF *PSEUDOMONAS*, SPOILAGE CHARACTERISTICS, BIOFILM PRODUCTION, AND QUORUM SENSING SYSTEM IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

### ABSTRACT

The contamination of food by spoilage microorganisms and/or pathogens is a concern in the food industry. *Pseudomonas* species, Gram-negative, aerobic, and psychrotrophic bacteria, can develop in food products stored at low temperatures. The species causing spoilage in raw meat include *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas lundensis*. Psychrotrophic pseudomonads cause bad odors, off-tastes, discoloration, and mucus production in raw meat stored

\* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉:yasemin.kucukata@izu.edu.tr

☎: (+90) 212 692 9647

Yasemin Şefika Küçükata; ORCID no: 0000-0002-2316-1507

Hasan Yetim; ORCID no: 0000-0002-5388-5856

Banu Metin; ORCID no: 0000-0002-3203-0058

under refrigeration and aerobic conditions. Some *Pseudomonas* species that develop in meats stored at low temperatures are strong biofilm producers. The spoilage activities of pseudomonads are linked to a cell-to-cell communication system known as quorum sensing (QS). The QS system is responsible for encoding genes related to pathogenicity by sensing population density through molecules produced under adverse conditions. Understanding the spoilage mechanisms of pseudomonads in meat is important for inhibiting their development. Research on the QS system of meat pseudomonads is limited. This review discusses the biodiversity, spoilage properties, biofilm formation abilities, and QS effects of *Pseudomonas* species on meat spoilage.

**Keywords:** Biofilm, meat spoilage, *Pseudomonas*, Quorum Sensing (QS)

## GİRİŞ

Et ve et ürünleri insan beslenmesinde önemli bir gıda grubudur. Son 50 yılda büyük ölçüde artan et tüketim pazarının 2020 yılındaki büyüklüğü 277.5 milyon metrik ton olarak değerlendirilmiş olup, 2027'de bu tüketim miktarının 292.92 milyon metrik tona ulaşması beklenmektedir. Sığır eti tüketiminin ise 2029'a kadar %12 artması öngörülmektedir (Nethra vd., 2023).

Taze et, mikrobiyel kontaminasyona karşı duyarlı bir gıda olup depolama, taşıma ve satış süreçleri et kalitesinin zamanla azalmasına yol açmaktadır (Wen vd., 2022). Ayrıca çiğ et hem gıdanın bozulmasından hem de gıda zehirlenmelerinden sorumlu olan çeşitli gıda kaynaklı patojenlerin kaynağıdır (Poursina vd., 2023). Ette gerçekleşen organoleptik bozulmanın gelişimi, etteki şekerler ve serbest aminoasitler gibi besin maddelerinin mikroorganizmalar tarafından tüketimi ve istenmeyen bazı uçucu metabolitlerin üretimi ile ilgilidir (Ercolini vd., 2010). Vakum ve modifiye atmosferde paketlenmiş çiğ ve/veya pişmiş et ürünlerinin yüzeyindeki değişiklikler, çok büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Et ve et ürünlerinin raf ömrünü kısaltan bozulma etkenleri ve artan tüketici gereksinimleri, gıda işletmecileri ve yetkililerin üzerinde durması gereken önemli bir konudur (Iulietto vd., 2015).

Et ortamıyla ilişkili mikroorganizmaların genel olarak *Enterobacteriaceae*, laktik asit bakterileri, *Brochothrix thermosphacta* ve *Pseudomonas* gruplarına ait olduğu bilinmektedir (Ercolini vd., 2010; Doulgeraki vd., 2012). Soğukta depolanan etlerde baskın olarak psikrofil ve psikrotrof bakterilerin olduğu gözlemlenirken aerobik koşullar altında saklanan et ve et ürünlerinde ise özellikle pseudomonadların hâkim flora olduğu rapor edilmektedir. Yapılan araştırmaların çoğu,

buzdolabı sıcaklığında aerobik olarak depolanan etlerdeki baskın bakteri cinsinin *Pseudomonas* türleri olduğunu göstermiştir (Wang vd., 2017).

*Pseudomonas* cinsinin günümüzde 240'tan fazla türe sahip olduğu bilinmektedir (Kolbeck vd., 2021). Et ve et ürünlerinde en yaygın üç *Pseudomonas* türü ise *P. fragi*, *P. fluorescens* ve *P. lundensis*'tir. Bu türler,  $10^7$ - $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>'e ulaştığında, mukus ve kötü koku oluşumuna sebebiyet vermektedirler (Biohaz, 2016). Gıdalarda bozulmaya sebebiyet vermeleri her yerde yaygın olarak bulunmaları, psikrotolerant olmaları, lipaz ve proteaz gibi ekzoenzimler üretebilmeleri gibi özelliklere sahip olmaları yanında (Hoffman vd., 2019) bazı *Pseudomonas* türlerinin, ürünler rahatsızlıklara da sebep olduğu ve bazı antimikrobiyellere direnç geliştirdiği de bildirilmektedir (Na vd., 2019).

Bakterilerin olumsuz çevre koşullarında oluşturdukları bir iletişim süreci olarak tanımlanan QS sistemi, patojenite için gerekli genlerin kodlanması ve kontrolünden sorumludur. Taze et ve et ürünlerinde bozulmaya sebebiyet veren pseudomonadların bu yeteneklerinin yakından incelenmesi, ette bozulmayı önleme ve gıda israfını azaltmaya yönelik çalışmalar adına büyük önem arz etmektedir.

Etin mikroflorası üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında üretim ve depolama sırasında meydana gelen mikrobiyel değişiklikler hakkında çok az bilgi olduğu dikkat çekmektedir. Bu nedenle farklı et ürünleri ve depolama şartlarında bozulmaya neden olan mikroorganizmaların karakterizasyonu önemlidir (Cauchie vd., 2020). Örneğin, günümüzde yapılan metagenomik çalışmalar, gıda güvenliği, gıdaların saklanması, mikrobiyel ekosistemlerinin araştırılması ve tanımlanması yönünde faydalı sonuçlar

vermektedir (Yı vd. 2016). Yine *Pseudomonas* türlerinin sebep olduğu bozulmaları en aza indirmek için et ve et ürünlerinin mikrobiyotasının önemli bir parçası olan pseudomonadların çeşitliliğinin araştırılması, karakteristiklerinin tam olarak anlaşılması, yeni tür ve suşlarla ilgili bilgilerin literatüre katılması gerekmektedir. Çoğunluk algılama veya hücreler arası iletişim olarak bilinen QS sistemi, pseudomonadların biyofilm oluşumu ve gıdaların bozulmasında önemli rol oynamaktadır. Bu derleme çalışmasında, et ve et ürünlerinde bozulmaya sebebiyet veren baskın *Pseudomonas* türleri ve bu türlerin bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve QS sistemi ve bu sistemin bozucu özellikler ile ilişkisi irdelenmiştir.

### ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BOZULMA YAPAN *PSEUDOMONAS* TÜRLERİ

Taze et, bozulmaya neden olan çeşitli bakteri türlerinden (*Enterobacteriaceae*, *Yersinia* ve *Pseudomonas*) oluşan bir kompleks içermektedir (Salman vd., 2023). Etin ilk mikrobiyel yükü, kesim sırasında hayvanın fizyolojik durumu, kesimhaneye ve proses aşamalarındaki kontaminasyonlar ile dağıtım sırasındaki sıcaklık ve saklama koşulları etin bozulma oranını etkileyen en önemli faktörlerdir (Doulgeraki vd., 2012). Bu nedenle et ve et ürünlerinde bozulma yapan bakterilerin kontaminasyon rotalarının belirlenmesi önemlidir (Stellato vd., 2017). Karkas ve et, bozulma süreçlerine önemli ölçüde katkıda bulunan pseudomonadların en sık görülen kaynağıdır (Ercolini vd., 2010).

*Pseudomonadaceae*, her yerde bulunabilen, saprofit, bitki, hayvan ve insan patojenlerinden oluşan bir bakteri ailesidir. Floresan pigmenti oluşturma yeteneğine sahip pseudomonadlar sıklıkla karasal ve sulu ortamlarda bulunmakta ve gıda bozulmalarında da rol oynamaktadırlar (Arnaut-Rollier vd., 1999). *Pseudomonas* spp., 0.5–0.8 mm x 1.5–3.0 mm boyutlarında, spor oluşturmeyen, Gram negatif çubuk (basil) şekilli bakterilerdir. Tek veya çoklu polar kamçıya sahip olmaları nedeniyle hareketlidirler (Hossain, 2014). İlk olarak 1882 yılında farmakolog Carle Gessard tarafından keşfedilen *Pseudomonas* cinsi, kelime manası ile *pseudo* “sahte, yalancı”, *monas* “birimler”

anlamına gelmektedir. *Pseudomonas* türleri, 1984’te Alman botanist Walter Migula tarafından “Polar hareket organına sahip olan hücrelerdir.” şeklinde tarif edilmiştir (Anonim, 2012; Hossain, 2014).

Psikrotrof *Pseudomonas* türleri, aerobik olarak soğuk depolanmış etlerde bozulmaya sebebiyet veren en önemli mikroorganizmalardır (Wickramasinghe vd., 2019a). Yapılan bir çalışmada aerobik olarak paketlenen kuzu etinde depolama süreci boyunca *Pseudomonas* ve *Serratia*’nın rekabet içerisinde olduğu, 10 günlük depolamanın sonlarına doğru ise *Serratia* yoğunluğunun azaldığı, *Pseudomonas*’ın baskın tür olduğu gözlemlenmiştir. Bu da *Pseudomonas*’ın ortamdaki besini kullanabilme yeteneğinin daha iyi olduğu ve bu durumun *Serratia*’nın gelişmesini engelleyebildiği anlamına gelmektedir. Aynı çalışmada vakumla paketlenen kuzu etleri 28 güne kadar depolanmış ve depolama sürecinin 1., 5. ve 10. günlerinde anaerobik türlerin yanında *Pseudomonas* türlerine rastlanmıştır (Wen vd., 2022). *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* gibi bozulmaya sebep olan bakteriler, başlangıçta glukoz, glukoz-6-fosfat ve serbest aminoasitler gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler metabolize etmektedirler. Bu süreç sonucunda hücre sayısı artmakta ve etin pH değeri 5.5’ten 6.6’ya yükselmektedir. Bakteri sayısı  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>’yi aştığı anda, bozulma hızı artmaktadır. pH değerinin 6.6 olması ve oksijenin varlığı, *Pseudomonas*’ların hücre dışı proteaz ve lipazların üretimi ve aktivitesi için uygun bir ortam sunmaktadır (Nethra vd., 2023). *Pseudomonas* türlerinin ürettiği soğuk-aktif proteaz ve lipaz enzimleri domuz etinin yüksek düzeyde bozulmasına sebebiyet vererek domuz işleme endüstrisinde önemli bir problem haline gelmektedir (Dai vd., 2022). Bir çalışmada vakumlu paketlenen domuz etlerinin, oksijen geçirgenliği yüksek polietilen ile sarıldığında, mikrofloranın %78’ini *Pseudomonas*, kalan %22’sini ise *B. thermosphacta*’nın oluşturduğu rapor edilmiştir (Pellissery vd., 2020). Tavuk göğüslerinden izole edilen bakteri sayımında ise 0 ile 15°C arasında *Pseudomonas* spp.’nin baskın olduğu kaydedilmiştir (Spyrelli vd., 2021).



Taze ve bozulmuş et, inek sütü, keçi sütü, peynir, balık ve kümes hayvanlarından izole edilen psikrotrofların fenotipik ve moleküler karakterizasyonu sonucu dört ana *Pseudomonas* türünün baskın olduğu ortaya konulmuştur. Bunlar; *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. lundensis*'tir (Liao, 2006). *P. fragi* pigment üretmeyen bir tür iken *P. lundensis*, *P. fluorescens* ve *P. putida* pigment üreten türlerdir (Gill vd., 2014; Wickramasinghe vd., 2019b). *Pseudomonas* bozulmalarıyla ilişkili birçok aktivitenin türe ve suşa özgü olduğu bilinmektedir. Bozulmaların kaynağına odaklanmak için türlerin ve suşların iyi analiz edilmesi gereklidir (Stellato vd., 2017). Kritik suşların çevresel kontaminasyon kaynaklarını belirlemek ve azaltmak veya ortadan kaldırmak yüksek gıda bozulma potansiyeline sahip tür ve suşların ayırt edilmesi için önemlidir.

*Pseudomonadaceae* familyasındaki *Pseudomonas*'ların tür ayrımı için genellikle 16S rRNA geni kullanılmaktadır. 16S rRNA bölgesi, *Pseudomonas*'ların ve üç ana türde ayrılmasına olanak sağlar (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *P. pertucinogena*) (Lick vd., 2020). Bununla birlikte, genom içi heterojenlikler, *Pseudomonas* genomlarındaki 16S rRNA geninin izolatları tür ve suş düzeyinde ayırt etmesini pek mümkün kılmamaktadır. Bu nedenle, *Pseudomonas* izolatlarının tanımlanması için üç protein sentaz geninin *gyrB*, *rpoB* ve *rpoD* birleştirilmesine dayanan Multi Locus Dizi Analizi (MLSA) önerilmektedir (Duman vd., 2020; Girard vd., 2020). *Pseudomonas* türlerinin potansiyel olarak yüksek katma değere sahip çok çeşitli biyoaktif sekonder metabolitlerin üreticileri olduğu bilinmektedir (Girard vd., 2020). Bazı zenobiyotikleri degrade etme, bitkilerin büyümesini teşvik etme, floresan özellikleri, siderofor ve antibiyotik üretebilme gibi özelliklere sahip olması *Pseudomonas*'ın var olan türlerinin yakından araştırılmasına dikkat çekerken yeni türlerinin karakterize edilmesi de yine ilgi çekmektedir (Tchagang vd., 2018). Bu nedenle, *Pseudomonas* türleri çeşitli ortamlardan rutin olarak izole edilmekte ve karakterize edilmeye devam etmektedir (Lick vd., 2019). Sonuç olarak, *Pseudomonas* izolatlarının hızlı ve etkin bir şekilde

tanımlanabilmesi, ortamdaki oluşumlarının ve çeşitliliğinin izlenebilmesi önemlidir.

### ***Pseudomonas fragi***

Yapılan birçok çalışma, ette bozulma yapan en önemli *Pseudomonas* türünün *P. fragi* olduğunu göstermiştir (Arnaut-Rollier vd., 1999). *Pseudomonas fragi*, taze ve bozulmuş gıdalarla ilişkili doğal mikrofloranın düzenli ve önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sığır etinde bulunan pseudomonadlarının %61'inin, domuz etindeki pseudomonadların ise %76-79'unun *P. fragi* olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte *P. fragi*'nin soğutulmuş tavuğun, süt ve süt ürünlerinin bozulmasında da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Liao, 2006; Wang vd., 2017).

Hem taze hem de bozulmuş ette çok sık bulunan ve et ortamının mikrobiyel ekolojisinde önemli bir role sahip olan *P. fragi* için etin ekolojik bir niş olabileceği düşünülmektedir (Ercolini vd., 2010). *P. fragi* suşlarının büyük bir kısmı, ette hücre dışı proteazlar, lipazlar, ekzopolisakkarit mukus ve meyvemsi kötü kokular üretme yeteneğine sahiptir (Liao, 2006). Ürettiği enzimler sonucu kaslarda protein degradasyonuna neden olarak kas yıkımına yol açmaktadır (Stanborough vd., 2018). Yine lipolitik bakteriler arasında sayılan *P. fragi*'nin oluşturduğu bazı lipazlar, et yağını, 4°C ve 20°C'de hidrolize edebilmektedir (Oussalah vd., 2006). Mezofilik bakterilerde protein sentezinin başlaması 8°C'nin altında engellenebilirken, kıymadan izole edilen *P. fragi* K1 suşunun protein sentezine 0°C'de de devam ettiği tespit edilmiştir (Wickramasinghe vd., 2019a). Bu da bakterinin buzdolabı sıcaklıklarında gelişmesi ve düşük sıcaklıklarda dahi bozucu özellikler gösterme kabiliyetine devam ettiğini göstermektedir.

*Pseudomonas fragi*'nin aerobik ve soğuk koşullarda et ürünleri üzerinde yüksek oranda metil asetat ve etil asetat ürettiği gözlenmektedir. *Pseudomonas fragi* tarafından oluşturulan alkil esterler ve sülfür içerikli (dimetil sülfid) uçucu bileşikler sığır etlerinde kabak kokusuna benzer bir kokuya sebebiyet vermektedir (Stanborough vd., 2018). *P. fragi* inoküle edilmiş etlerde 2-bütanon, 3-carene, diasetil ve asetaldehit üretimine rastlanırken steril

olarak saklanan bozulmuş etlerde asetoin ve hekzanal üretimi görülmüştür. Ayrıca, *P. fragi* ile aşılana etlerde, *P. putida* ile aşılama etlere kıyasla daha yüksek miktarlarda uçucu bileşikler bulunduğu rapor edilmiştir. Bu da uçucu bileşenlerin üretiminin bakterilerde türe bağı olduğu durumunu desteklemektedir (Papadopoulou vd., 2020). Bu nedenle et ve et ürünlerinde en önemli bozucu etken olarak kabul edilen *Pseudomonas* türlerinin, gıdaları bozma yeteneklerinin türe bağı olabileceği gibi suşa da bağı olabileceği ve bunların alt tür düzeyinde çeşitliliğinin araştırılması, gıdalarda kontaminasyon ve bozulmanın gelişiminin aydınlatılması açısından önemlidir (Stellato vd., 2017).

*P. fragi*'nin sığır etinde aerobik, modifiye atmosfer paketlenme (MAP) ve vakum paketlenme (VP) dahil olmak üzere çeşitli paketlenme koşullarında depolanması sırasında hemen hemen tüm numunelerde gelişme gösterdiği kaydedilmiştir (Doulgeraki vd., 2012). Örneğın, Ercolini vd. (2007), yaptığı bir çalışmada steril sığır etini, *P. fragi*, *Serratia proteamaculans* ve *Carnobacterium maltaromaticum* ile inoküle etmiş ve vakum pakette, 7°C, 20°C ve 30°C'de bir ay boyunca saklamıştır. Genel olarak, mezofilik bakteriler 20°C ve 30°C'de hızlı bir gelişim gösterirken 7°C'de gelişimlerinin yavaşladığı tespit edilmiştir. Psikrotrofik *P. fragi* ise 30°C'de çok yavaş bir gelişme göstermiş ya da hiç gelişmemiştir. Bunun yanında 7°C koşulunda 0. günden itibaren 30. güne kadar gelişme göstermeye devam etmiştir (Ercolini vd., 2009). Vakumla paketlenmiş ette yaygın olan *P. fragi* suşlarının, oksidatif stresle ilgili genlerin prevalansının daha düşük olduğu, proteoliz ve aminoasit genlerinin ise daha yüksek prevalansa sahip olduğu görülmüştür. Buna karşılık, aerobik olarak depolanan ette bulunan suşların daha yüksek lipolitik potansiyele sahip olduğu görülmektedir (Wickramasinghe vd., 2019b).

Güçlü biyofilm üreticileri olduğu bilinen *Pseudomonas* türlerinin ürettiği biyofilm çoğunlukla protein ve polisakaritlerden oluşmaktadır (Pang ve Yuk, 2019). Et yüzeyine tutunmada en iyi bağlanma özelliği gösteren bozucu bakterinin

*Pseudomonas* türleri olduğu belirtilmektedir (Piette ve Idziak, 1991). Örneğın, 11 farklı bakteri türünün et üzerinde oluşturduğu biyofilm özellikleri ve ilişkili genlerin tespit edildiği bir çalışmada, oluşan biyofilmin %70'inden *P. fragi*'nin BF1 suşunun sorumlu olduğu belirlenmiştir. *P. fragi* BF1 suşu, biyofilm oluşumuyla ilişkili en yüksek sayıda genetik özelliğe sahip tür olarak tespit edilmiştir. Bu genler adhezyon, hareket, virülans faktörü (*mvfM*), aljinat üretimi ve selüloz metabolizması ile ilgilidir (Wagner vd., 2021). Yaygın bulunan, stresli koşullara dayanıklı ve çiğ et mikroflorasında baskın bir tür olarak kabul edilen *P. fragi*'nin suş bazında incelenerek daha ayrıntılı çalışmaların ortaya konulması gerektiği görülmektedir.

### ***Pseudomonas fluorescens***

*Pseudomonas fluorescens* ette bozulmaya sebep olan bir başka psikrotrof bakteri türüdür. *P. fluorescens*, taze ve bozulmuş gıdalarda sıklıkla *P. lundensis*, *S. putrefaciens*, *Psychrobacter immobilis* gibi diğer psikrotroflarla birlikte bulunmaktadır (Liao, 2006).

Bozulma yapan psikrotrof bakteriler, soğukta aktif olan proteaz ve lipaz üretme yeteneğine sahiptirler. Yapılan bir çalışmaya göre *P. fluorescens*'in bir suşunun ürettiği lipolitik enzimlerin aktivitesinin 5°C'de 20°C'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Salınan enzimler buzdolabı sıcaklıklarında birikerek düşük bakteri yüküne rağmen ürünün bozulmasına sebep olmaktadır (Wickramasinghe vd., 2019b). Bununla beraber *P. fluorescens*, visconsin adlı yüzey aktif lipopeptit üretebilmesi sayesinde tavuk etleri derisinde bulunan yağı degrade etme yeteneğine de sahiptir (Mellor, Bentley ve Dykes 2011). *P. fluorescens*'in özellikle pektolitik suşlarının, aerobik ve soğutma sıcaklığında depolanan taze ürünlerin bozulmasının %40'ından fazlasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (Liao, 2006). Bunun yanında *Pseudomonas fluorescens*'in rekabetçi bir tür olduğu ve sıcaklık, depolama süresi ve besin bulunabilirliğinden bağımsız olarak çiğ ette *E. coli* gelişmesinin *Pseudomonas fluorescens* tarafından baskılandığı belirtilmektedir (Zhang vd., 2023b).

Biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olan *P. fluorescens*'in paslanmaz çelik yüzey ortamında dahi biyofilm üretmeye devam ettiği gözlemlenmiştir (Wang vd., 2018). *P. fluorescens*'in ürettiği uçucu bileşenlerin proteomik analizleri incelendiğinde patojen bakterilerin protein metabolizmalarını etkileyerek gelişimlerini engellediği rapor edilmiştir (Raza vd., 2016). Yine *Pseudomonas fluorescens*'in oluşturduğu bazı uçucu bileşiklerin, *Penicillium italicum* ve *Penicillium expansum*'un spor ve misel oluşumunu tamamen engellediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Wang vd., 2021).

### ***Pseudomonas putida***

*Pseudomonas putida*, düşük sıcaklıklarda saklanan etlerde gelişebilen başka bir *Pseudomonas* türüdür. Bu tür, daha çok kanatlı etlerinde baskın olan bir tür olarak da bilinmektedir. Toprak ve tatlı sularda yaygın olarak bulunan *P. putida*'nın bakteriyosin benzeri moleküller üreterek ortamda bulunan *P. fragi*'yi inhibe ettiği tespit edilmiştir (Wickramasinghe vd., 2019b). *P. putida* besin yönünden zengin bir ortamda, 5-30°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında biyofilm oluşturabilmektedir (Morimatsu vd., 2012). Toprak kaynaklı patojen olarak da bilinen *P. putida*, biyodegradasyon ile zenobiyotikleri ve aromatik kirlilikleri metabolize edebilmesi ile de öne çıkmaktadır (Lopez-Sanchez vd., 2016).

### ***Pseudomonas lundensis***

Aerobik olarak depolanan soğutulmuş etlerin bozulmasına neden olan en belirgin *Pseudomonas* türlerinden bir tanesi de *P. lundensis*'tir. Yapılan bir çalışmada, güçlü proteolitik aktiviteye sahip olan *P. lundensis*'in soğutulmuş domuz etinin bozulmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Liu vd., 2015). Bununla birlikte *P. lundensis*; taze et ve balıklarda, pastörize ve UHT sütlerde ısıya dayanıklı hücre dışı proteaz ve lipazların üretimi ile yaygın olarak ilişkilendirilmektedir (Stanborough vd., 2018).

*P. fragi* ve *P. fluorescens* ile yakın olan *P. lundensis* ette kötü kokular ve mukus üretimine de sebep olmaktadır. Et üzerinde gelişen *P. lundensis* hücreleri oluşturdukları piyosyanin pigmenti ile ette yeşilimsi bir renk oluşumuna neden olurlar (Wickramasinghe vd., 2019b). Örneğin, 2-10°C

gibi düşük sıcaklıklarda gelişebilme ve 4-6 saat içinde yüzeye tutunarak, 24 saat sonunda da olgun biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahip olması, gıda bozulmaları açısından *P. lundensis*'in önemli bir tür olduğunu göstermektedir (Liu vd., 2015).

Kendi türleri içinde ve diğer türlerle güçlü rekabet etme yeteneğine sahip pseudomonadların tür ve suş bazında, biyokontrol aktivitelerinin incelenmesi gıdaların korunması veya raf ömrünün uzatılması açısından önemlidir.

## **PSEUDOMONAS TÜRLERİNİN BİYOFİLM ÜRETME YETENEĞİ**

Pseudomonadların tür seviyesindeki biyoçeşitliliği, kontaminasyonun ana kaynağı olan gıda işleme veya üretim ortamına kolonize olabilmeye kabiliyeti ile yakından alakalıdır. Farklı *Pseudomonas* türleri ve biyotipleri, gıda ile temas eden yüzeylerin ve aletlerin rutin temizliğine karşı direnç ve biyofilm oluşturma kapasiteleri ile karakterize edilebilmektedir (Stellato vd., 2017). Biyofilm, bakterileri çevrenin zararlı etkilerinden koruyan ve hücreler arası iletişimin bir sonucu olan, bir veya birkaç bakteri türünden oluşan canlı, sürekli yenilenen bir polimerik matriks ile çevrili bir topluluktur (Mayansky vd., 2012). Biyofilmler, gıdalarda kalıcı olarak düşük seviyeli kontaminasyona neden olmakta ve biyofilmde bulunan gıda kaynaklı patojenlerin varlığı gıda güvenliği endişelerine neden olmaktadır (Annous vd., 2009). Gıda işleme ortamında biyofilm, mikroorganizmalar için bir hayatta kalma mekanizmasıdır. Mikroorganizmalar düşük sıcaklık, farklı nem oranı, besin çeşidi gibi değişiklikler ve düzenli dezenfeksiyon prosedürleri gibi çok sayıda stres faktörüyle karşı karşıya kalmaktadır (Brooks ve Flint, 2008). Planktonik bakterilere kıyasla, biyofilm oluşturan bakteriler, yerinde temizleme sistemleri, enzimlerin elimine edilmesi, ultrason ve irradiasyon gibi yaygın dekontaminasyon yöntemlerine karşı direnç gösterebilmektedir (Zhang vd., 2023b). Bunun sonucunda, bakterilerin kendilerini koruma altına aldıkları bu biyofilm ortamı, gıda endüstrisi için her yıl çok büyük mali kayıplara yol açmaktadır (Wagner vd., 2021).

Et endüstrisinde tanımlanan bakterilerin yaklaşık %90'ının biyofilm oluşturabildiği ve bunun et endüstrisinde yılda yaklaşık 150 milyon dolarlık bir ekonomik kayba yol açtığı belirtilmektedir (Rather vd., 2022). Taze et ve et ürünlerinin soğuk zincir ortamında saklanması ve dağıtılması gerekmektedir. Et ortamında baskın olan bakteriler, düşük sıcaklığa uyum sağlamaya zorlanmakta ve soğuk şoka tepki yolları geliştirmektedir. Bunun sonucunda bozulma dönemi boyunca glikoliz ve piruvat yolları korunmakta ve bakteriyel gelişim devam etmektedir (Shao vd., 2021).

Yapılan çalışmalar, pseudomonadların düşük sıcaklıklarda yüzeyde mukus tabakası oluşturduğunu göstermektedir. Üretilen bu tabaka, bakteri hücrelerini çevreleyen ve çevresel stresten kurtulmasına yardımcı olan bir matrikstir. Bu matriks esas olarak polisakkarit, protein, lipid ve hücre dışı DNA'dan (eDNA) oluşan hücre dışı polimerik maddelerden oluşmaktadır (Sharma vd., 2014). Bir yüzeye tutunduktan sonra gelişen bakterilerin ürettiği bu ekzopolisakkaritler, olgunlaşarak biyofilm tabakası haline gelmekte ve bu tabaka yeni yüzeylere yayılmak için tutunma yüzeyinden ayrılmaktadır (Morimatsu vd., 2012).

*Pseudomonas* türlerinin etin yüzeyine tutunmada en iyi bağlanma özelliği gösteren bakteri türlerinden olduğu belirtilmektedir. *P. fluorescens* ve *Acinetobacter*'in durulamadan sonra da et yüzeyinde kaldığı, *Lactobacillus* hücrelerinin ise kalmadığı Piette ve Idziak (1989) tarafından incelenerek gösterilmiştir.

Biyofilmler, genel olarak gıdalarda sıkıntıya sebebiyet vermenin yanı sıra ev tipi su arıtma cihazlarındaki karbon filtreler veya membranlarda da özel bir sorun teşkil etmektedir. *Pseudomonas* spp.'nin metabolizmalarını yavaşlatma yeteneği, şişelenmiş içme sularında oluşturdukları biyofilm matrisleri içinde aylarca hayatta kalmalarını sağlamaktadır (Hossain, 2014). Gıda işleme sırasında oluşan biyofilmin *Pseudomonas* ile kontamine olmuş su, el ve gıdanın temas ettiği materyallerden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Carpentier, 2009).

Kırmızı et ve balık etlerinde yaygın olarak görülen *P. lundensis*'in düşük sıcaklıklarda biyofilm oluşturduğu rapor edilmiş, *P. lundensis*'in ürettiği bu biyofilmin, patojen ve bozulma yapan diğer bakterilerin de barınmasını sağlayarak gelişmelerini desteklediği raporlanmıştır (Wickramasinghe vd., 2019b). *P. putida*'nın dikey beslemeli su borularında bir gün içerisinde 4.3 cm'e kadar biyofilm oluşturabildiği tespit edilmiştir (Carpentier, 2009). Yapılan başka bir çalışmada *P. putida*'nın oluşturduğu biyofilmin yüksek sıcaklıklarda viskozitesinin azaldığı ve biyofilm tabakasının ayrılmaya yöneldiği gözlemlenmiştir. Sıcaklığın düşürülmesinde ise çevresel stresi daha iyi tolere etmek için bakterilerin bağlantı yüzeyinde bağlı kaldığı rapor edilmiştir (Morimatsu vd., 2012). Türler arası biyofilm etkinliğinin incelendiği bir çalışmada, somon balığına *P. fluorescens* ve *L. monocytogenes* birlikte inoküle edilmiştir. İnkübasyon (15°C) sonucu her iki türün de biyofilm oluşturma kapasitelerinin arttığı görülse de *L. monocytogenes*'in hücre yoğunluğunun azaldığı ve *P. fluorescens*'in biyofilm hücre popülasyonunda %90 baskın tür olduğu tespit edilmiştir. Bu da iki farklı tür arasında güçlü rekabet yeteneğine sahip *Pseudomonas*'ın *L. monocytogenes* üzerindeki avantajını açıkça göstermektedir (Pang ve Yuk, 2019). Et patojeni olarak kabul edilen *L. monocytogenes* ve ette major bozulma yapıcı etken olarak kabul edilen *Pseudomonas* türlerinin, biyofilm oluşturma yeteneklerinin düşük sıcaklıklarda artabildiğini de gösteren bu çalışma, et ve et ürünlerindeki kayıpları önlemek için bu mikroorganizmaların engellenmesi üzerine stratejiler oluşturulması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Ekipmanlar, aletler, kesme tahtaları, el ve eldivenlerin et ile herhangi bir teması sonucu bakteriyel transfer gerçekleşebilmektedir (Carpentier, 2009). Biyofilm hücrelerinin et ürünlerine transferi; et ürününün türüne, kültür ortamına, hücrelerin yapısına, bağlanma gücüne ve ekzopolisakkarit üretimine bağlı olarak bunlardan etkilenmektedir (Pang ve Yuk, 2019).

Dezenfektanlara karşı direnç kazanma, güçlü biyofilm oluşumu ve bakteriyel tutunma, taze ürünler için sanitasyon işlemlerinin etkinliğini

azaltmaktadır. Biyofilm yapısında yer alan bakteriler genellikle antimikrobiyellere karşı da daha dirençli olmaktadır. Bu direncin mekanizması türden türe değişebilmektedir (Sala vd., 2012). Biyofilm oluşturan türlerin antimikrobiyellere direnç mekanizması; (1) antimikrobiyel ilaçların oluşan biyofilmlere nüfuz etmesinin zor olması, (2) biyofilmdaki antibiyotığın deaktive edilebilmesi ve (3) antibiyotiklerin biyofilm matrisine adsorbe olabilmeye yetenekleri ile açıklanmaktadır (Sharma vd., 2014). Yapılan çalışmalarda paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumundan sorumlu olan *P. aeruginosa*, *P. fragi* ve *Salmonella Typhimurium*'un dezenfektanlara karşı toleransının arttığı rapor edilmiştir (Liao, 2006). Diğer taraftan domuz karkasından izole edilen *P. aeruginosa* ve *P. putida*'nın farklı antibiyotiklere direnç gösterdiği de bulunmuştur (Sala vd., 2012).

Biyofilm oluşumunun önüne geçilmesi için ilk olarak temizlikte kullanılan suyun kalitesi ve sterilitesi önemlidir. Buna ek olarak kullanılan alet ve ekipmanın temizliğine ve işlem proseslerinin düşük sıcaklıklarda gerçekleşmesine dikkat edilmelidir (Carpentier, 2009). Bulaşmaları önlemek için, polisakkarit matrisinin parçalanması ve yeni teknikler kullanılarak bakterilerin biyofilmlerden arındırılması gerekmektedir (Sharma vd., 2014).

Bu konuda diğer önemli husus da çoğunluk algılama (Quorum Sensing, QS) sistemidir ve bu sistem biyofilm oluşumunda rol oynayan önemli bir biyo-sistemdir (Sharma vd., 2014). Soğutulmuş et ürünlerindeki bakteriyel proteolitik aktivite ve biyofilm, farklı karbon zincir uzunluklarına sahip otoindüklileyici adı verilen moleküller ile ilişkilendirilmektedir (Salman vd., 2023). Bakterilerin çoğunlukta buldukları ortamda ürettikleri otoindüklileyiciler ile birbirleriyle iletişim kurduğu ve gen ekspresyonunu düzenlediği hücreler arası bir sinyalleşme sistemi olan QS gelecek bölümde detaylı olarak verilmiştir.

Gıda işleme yüzeyleri veya aletlerinde bulunan mikroorganizmalara gıda mikrobiyota analizlerinde rastlanması, gıda işlem basamaklarının ve ekipmanlarında hijyen

sağlanmasının önemini göstermektedir. Temizlik prosedürleri ve personel hijyen eğitimleri taze ette biyofilm geliştirme ve yüzeylere yapışma yeteneğine sahip olan pseudomonadların engellenmesi ve etkin mikrobiyolojik kalitesi için büyük öneme sahiptir.

### **PSEUDOMONAS TÜRLERİNDE ÇOĞUNLUK ALGILAMA (QUORUM SENSING - QS) SİSTEMİ**

QS sistemi, bakterilerin farklı çevresel koşullara maruz kaldıklarında aralarında oluşturdukları bir tür iletişim sürecidir. Bakteriler, birbirleri ile iletişim için otoindüklileyiciler (autoinducers, AI) adı verilen düşük yoğunluklu, küçük ve yayılabilir sinyal molekülleri kullanmaktadırlar (İnat vd., 2021). Tek bir bakteri suşunda birden fazla otoindüksiyon sistemi bulunabilmektedir (Fuqua vd., 1994).

Bakteriler arasındaki etkileşim, hücre yoğunluğuna bağlı olarak spesifik gen ekspresyonunu koordine etmek için gerçekleştirilmektedir. Patojenite nitelikleri için gerekli genlerin kodlanması ve kontrol edilmesinden sorumlu olan QS sistemi, mikroorganizmalar arası bir kontrol ağıdır (Osman, 2019). Patojenik bakteriler etraflarındaki hücre yoğunluğunu algılayarak hareket, biyofilm ve çeşitli patojenitelerini kontrol etmeye QS sistemini kullanmaktadır (Yin vd., 2022). Yine farklı QS sistemleri, bakterilerin türe özgü ve/veya türler arası senkronize grup davranışlarını yönetmesini de sağlamaktadır.

Bakteri türüne bağlı olarak, QS tarafından düzenlenen fizyolojik süreçler, farklı bakteri türlerinde ikincil metabolit üretimi, plazmit transferi, biyo-ışıldama (biyoluminesans), hareketlilik, biyofilm oluşumu ve diğer virülens faktörlerle ilgili genlerin ekspresyonunun kontrolünde rol oynamaktadır (Diggle vd., 2007). Virülens genlerinin düzenlenmesinin, rekabet edilen mikroorganizmalar üzerinde bir avantaj sağladığı ve organizmanın patojenisitesi için önemli olduğu düşünülmektedir (Smith ve Iglewski, 2003). Pseudomonadlarda biyofilm oluşum aşamalarının tümü de yine QS ile ilişkilendirilmektedir (İnat vd., 2021).

Gram negatif bakterilerde, tür içerisindeki iletişim çoğunlukla otoindükleyici-1 (AI-1) olarak kategorize edilen açıl homoserin laktonlar (AHL) tarafından sağlanırken (Liu vd., 2006), Gram pozitif bakterilerde en sık gözlenen otoindükleyiciler oligopeptitlerdir (Monnet ve Gardan, 2015). Bakterilerin artan popülasyon yoğunluğu ile AHL konsantrasyonu yükselebilmektedir. Her bir hücre düşük seviyelerde AHL üretiyor olsa da birden fazla koloni toplamda daha yüksek konsantrasyonda AHL sentezlemektedir. Konsantrasyon belli bir miktara ulaştığında, AHL sinyali bir transkripsiyon faktörü ile etkileşime girmekte ve böylece QS ile düzenlenen genlerin ekspresyonu modüle edilmektedir (Fuqua vd., 2001). Genellikle, yüksek miktarda AHL salgılayan bakterilerin daha güçlü çevresel tolerans ve rekabet yeteneği sergileme eğiliminde oldukları bilinmektedir. İlk kez deniz kökenli, lüminesans bir bakteri olan *Vibrio fischeri*'de tanımlanan AHL, LuxI ve LuxR adlı iki proteine bağlı olarak üretilmektedir (Bassler vd., 1997). Buna ek olarak LuxM, HdtS enzimleri ile AHL sentezleyen 90 bakteri türü keşfedilmiştir (Khalid vd., 2021). LuxI proteini AHL sentezinden sorumlu sitoplazmik bir enzimdir. AHL miktarı belirli düzeye geldiğinde AHL ile LuxR proteini interaksiyona geçmektedir. LuxR-AHL kompleksi, QS tarafından düzenlenen ve ekspresyonları sağlanan genlerin DNA üzerindeki spesifik promotör dizilerine bağlanabilmektedir (Venturi, 2006). Genel anlamda, QS sistemleri, QS sinyalleri üreten, bağlayan ve gen ekspresyonunu yeniden programlayan proteinlerden oluşmaktadır (Pena vd., 2019).

Tıbbi öneme sahip bir bakteri olan *P. aeruginosa*'nın QS sistemi, bakterilerde en iyi anlaşılan iletişim sistemlerinden biridir. *P. aeruginosa* Las ve Rhl olarak iki farklı AI-1 QS sistemi içermektedir. Las sisteminde LasI, AI-1 grubuna ait N-(3-oxododecanoyl) homoserin lakton (OdDHL) otoindükleyicilerin sentezlenmesini yönetmektedir. Sentezlenen AHL transkripsiyonel aktivatör protein olan LasR ile bağlanmakta ve ilgili genlerin transkripsiyonunu başlatmaktadır. Rhl sistemi de benzer olarak transkripsiyonel aktivatör protein

RhlR'den, N-butiril homoserin lakton (BHL) sinyallerinin sentezini yöneten otoindükleyici sentaz RhlI'den oluşmaktadır (Glessner vd., 1999; Chen vd., 2005). Bunun yanında kendi türüne özgü olan 2-heptil-3-hidroksi-4-kinolon (*Pseudomonas* Quinolone Signal, PQS) üretimi de yapmaktadır (Ma vd., 2021). *P. aeruginosa*'nın sahip olduğu otoindükleyici üretim sistemi, bilinen ve bilinmeyen yüzlerce hedef genin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Schuster ve Greenberg, 2006).

Bir başka otoindükleyici molekül hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerde belirlenmiş olan evrensel bir sinyaldir ve tür içine ek olarak türler arası iletişimde de rol oynamaktadır (Chen vd., 2020; Pereira vd., 2013). AI-2 sinyal molekülü, bakteriler arasındaki sinyal alışverişine aracılık edebilen, spesifik olmayan bir otoindükör olarak düşünülmektedir (Li ve Zhao, 2020). AI-2 (furanosil borat diesterler) sentezinden *luxS* geninin sorumlu olduğu bilinmektedir (Ferrocino vd., 2009).

Et ile ilişkili *Pseudomonas* türlerinin QS sistemine yönelik çalışmaların oldukça kısıtlı olduğu görülmektedir. İnat vd. (2021)'nin yaptığı bir çalışmada kıymadan ve tavuk etinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında QS'in bozulma ve slime üretimi ile de yakından ilgili olduğu, *Pseudomonas* konsantrasyonları yaklaşık  $10^8$  ila  $10^9$  kob/g'a ulaştığında, et yüzeyinde AHL konsantrasyonlarının yüksek düzeylere çıktığı gösterilmiştir (İnat vd., 2021). Soğukta saklanan tatlı su balıklarından izole edilen psikrotrofik *P. psychrophila* PSPF19'un QS regülasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, AHL sinyal moleküllerinin proteolitik ve lipolitik enzim üretimini, bakterinin yüzeye bağlanmasını ve biyofilm oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (Bai ve Rai Vittal, 2014). Domuz etinden izole edilen *P. koreensis* PS1 suşunun dışardan eklenen AHL ile çoğalmasının arttığı, biyofilm üretiminde %33'lük, proteolitik aktivitesinde ise %16'luk bir artış gözlemlenmiştir (Dai vd., 2022). *P. fluorescens*'da ve *P. putida*'da çeşitli AHL üretimleri ve bu AHL'leri üreten sentaz genleri ile reseptörler belirlenmiştir (Laue vd., 2000; Bertani ve Venturi, 2004; Liu vd., 2007; Wang ve Xie, 2020; Zhao vd. 2016). Li vd.,

(2019)'un yaptığı bir çalışmada dışardan eklenen farklı AHL'ler *P. fluorescens*'in biyofilm üretimini arttırmakla kalmamış biyofilm kalınlığını da arttırmıştır. Diğer et *Pseudomonas*'larından *P. lundensis*'te ise QS ile ilgili bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Bununla birlikte biyofilm oluşturma kabiliyeti bilinmektedir (Liu vd., 2015; Wickramasinghe vd., 2019a; Wickramasinghe vd., 2021). Paketleme koşulları ve farklı sıcaklıkların QS sistemi üzerindeki etkisine bakıldığı bir çalışmada MAP ile paketlenen etlerde *Enterobacteriaceae*'nin önemli miktarda azaldığı tespit edilse de bu koşullarda laktik asit bakterilerinin baskın olduğu, 10°C ve 15°C depolamada ise pseudomonadların dominant hale geldiği kaydedilmiştir. Oluşturulan AHL sinyallerinin ise zamana bağlı olarak artış gösterdiği ve uzun süreli depolamada indüksiyonunun arttığı belirtilmiştir (Blana ve Nychas, 2014). Çeşitli gelişmiş ambalaj sistemleri bulunsa da genellikle bu sistemlerin maliyeti etin perakende satışı için uygun değildir (Mohan vd., 2019).

Kırmızı ette en yaygın gözlenen *Pseudomonas* olan *P. fragi*'nin ise AHL oluşturmadığı, etten izole edilen 72 suş ile yürütülen bir çalışmada saptanmıştır (Ferrocino vd., 2009). Aynı çalışmada AHL tespit edilmediği gibi, dışarıdan eklenen AHL'ye yanıt da izlenmemiştir. Başka bir çalışmada, *P. fragi*'nin genomunda AHL sentetaz geninin bulunmadığı tespit edilmiştir (Quintieri vd., 2021).

Et kaynaklı *Pseudomonas* türlerinin AHL üretme yeteneğinin *Aeromonas*, *Acinetobacter* ve *Serratia* gibi diğer et kaynaklı bozucu türlere kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir (Dai vd., 2022). AHL üretmediği tespit edilen *Pseudomonas*'ların *luxS* genine sahip olmadığı Ferrocino vd. (2009) ve Quintieri vd. (2021) tarafından belirtilmiştir. Ancak *P. fragi* suşları süpernatanlarının, *Vibrio harveyi* AI-2 biyosensör suşunda biyoluminesans yayılımını teşvik ettiği gözlenmiştir (Ferrocino vd., 2009). Bu durum, indirekt bir yöntemle AI-2 üretiminin tespiti anlamına gelmektedir. Benzer şekilde, *P. fluorescens* süpernatanları da yine söz konusu *V. harveyi* suşunda biyoluminesans yayılımına sebep olmuştur (Wang ve Xie, 2020; Zhao vd. 2016). Bu durum, *P. fragi*'nin ve *P.*

*fluorescens* gibi bazı *Pseudomonas* türlerinin LuxS'ten bağımsız bir yolla AI-2 üretebildiklerini göstermektedir. Tıbbi öneme sahip *P. aeruginosa*'da ise AI-2 üretimine rastlanmamıştır. Bununla beraber, dışarıdan eklenen AI-2'ye tepki verdiği gözlenmiştir (Li vd., 2017; Duan vd., 2003). Dışarıdan eklenen AI-2'nin *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumunu ve çeşitli virülens faktörlerini artırdığı ve yine fare deneylerinde patojenisiteyi artırarak ölüm oranını yükselttiği gözlenmiştir (Li vd., 2017). Özellikle kistik fibrozlu hastaların akciğerlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*'nın tedaviyi zorlaştıracak şekilde dokulara yerleşmekte ve biyofilm oluşturduğu bilinmektedir (Zhang vd., 2023b).

QS sinyal molekülleri (AHL'ler ve AI-2) balık, kümes hayvanları, et ve sebze dahil olmak üzere çok çeşitli gıdalarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte, gıda bozulma mekanizmasına katkılarının açıklığa kavuşturulması için QS'in mikrobiyel bozulma ile ilişkisine ilişkin geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır (Blana ve Nychas, 2014). *P. aeruginosa*'nın QS sistemi ve ilgili virülans faktörlerin, insan kaynaklı izolatlarda kapsamlı bir şekilde incelendiği görülürken gıda kaynaklı pseudomonadlarla ilgili yeterli bilimsel veri olmadığı görülmektedir.

QS araştırmalarının gıdalar ile ilişkisinin temel noktası, mikrobiyel olarak QS mekanizmasının işleyişini belirlemek olup, bu sistemi engelleme ya da mekanizmanın işleyişini bozma gibi işlemler ile mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasına olanak sağlanmasıdır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalarda hücrelerarası iletişimin engellenmesi ile ilgili mekanizmalar "Quorum Quenching" (QQ) olarak adlandırılmaktadır (Gülgör ve Korukluoğlu, 2014). QQ, patojenlerin önlenmesi ve kontrolü için çok önemli olan QS sistemini yok ederek patojenlerin patojenisitesini azaltmaktadır. Bu strateji patojenleri öldürmeden virülansı azaltarak, patojenler üzerindeki baskıyı zayıflatmakta ve QQ aracılı antibiyotik direnç gelişimini geciktirmekte ya da azaltmaktadır (Zhang vd., 2020). Bu nedenle bakteriyel QS sistemini küçük moleküllerle kesintiye uğratmak, patojeniteyi ve biyofilm oluşumunu önlemek için umut verici bir stratejidir



(Ma vd., 2021). Ancak bunların gıda sistemi ve prosesindeki sınırlı uygulamaları, yeni ve doğal QS inhibitörlerinin keşfedilmesini gerektirmektedir.

Bakterilerde hücreler arası iletişimin gıda bozulması ve gıda güvenliğindeki potansiyel rolünün kapsamlı bir şekilde araştırılarak açıklanması gereklidir. Elde edilecek bilgilerin, iletişim sistemlerini manipüle etmek için yeni yaklaşımların tasarlanmasına yardımcı olarak bozulma reaksiyonlarını azaltmayı veya tamamen önlemeyi sağlayacağı düşünülmektedir. Yine Pseudomonadların QS aracılı virülansının altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması, bu bakterilerin bozulma yapma potansiyelinin tam olarak aydınlatılmasına da yardımcı olacaktır.

## SONUÇ

Gıda ortamı, bozulma süreçlerine önemli ölçüde katkıda bulunan *Pseudomonas* türlerinin en sık görülen kaynağıdır (Ercolini vd., 2010). Özellikle soğutulmuş etlerin bozulmasında, kötü koku ve tatlardan, renk bozulmasından, gaz ve mukus üretiminden sorumlu bakteriler arasında *Pseudomonas* türleri öne çıkmaktadır (Oussalah vd., 2005). Düşük sıcaklıklarda metabolik süreçlerini devam ettirme yeteneği olan pseudomonadların, etleri bozma sürecinin temelini anlamak bu nedenle çok önemlidir (Wickramasinghe vd., 2019a).

Gıdalarda *Pseudomonas* hücre sayısı,  $10^7$  ila  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup>'ye ulaştığında kötü kokular oluştuğu tespit edilirken,  $10^8$  kob/cm<sup>2</sup> ve daha yüksek seviyelerde de mukus oluşumuna rastlanmaktadır. Psikrotrofik pseudomonadlar güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizmalardır. Ürettikleri biyofilmin bozulma sürecinde ve davranışında anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (Wickramasinghe vd., 2019a). Bunun yanında bazı türlerinin lipaz ve proteaz enzimleri üretebilme yeteneğine sahip olması, pseudomonadların ette hızlı bir şekilde kolonize olmasını ve etin bozulmasını sağlamaktadır (Pellissery vd., 2020). Yine yapılan birçok çalışma pseudomonadların sahip olduğu QS sisteminin mikrobiyel bozulmada önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (Schuster ve Greenberg, 2006;

Fuqua vd., 2001; Blana ve Nychas, 2014; İnat vd., 2021).

Taze etin *Pseudomonas* çeşitliliği üzerinde yapılan çalışmalar, aynı türün farklı suşlarının, aynı gıda matrisi ve saklama koşullarında farklı davranabileceğini göstermiştir (Stellato vd., 2017). Hem taze ve hem de bozulmuş etlerde çok sık bulunan ve et ortamının mikrobiyel ekolojisinde baskın olan dört *Pseudomonas* türünün (*P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. lundensis*) olduğu ortaya konulmuştur (Liao, 2006). Özellikle *P. fragi*'nin et için ekolojik bir niş olabileceği düşünülmektedir. Genel olarak, paketlenme koşullarına bakılmaksızın çiğ etin aerobik olarak depolanması sırasında baskın olarak *P. fragi*'nin yanında diğer *Pseudomonas* türlerine de rastlanmaktadır (Doulgeraki vd., 2012). *P. lundensis* ise *P. fragi*'den sonra ette bozulmaya sebebiyet veren dominant *Pseudomonas* türlerinden biridir. *P. fluorescens* suşlarının, aerobik ve soğutma sıcaklığında depolanan taze ürünlerin bozulmasının başlıca nedeni olduğu belirtilmektedir (Liao, 2006; Liu vd., 2015). Gıda temas yüzeylerinde biyofilm oluşturma yeteneğine sahip *Pseudomonas*'ların ürettiği biyofilm dezenfektanlara direnç gösterme, sürekli bir çapraz bulaşma noktası oluşturmakta olup, bu durum et ve et ürünlerinin bozulmasına yol açabilmektedir (Mohammed vd., 2023). Bu nedenlerle ette *Pseudomonas* çeşitliliğinin, ekolojisinin ve bu türlerin bozucu özelliklerinin incelenmesi, bozulma dinamiklerinin iyi anlaşılması açısından son derece önemli olmakla birlikte bu bakterilerin biyokontrol etki mekanizmalarının anlaşılması, verimli ve başarılı biyokontrol stratejileri geliştirmek için önemlidir (Raza vd., 2016). Gıdaların bozulma sürecinde QS'nin önemli bir yere sahip olması bakteriyel iletişimi araştırmayı önemli bir konu haline getirmektedir (Bai ve Vittal, 2014). Bozulmaya neden olan bakterilerde QS sinyalinin engellenmesi, bozulma faktörlerinin ekspresyonunu ve biyofilm oluşumunu önleyerek gıdaların raf ömrünün uzatılabileceği ön görülmektedir (Salman vd., 2023). Hücreden hücreye iletişimin gıda bozulması ve gıda güvenliğindeki potansiyel rolünün kapsamlı bir şekilde açıklanması ve bu bilgilerin, iletişim sistemlerini manipüle etmek için yaklaşımların

tasarlanması ile bozulma reaksiyonlarını azaltmayı veya önlemeyi sağlayacağı düşünülmektedir.

Ette mikrobiyel gelişim ile ilgili mevcut çalışmaların genellikle az sayıda mikroorganizma türüne yoğunlaştığı görülmektedir. Aynı türün farklı suşları dahil olmak üzere, ette gelişen *Pseudomonas* çeşitliliği, bozulma yapma faaliyetleri ve türler arası iletişim sistemi hakkında yapılacak çalışmalar, uygun depolama koşulları sağlanarak kontaminasyonun önlenmesi sonucunda etin raf ömrünün uzatılabilmesine olanak verecek ve mikrobiyel faaliyetleri engellemek için tür ve suşların daha iyi tanınmasını sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

- Annous, B. A., Fratamico, P. M., Smith, J. L. (2009). Scientific Status Summary. *Journal of Food Science*, 74(1), R24–R37. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.01022.x>
- Anonim, (2012). Etymologia: *Pseudomonas*. *Emerg Infect Dis*. 2012 Aug; 18(8): 1241. doi: 10.3201/eid1808.ET1808
- Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., de Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., de Zutter, L., van Hoof, J. (1999). A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat. *Journal of Applied Microbiology*, 87(1), 15–28. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00785.x>
- Bai, A. J., Rai, V. R. (2011). Bacterial Quorum Sensing and Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 183–193. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00150.x>
- Bassler, B., Greenberg, E. P., Stevens, A. M. (1997). Cross-Species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium vibrio Harveyi. *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*, 179(12), 4043–4045. <https://journals.asm.org/journal/jb>
- Bertani, I., Venturi, V. (2004). Regulation of the N -Acyl Homoserine Lactone-Dependent Quorum-Sensing System in Rhizosphere *Pseudomonas putida* WCS358 and Cross-Talk with the Stationary-Phase RpoS Sigma Factor and the Global Regulator GacA. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), 5493–5502. <https://doi.org/10.1128/aem.70.9.5493-5502.2004>
- Biohaz (2016). Growth of spoilage bacteria during storage and transport of meat. *EFSA Journal*, 14(6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4523>
- Blana, V. A., Nychas, G. J. E. (2014). Presence of quorum sensing signal molecules in minced beef stored under various temperature and packaging conditions. *International journal of food microbiology*, 173, 1-8.
- Carpentier, B. (2009). Biofilms in red meat processing. *Biofilms in the Food and Beverage Industries*, 375–395. <https://doi.org/10.1533/9781845697167.4.375>
- Cauchie, E., Delhalle, L., Taminiau, B., Tahiri, A., Korsak, N., Burteau, S., Fall, P. A., Farnir, F., Baré, G., Daube, G. (2020). Assessment of spoilage bacterial communities in food wrap and modified atmospheres-packed minced pork meat samples by 16S rdna metagenetic analysis. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03074>
- Chen, C. C., Riadi, L., Suh, S. J., Ohman, D. E., Ju, L. K. (2005). Degradation and synthesis kinetics of quorum-sensing autoinducer in *Pseudomonas aeruginosa* cultivation. *Journal of Biotechnology*, 117(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.01.003>
- Chen, X., Yu, F., Li, Y., Lou, Z., Toure, S. L., Wang, H. (2020). The inhibitory activity of p-coumaric acid on quorum sensing and its enhancement effect on meat preservation. *Cytajournal of Food*, 18(1), 61–67. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1701558>
- Dai, J., Li-Min, F., Wu, Y., Liu, B., Cheng, X., Yao, M., Huang, L. (2022). Effects of exogenous AHLs on the spoilage characteristics of *Pseudomonas koreensis* PS1. *Journal of Food Science*, 87(2), 819–832. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16038>
- Diggel, S. P., Matthijs, S., Wright, V. J., Fletcher, M. P., Chhabra, S. R., Lamont, I. L., Kong, X., Hider, R. C., Cornelis, P., Cámara, M., Williams, P. (2007). The *Pseudomonas aeruginosa* 4-Quinolone Signal Molecules HHQ and PQS Play

- Multifunctional Roles in Quorum Sensing and Iron Entrapment. *Chemistry Biology*, 14(1), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.11.014>
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020>
- Duan, K., Dammel, C., Stein, J., Rabin, H. and Surette, M.G. (2003), Modulation of *Pseudomonas aeruginosa* gene expression by host microflora through interspecies communication. *Molecular Microbiology*, 50: 1477-1491.
- Duman, M., Mulet, M., Saticiöglü, İ. B., Altun, S., Gomila, M., Lalucat, J., Garca-Valdes, E. (2020). *Pseudomonas sivasensis* sp. nov. isolated from farm fisheries in Turkey. *Systematic and Applied Microbiology*, 43(4), 126103. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2020.126103>
- Ercolini, D., Casaburi, A., Nasi, A., Ferrocino, I., di Monaco, R., Ferranti, P., Mauriello, G., Villani, F. (2010). Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1–2), 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.012>
- Ercolini, Danilo, et al., 2007. Simultaneous Detection of *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, and *P. putida* from Meat by Use of a Multiplex PCR Assay Targeting the *carA* Gene.” *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no. 7, 2007, pp. 2354–59. *Crossref*, <https://doi.org/10.1128/aem.02603-06>.
- Ferrocino, I., Ercolini, D., Villani, F., Moorhead, S. M., Griffiths, M. W. (2009). *Pseudomonas fragi* Strains Isolated from Meat Do Not Produce N-Acyl Homoserine Lactones as Signal Molecules. *Journal of Food Protection*, 72(12), 2597–2601. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.12.2597>
- Fuqua, C., Parsek, M. R., Greenberg, E. P. (2001). Regulation of Gene Expression by Cell-to-Cell Communication: Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing. *Annual Review of Genetics*, 35(1), 439–468. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.090913>
- Gill, A., Greer, G., Nattress, F. (2014). MICROBIOLOGICAL ANALYSIS | Standard Methods. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 306–316. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384731-7.00064-7>
- Girard, L., Lood, C., Rokni-Zadeh, H., Van Noort, V., Lavigne, R., De Mot, R. (2020). Reliable identification of environmental *Pseudomonas* isolates using the RPOD gene. *Microorganisms*, 8(8), 1166. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081166>
- Glessner, A., Smith, R. S., Iglewski, B. H., Robinson, J. B. (1999). Roles of *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* Quorum-Sensing Systems in Control of Twitching Motility. *Journal of Bacteriology*, 181(5), 1623–1629. <https://doi.org/10.1128/jb.181.5.1623-1629.1999>
- Gülgör, G., Korukluoğlu, M. (2014). Mikroorganizmalar Arasında oğunluk Algılanması (Quorum Sensing) U. U. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2014, Cilt 28, Sayı 2, 83-92
- Hofmann, K., Huptas, C., Doll, E. V., Scherer, S., Wenning, M. (2019). *Pseudomonas saxonica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(2), 935–943. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003851>
- Hossain, Z. (2014). Bacteria: *Pseudomonas*. *Encyclopedia of Food Safety*, 490–500. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-378612-8.00109-8>
- Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., Cenci-Goga, B. T. (2015). Meat Spoilage: A Critical Review of a Neglected Alteration Due to Ropy Slime Producing Bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, 14(3), 4011. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4011>
- nat, G., Sırken, B., Başkan, C., Erol, R., Yıldırım, T., iftci, A. (2021). Quorum sensing systems and related virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken meat and ground beef. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94906-x>

- Kolbeck, S., Abele, M., Hilgarth, M., Vogel, R. F. (2021). Comparative Proteomics Reveals the Anaerobic Lifestyle of Meat-Spoiling *Pseudomonas* Species. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664061>
- Laue, B. E., Y. Jiang, S. R. Chhabra, S. Jacob, G. S. A. B. Stewart, A. Hardman, J. A. Downie, F. O’Gara, and P. Williams. 2000. The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, N-(3-hydroxy-7-*cis*-tetradecenoyl)homoserine lactone, via HtdS, a putative novel N-acylhomoserine lactone synthase. *Microbiology* 146:2469–2480.
- Li H, Li X, Song C, Zhang Y, Wang Z, Liu Z, Wei H and Yu J (2017) Autoinducer-2 Facilitates *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Pathogenicity in Vitro and in Vivo. *Front. Microbiol.* 8:1944.
- Li, J., Zhao, X. (2020). Effects of quorum sensing on the biofilm formation and viable but non-culturable state. *Food Research International*, 137, 109742. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109742>
- Li, T., Wang, D., Ren, L., Mei, Y., Ding, T., Li, Q., Chen, H., Li, J. (2019). Involvement of Exogenous N-Acyl-Homoserine Lactones in Spoilage Potential of *Pseudomonas fluorescens* Isolated From Refrigerated Turbot. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02716>
- Liao, C. (2006). *Pseudomonas* and related genera. *Food Spoilage Microorganisms*, 507–540. <https://doi.org/10.1533/9781845691417.5.507>
- Lick, S., Kröckel, L., Wibberg, D., Winkler, A., Blom, J., Goesmann, A., Kalinowski, J. (2020). *Pseudomonas bubulae* sp. nov., isolated from beef. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 292–301. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003751>
- Liu, F., Guo, Y., Li, Y. (2006). Interactions of microorganisms during natural spoilage of pork at 5°C. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.11.015>
- Liu, M., Wang, H., Griffiths, M. W. (2007). Regulation of alkaline metalloprotease promoter by N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2174–2184. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03488.x>
- Liu, Y. J., Xie, J., Zhao, L. J., Qian, Y. F., Zhao, Y., Liu, X. (2015). Biofilm Formation Characteristics of *Pseudomonas lundensis* Isolated from Meat. *Journal of Food Science*, 80(12), M2904–M2910. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13142>
- López-Sánchez, A., Leal-Morales, A., Jiménez-Díaz, L., Platero, A. I., Bardallo-Pérez, J., Díaz-Romero, A., Acemel, R. D., Illán, J. M., Jiménez-López, J., Govantes, F. (2016). Biofilm formation-defective mutants in *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiology Letters*, 363(13), fnw127. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw127>
- Ma, Y., Shi, Q., He, Q., Gu, C. (2021). Metabolomic insights into the inhibition mechanism of methyl N-methylanthranilate: A novel quorum sensing inhibitor and antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Food Microbiology*, 358, 109402. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109402>
- Mayansky, A. N., Chebotar, I. V., Rudneva, E. I., Chistyakova, V. P. (2012). *Pseudomonas aeruginosa*: Characteristics of the biofilm process. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 27(1), 1–6. <https://doi.org/10.3103/s0891416812010053>
- Mellor, G. E., Bentley, J. A., Dykes, G. A. (2011). Evidence for a role of biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* in the spoilage of fresh aerobically stored chicken meat. *Food Microbiology*, 28(5), 1101–1104. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.003>
- Mohammed, M. H., Farghaly, R. M., Abdel-Aziz, N. M. (2023). The effect of some essential oils against biofilm producing *Pseudomonas aeruginosa* of meat sources. *SVU- International Journal of Veterinary Sciences*, 6(1), 100–115. <https://doi.org/10.21608/svu.2023.174609.1239>
- Mohan, C. C., Harini, K., Sudharsan, K., Krishnan, K. R., Sarojadevi, M. (2019). Quorum quenching effect and kinetics of active compound from *S. aromaticum* and *C. cassia* fused packaging

- films in shelf life of chicken meat. *LWT*, 105, 87–102. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.061>
- Monnet, V., Juillard, V., Gardan, R., 2016. Peptide conversations in gram positive bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.* 42, 339–351.
- Morimatsu, K., Eguchi, K., Hamanaka, D., Tanaka, F., Uchino, T. (2012). Effects of Temperature and Nutrient Conditions on Biofilm Formation of *Pseudomonas putida*. *Food Science and Technology Research*, 18(6), 879–883. <https://doi.org/10.3136/fstr.18.879>
- Nethra, P. V., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Navaf, M., Akhila, P. P., Sudheesh, C., Mir, S. A., Shijin, A., George, J. (2023). Critical factors affecting the shelf life of packaged fresh red meat- A review. *Measurement: Food*, 10, 100086. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.meaf.2023.100086>
- Osman, K., Orabi, A., Elbehiry, A., Hanafy, M. H., Ali, A. M. (2019). *Pseudomonas* species isolated from camel meat: quorum sensing-dependent virulence, biofilm formation and antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 14(7), 609–622. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0293>
- Oussalah, Mounia, et al. “Antimicrobial Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth of a *Pseudomonas Putida* Strain Isolated from Meat.” *Meat Science*, vol. 73, no. 2, 2006, pp. 236–44. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.11.019>.
- Pang, X., Yuk, H. G. (2019). Effects of the colonization sequence of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on survival of biofilm cells under food-related stresses and transfer to salmon. *Food Microbiology*, 82, 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.02.002>
- Papadopoulou, O. S., Iliopoulos, V., Mallouchos, A., Panagou, E. Z., Chorianopoulos, N., Tassou, C. C., Nychas, G. J. E. (2020). Spoilage Potential of *Pseudomonas* (*P. fragi*, *P. putida*) and LAB (*Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus sakei*) Strains and Their Volatilome Profile during Storage of Sterile Pork Meat Using GC/MS and Data Analytics. *Foods*, 9(5), 633. <https://doi.org/10.3390/foods9050633>
- Pellissery, A. J., Vinayamohan, P. G., Amalaradjou, M. A. R., Venkitanarayanan, K. (2020). Spoilage bacteria and meat quality. *Meat Quality Analysis*, 307–334. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819233-7.00017-3>
- Pena, R. T., Blasco, L., Ambroa, A., González-Pedrajo, B., Fernández-García, L., López, M., Bleriot, I., Bou, G., García-Contreras, R., Wood, T. K., Tomás, M. (2019). Relationship Between Quorum Sensing and Secretion Systems. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01100>
- Pereira, Catarina S., et al. “AI-2-Mediated Signalling in Bacteria.” *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 37, no. 2, 2013, pp. 156–81. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00345.x>.
- Piette, J. P., Idziak, E. S. (1991). Role of flagella in adhesion of *Pseudomonas fluorescens* to tendon slices. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(6), 1635–1639. <https://doi.org/10.1128/aem.57.6.1635-1639.1991>
- Poursina, S., Ahmadi, M., Fazeli, F., Ariaii, P. (2022). Assessment of virulence factors and antimicrobial resistance among the *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from animal meat and carcass samples. *Veterinary Medicine and Science*, 9(1), 315–325. <https://doi.org/10.1002/vms3.1007>
- Quintieri, L., Caputo, L., Brasca, M., Fanelli, F. (2021). Recent Advances in the Mechanisms and Regulation of QS in Dairy Spoilage by *Pseudomonas* spp. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(12), 3088.
- Rather, M. A., Saha, D., Bhuyan, S., Jha, A. N., Mandal, M. (2022). Quorum Quenching: A Drug Discovery Approach Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 264, 127173. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127173>
- Raza, W., Ling, N., Liu, D., Wei, Z., Huang, Q., Shen, Q. (2016). Volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiological Research*, 192, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.05.014>

- Sala, C., Morar, A., Colibar, O., Morvay, A. (2012). Antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from meat surface biofilm. *Rom. Biotechnol. Lett.* 17 (4), 7483-7492
- Salman, M. K., Abuqwider, J., Mauriello, G. (2023). Anti-Quorum sensing activity of probiotics: The mechanism and role in food and gut health. *Microorganisms*, 11(3), 793. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030793>
- Schuster, M., Peter Greenberg, E. (2006). A network of networks: Quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 73-81.
- Shao, L., Chen, S., Wang, H., Zhang, J., Xu, X., Wang, H. (2021). Advances in understanding the predominance, phenotypes, and mechanisms of bacteria related to meat spoilage. *Trends in Food Science and Technology*, 118, 822-832. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.007>
- Sharma, G., Rao, S., Bansal, A., Dang, S., Gupta, S., Gabrani, R. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: Potential therapeutic targets. *Biologicals*, 42(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2013.11.001>
- Shirazi, J., Ain, Q., Khan, S., Jalil, A., Siddiqui, M. F., Ahmad, T., Badshah, M., Adnan, F. (2022). Targeting Acyl Homoserine Lactones (AHLs) by the quorum quenching bacterial strains to control biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1673-1682. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.064>
- Smith, R. S., Iglewski, B. H. (2003). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *Journal of Clinical Investigation*, 112(10), 1460-1465. <https://doi.org/10.1172/jci200320364>
- Spyrelli, E. D., Özcan, O., Mohareb, F., Panagou, E. Z., Nychas, G. (2021). Spoilage assessment of chicken breast fillets by means of fourier transform infrared spectroscopy and multispectral image analysis. *Current Research in Food Science*, 4, 121-131. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.02.007>
- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S. M., Singh, T., Tamplin, M., Chandry, P. S. (2018). Genomic and metabolic characterization of spoilage-associated *Pseudomonas* species. *International Journal of Food Microbiology*, 268, 61-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.005>
- Stellato, G., Utter, D. R., Voorhis, A., de Angelis, M., Eren, A. M., Ercolini, D. (2017). A Few *Pseudomonas* Oligotypes Dominate in the Meat and Dairy Processing Environment. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00264>
- Tchagang, C. F., Xu, R., Overy, D., Blackwell, B., Chabot, D., Hubbard, K., Doumbou, C. L., Bromfield, E. S. P., Tambong, J. T. (2018). Diversity of bacteria associated with corn roots inoculated with Canadian woodland soils, and description of *Pseudomonas aylmerense* sp. nov. *Heliyon*, 4(8), 1-25.
- Venturi, V. (2006). Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), 274-291. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2005.00012.x>
- Wagner, E. M., Fischel, K., Rammer, N., Beer, C., Palmethofer, A. L., Conrady, B., Roch, F. F., Hanson, B. T., Wagner, M., Rychli, K. (2021). Bacteria of eleven different species isolated from biofilms in a meat processing environment have diverse biofilm forming abilities. *International Journal of Food Microbiology*, 349, 109232. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109232>
- Wang, G. Y., Wang, H. H., Han, Y. W., Xing, T., Ye, K. P., Xu, X. L., Zhou, G. H. (2017). Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from chilled chicken in vitro and in situ. *Food Microbiology*, 63, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.015>
- Wang, Xin-Yun, and Jing Xie. "Quorum Sensing System-Regulated Proteins Affect the Spoilage Potential of Co-Cultured *Acinetobacter Johnsonii* and *Pseudomonas Fluorescens* From Spoiled Bigeye Tuna (*Thunnus Obesus*) as Determined by Proteomic Analysis." *Frontiers in Microbiology*, vol.

- 11, 2021. *Crossref*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00940>.
- Wang, Xin-Yun, ve Jing Xie. "Quorum Sensing System-Regulated Proteins Affect the Spoilage Potential of Co-Cultured *Acinetobacter Johnsonii* and *Pseudomonas Fluorescens* From Spoiled Bigeye Tuna (*Thunnus Obesus*) as Determined by Proteomic Analysis." *Frontiers in Microbiology*, vol. 11, 2020. *Crossref*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00940>.
- Wang, Y., Gao, L., Rao, X., Wang, J., Yu, H., Jiang, J., Zhou, W., Wang, J., Xiao, Y., Li, M., Zhang, Y., Zhang, K., Shen, L., Hua, Z. (2018). Characterization of lasR-deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30813-y>
- Wen, X., Zhang, D., Li, X., Ding, T., Liang, C., Zheng, X., Yang, W., Hou, C. (2022). Dynamic changes of bacteria and screening of potential spoilage markers of lamb in aerobic and vacuum packaging. *Food Microbiology*, 104, 103996. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.103996>
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J. T., Coorey, R., Dykes, G. A., Chandry, P. S. (2021). Transcriptional profiling of biofilms formed on chilled beef by psychrotrophic meat spoilage bacterium, *Pseudomonas fragi* 1793. *Biofilm*, 3, 100045. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100045>
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J. T., Coorey, R., Dykes, G. A., Scott Chandry, P. (2019a). In situ characterisation of biofilms formed by psychrotrophic meat spoilage pseudomonads. *Biofouling*, 35(8), 840-855.
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J., Coorey, R., Chandry, S. P., Dykes, G. A. (2019b). The Predominance of Psychrotrophic Pseudomonads on Aerobically Stored Chilled Red Meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1622–1635. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12483>
- Yi, L., Su, G., Hu, G., Peng, Q. (2016). Diversity study of microbial community in bacon using metagenomic analysis. *Journal of Food Safety*, 37(3), e12334. <https://doi.org/10.1111/jfs.12334>
- Yin, L., Zhang, Y., Azi, F., Zhou, J., Liu, X., Dai, Y., Wang, Z., Dong, M., Xia, X. (2022). Inhibition of biofilm formation and quorum sensing by soy isoflavones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Control*, 133, 108629. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108629>
- Zhang, L., Li, S., Liu, X., Wang, Z., Jiang, M., Wang, R., ... Shen, X. (2020). Sensing of autoinducer-2 by functionally distinct receptors in prokaryotes. *Nature communications*, 11(1), 1-13.
- Zhang, W., Mi, X., Zhang, C., Yu, C., Wang, S., Ji, J., Yuan, Y., Wang, L., Liu, W., Jiang, Y. (2023a). Meat-derived *Escherichia coli* and *Pseudomonas fragi* manage to co-exist in dual-species biofilms by adjusting gene-regulated competitive strength. *Food Microbiology*, 109, 104122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104122>
- Zhang, Y., Wu, Q., Forsythe, S. J., Liu, C., Chen, N., Li, Y., Zhang, J., Wang, J., Ding, Y. (2023b). The cascade regulation of small RNA and quorum sensing system: Focusing on biofilm formation of foodborne pathogens in food industry. *Food Bioscience*, 52, 102472. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102472>
- Zhao A, Zhu J, Ye X, Ge Y, Li J. Inhibition of biofilm development and spoilage potential of *Shewanella baltica* by quorum sensing signal in cell-free supernatant from *Pseudomonas fluorescens*. *Int J Food Microbiol*. 2016;230:73-80.





**PREVENTING OF MIGRATION IN FOOD CONTACT POLYVINYL  
CHLORIDE-BASED STRETCH FILMS WITH POLYLACTIC ACID LAYER**

**Adnan Fatih DAĞDELEN\*, Fatma Tuba KIRAÇ DEMİREL,  
Furkan Türker SARICAOĞLU**

Bursa Technical University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Food Engineering,  
Bursa, Türkiye

Received Geliş: 16.10.2023; Accepted/Kabul: 09.07.2024; Published online/Online baskı: 18.07.2024

*Dağdelen, A. F., Kırac Demirel, F. T., Sarıcaoğlu, F. T. (2024). Preventing of migration in food contact polyvinyl chloride-based stretch films with polylactic acid layer. GIDA (2024) 49 (4) 624-640 doi: 10.15237/ gida.GD23131*

Dağdelen, A. F., Kırac Demirel, F. T., Sarıcaoğlu, F. T. (2024). Gıda ile temas eden polivinil klorür bazlı streç filmlerdeki migrasyonun polilaktik asit katmanı ile engellenmesi. GIDA (2024) 49 (4) 624-640 doi: 10.15237/ gida.GD23131

**ABSTRACT**

In this study, the effectiveness of biodegradable polylactic acid (PLA) coatings for the prevention of residues migrating through polyvinyl chloride (PVC) films was investigated. PLA films prepared in chloroform at concentrations of 5, 10, 15 and 20 wt% were heat sealed to PVC film surfaces in a hot press (130 °C, 5 min, 5 tons). Physical, mechanical, FTIR and migration analyses were performed on these two-layer films. With PLA coating, the thickness of the films increased, mechanical properties decreased and some changes in color values occurred. It was determined by FTIR that there was no structural change on both surfaces of the films as a result of hot pressing. From the overall migration analysis, no migration was observed in the tests with aqueous food simulants, while migration was detected in fatty food simulants. In the specific migration analysis by GC-MS, di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) migration decreased by 50% with PLA coating. It is concluded that PLA coating of PVC stretch films may be a promising application to reduce migration.

**Keywords:** PVC, PLA, film, coating, migration, functional barrier

**GIDA İLE TEMAS EDEN POLİVİNİL KLORÜR BAZLI STREÇ FİMLERDEKİ  
MİGRASYONUN POLİLAKTİK ASİT KATMANI İLE ENGELLENMESİ**

**ÖZ**

Bu çalışmada, Polivinil klorür (PVC) filmlerden geçen kalıntıların engellenmesi için biyobozunur polilaktik asit (PLA) kaplamaların etkinlikleri araştırılmıştır. Kloroform içerisinde ağırlıkça %5, 10, 15 ve 20 konsantrasyonlarda hazırlanan PLA filmler, sıcak preste (130 °C, 5 dk., 5 t) PVC film yüzeylerine ısı olarak yapıştırılmıştır. Hazırlanan bu iki katlı filmlerde fiziksel, mekanik, FTIR ve migrasyon analizleri gerçekleştirilmiştir. PLA kaplama ile birlikte filmlerin kalınlıkları artmış, mekanik özellikleri azalmış ve renk değerlerinde bazı değişiklikler meydana gelmiştir. Sıcak pres sonucu filmlerin her iki yüzeyinde de yapısal bir değişiklik olmadığı FTIR ile tespit edilmiştir. Toplam migrasyon

\* *Corresponding author/ Sorumlu yazar*

✉: adnan.dagdelen@btu.edu.tr

☎: (+90) 224 300 3783

Adnan Fatih Dağdelen; ORCID ID: 0000-0002-6777-273X

Fatma Tuba Kırac Demirel; ORCID ID: 0000-0002-1730-7688

Furkan Türker Sarıcaoğlu; ORCID ID: 0000-0003-1173-5793

analizlerinden sulu gıda benzerlerini ile yapılan testlerde migrasyon gözlenmezken, yağlı gıda benzerlerinde migrasyon tespit edilmiştir. GC-MS ile yapılan spesifik migrasyon analizinde ise di-2-etilhekzil ftalat (DEHP) migrasyonu PLA kaplama ile birlikte %50 oranında azalmıştır. PVC streç filmlerin PLA ile kaplanması migrasyonu azaltmak için umut verici bir uygulama olabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** PVC, PLA, film, kaplama, migrasyon, fonksiyonel bariyer

### INTRODUCTION

Ensuring the safety of food contact materials, determining the effect on food quality/safety, and identifying the health risks arising from these materials are extremely important in terms of protecting consumer rights. However, some substances in the composition of these materials can pass into foods (migration) and reach levels that are harmful to human health (Üçüncü, 2007; Arvanitoyannis and Kotsanopoulos, 2014; Brunazzi et al., 2014; Castle, 2017; Cruz et al., 2018; Hahladakisa et al., 2018). Plastic materials are widely consumed in many sectors, especially packaging, due to their technological advantages. However, the use of many additives in the production of these materials and their reuse/recycling may cause some undesirable residues to pass into the food (Tice, 2003; Ackerman et al., 2009; Saçak, 2010; Piergiovanni and Limbo, 2016; Castle, 2017; Cruz et al., 2018; Hahladakisa et al., 2018; Baur et al., 2019; Groh et al., 2019).

Polyvinyl chloride (PVC) is used in some areas that come into contact with food, including stretch films, lid seals and tin can lacquers. In addition, it is a type of plastic that contains the most additives such as stabilizers, modifiers, plasticizers, lubricants, colorants, and emulsifiers (Howick et al., 2005; Bradley and Coulier, 2007; FSA, 2007; Üçüncü, 2007; Hanušová et al., 2013; Brunazzi et al., 2014; Piergiovanni and Limbo, 2016; Petersen and Jensen, 2016; Villanueva et al., 2016). Due to the hydrophobic surface structure of PVC materials, no migration is observed in contact with aqueous foods, while migration values may occur above legal limits in contact with fatty foods. Plastic food stretch films are packaging materials used for the short-term preservation of perishable foods such as fresh meats, vegetables, and fruits. It is widely used in markets and homes due to its advantages such as its flexibility, tear, puncture-resistant structure,

transparency, and low price. Films that provide these features are in the market based on PVC or polyethylene (PE). PVC-based films have some mechanical and price advantages compared to PE-based films. However, inconvenient migration may occur in contact with PVC films with food. The level of migration varies depending on some parameters, such as the properties of the food (fatty, aqueous, acidic, dry), the type and amount of additives in the composition of the films, the contact time and temperature (Coltro et al., 2014). There are many studies on the migration of some residues from PVC-based materials to food. Phthalate derivatives have an important place among these residues. In addition, many of them have been banned or their usage levels have been limited due to their adverse health effects (López-Cervantes and Paseiro-Losada, 2003; Coltro et al., 2013; Li et al., 2015; Petersen and Jensen, 2016; Bernard et al., 2017; Raciis et al., 2017).

Biodegradable polymer systems represent an alternative to improve new eco-friendly systems that can reduce the amount of waste concerning petroleum-based polymers. Support to traditional green-based polymer systems can reduce greenhouse gas emissions. Polylactic acid (PLA), the most widely used among biopolymers, is a biodegradable plastic produced by lactic acid polymerization obtained by fermentation of sugar in sources with rich polysaccharide content (such as corn, wheat, and molasses). It is a bioplastic that can be easily used in traditional thermoplastic lines and whose thermal and mechanical properties are similar to those of many synthetic polymers such as polyethylene terephthalate (PET) and polystyrene (PS). In addition, it can be used in processes such as film, bottle, container, and lamination due to its advantages such as low temperature adhesion, strong sealing properties, and printing capability (Üçüncü, 2007;

Niaounakis, 2015; Scarfato et al., 2017; Baur et al., 2019; Ilyas et al., 2020).

Various methods can be used to prevent the migration of substances from plastics to food. Examples of these are coated or lamination of the surface, crosslinking on the surface, changes in the hydrophilic/lipophilic properties of the surface and covalent bonding of additives (Messori et al. 2004; Ito et al., 2005; McGinty and Brittain, 2008; Reddy et al., 2009; Wen et al., 2010; Xiong et al., 2016; Raesi et al., 2017;). In this study, it is aimed to use PLA layer, a biodegradable polymer suitable for food contact, to reduce the migration of PVC stretch films. Although different applications have been used to reduce migration in previous studies, there is no research on the use of a biodegradable layer for this purpose. Therefore, this study aims to examine the effect of the PLA layer in reducing the migration of PVC stretch films. This research may offer a new approach to reducing migration in food packaging and contribute to more sustainable packaging options.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

The PVC stretch film, which is produced for food contact (50 cm x 30 m) and PLA pellets (PLA, L175, low viscosity resin suitable for film extrusion) to be used in the study were obtained from a local supplier. Chloroform, glycerol, ethanol, isooctane, and glacial acetic acid were obtained from Merck (Darmstadt, Germany) in analytical grade.

### Preparation of films

PLA pellets were dried in an oven (Memmert, UN55, Germany) at 40 °C for 24 h before the preparation of PLA films. PLA solutions at 5, 10, and 20 % (w/v) are prepared by dissolving PLA pellets in 100 mL of chloroform on a magnetic stirrer (Daihan, MSH-20D, South Korea) for 6 h. Glycerol at 50 % (w/w) was added as a plasticizer based on PLA content. The solutions were poured on the glass plates (40 x 40 cm) and adjusted to a constant thickness with a drum bar at 0.88 mm and left to dry at room temperature for 1 night. The drum bar thickness was set to

0.88 mm (determined by a preliminary experiments) for all PLA solutions so that the dried films could be peeled off the surface without tearing. To obtain double-layer films, PVC film and the varied concentration PLA layers were placed and compressed at 130 °C for 5 min at a pressure of 5 tons between the heated plates (30 x 30 cm) of the hot press (Carver 12 Manual Heated Press, USA) and followed cooling. The productions were carried out on the same day for each formula in quantities sufficient for the analyses. Four kinds of films were obtained: PVC stretch film (PVC), as a control, and other bilayer films (PVC+5%PLA, PVC+10%PLA, and PVC+20%PLA).

## Characterization

### *Thickness of films*

The thickness of the films was calculated by measuring from 15 different points using a digital micrometer (Mitutoyo, 293-IP-54, Japan) with  $\pm 0.003$  mm accuracy.

### *Mechanical properties*

Elongation at break (EAB), tensile strength (TS), puncture deformation (PD), and puncture force (PF) of the films were determined by Texture Analyzer (TA-HD Plus, Stable Micro Systems, UK). For EAB and TS analyses, 6 test specimens of certain sizes (20 x 50 mm) were prepared from films and kept in a desiccator at  $23 \pm 2$  °C with 50 %  $\pm 10$  humidity for 48 h. Then, the test specimens were tested with a drawing speed of 2 mm/s (ASTM, 2018).

For PF and PD analysis, 5 samples of 50 mm diameter were prepared from the films and kept in a desiccator at  $23 \pm 2$  °C with 50 %  $\pm 10$  humidity for 48 hours. The test specimens were tested with a speed of 0.2 mm/s of the spherical probe (diameter 10 mm) attached to the movable arm (ASTM, 2020).

## Color properties of films

### *Film color parameters*

(L\*, a\*, and b\*) were measured using a color spectrophotometer (Konica-Minolta, CR-400). The color was determined by the CIE system, in which L\*, a\*, and b\* represent lightness-darkness,

redness-greenness, and yellowness-blueness, respectively. Measurements were made at eight different locations of the films and placed on a reference white plate. Before measurement, the instrument was calibrated with a reference white plate ( $L^* = 94.63$ ,  $a^* = 0.38$ ,  $b^* = 0.34$ ). The total color difference ( $\Delta E^*$ ) was calculated according to the equation below (ASTM, 2022):

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

#### FTIR spectroscopy analysis

The bond structure analyses in films were performed with attenuated total reflection (ATR) equipment of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) (Spectrum Two, Perkin Elmer, USA). Measurements were taken on the PLA-coated surface in the wavelength range of 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  (ASTM, 2007). Three replicate tests were carried out on each film.

#### Migration analysis

The migration analyzes were applied in compliance with the requirements of EN 1186 and EN 13130 standards and the EU 10/2011 regulation, into contact with all types of foodstuffs and for long-term storage. Specimens of 100 x 100 mm ( $\pm 1$  mm) were prepared from the films. From these, test samples were prepared with a thermal sealing machine (Lavion, FS200, Turkey), with the PVC surfaces on the inside. These test samples with 1  $\text{dm}^2$  area and PLA outer surface were immersed in  $100 \pm 2$  mL food simulants. Test samples were removed from food simulants after being kept in the oven under test conditions (Mettmert, UN55, Germany).

Overall and specific migration analyzes were performed in food simulants. Food simulants and contact conditions used in analyzes; FS-A (10 % Ethanol), FS-B (3 % Acetic acid), FS-D<sub>21</sub> (95 % Ethanol), and FS-D<sub>22</sub> (Isooctane) were used as a food simulant. For FS-D<sub>22</sub> and other food simulants 2 days exposure at 20 °C and 10 days exposure at 40 °C respectively were used as a contact condition. Hydrophilic substances are extracted by hydrophilic food simulants A and B. Lipophilic substances are extracted by food simulants D<sub>21</sub> and D<sub>22</sub> that have lipophilic

characters. Three replicate tests were carried out on each film (CEN, 2002, 2004; EU, 2011).

#### Overall migration analysis

After these food simulants were evaporated in the weighing dishes, the constant weighing value was recorded. Expressed the overall migration as milligram residues per square decimeter of sample surface intended to come into contact with foodstuffs, calculated for each test specimen using the formula below (CEN, 2002):

$$X = ((ma - mb) \times 1000) / S \quad (2)$$

$X$ : is the overall migration into the food simulant, in milligrams per square decimeter of the surface area of the film sample ( $\text{mg}/\text{dm}^2$ )

$ma$ : is the mass of the residue from the film sample after evaporation of the food simulant (g)

$mb$ : is the mass of the residue from the blank food simulant (g)

$S$ : is the surface area of the film sample ( $\text{dm}^2$ )

#### Specific migration analysis

Due to the hydrophobic surface structure of PVC materials, no migration is observed in contact with aqueous foods, while migration values may occur above legal limits in contact with fatty foods. Therefore, only FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub> food simulants were used in specific migration analysis. These simulants were put into 2 mL vials after being passed through a 0.45  $\mu\text{m}$  pore diameter PVDF filter. After the contact with the samples, the chromatographic analysis of the food simulants was carried out in a GC-MS (Agilent Technologies 7890B and 5977MSD, USA), operating with HP 5 MS capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ). Chromatographic conditions were adopted: Helium carrier gas flow rate of 1 mL/min. The detector and injector temperatures were 300 °C and 250 °C, respectively. The temperature of the column was programmed at 60 °C (hold 1 min), from 60 °C to 220 °C with 20 °C/min heating, at 220 °C (hold 1 min), from 220 °C to 280 °C with 5 °C/min heating and hold 4 min. 1  $\mu\text{L}$  injected in splitless mode. The acquisition in two parallel was performed on full-scan ( $m/z = 50-500$ ). Among the peaks in the chromatogram which have certain properties (field and noise factors of peaks above 1/80 and

1/300, respectively) were identified with the support of certified MS libraries (NIST 2005 Standard Reference Database and Wiley 7 Nist 05 Mass Spectral Database). In addition, the total ion concentration (TIC) was calculated over the areas of these peaks (Nerin et al., 2003; Bentayeb et al., 2013; Kassouf et al., 2013; Yavuz, 2013). Three replicate tests were performed for each fatty food simulant.

### Statistical analysis

The obtained data were evaluated statistically using IBM SPSS (22.0, USA) program. In the data conforming to a normal distribution, Oneway-ANOVA was used for comparisons of groups and Tukey multiple comparison test was used

whether there was a significant difference between the groups at a 95 % confidence interval ( $P < 0.05$ ).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Thickness of films

The results of the thickness are shown in Table 1. The thickness of the films was measured between 0.014 and 0.090 mm. As expected, the thickness of the bilayer film significantly increased with increasing the thickness of the PLA layer. This was associated with the increase in the amount of PLA and glycerol in the film solution and the increase in the total amount of solids in the polymer matrix ( $P < 0.05$ ).

Table 1. Thickness and mechanical properties of films.

Films	Thickness (mm)	Tensile		Puncture	
		TS (Mpa)	EAB (%)	PF (N)	PD (mm)
PVC (control)	0.014±0.001 <sup>d</sup>	53.62±2.92 <sup>a</sup>	544.78±50.76 <sup>a</sup>	517.66±25.67 <sup>a</sup>	13.09±0.91 <sup>a</sup>
PVC+5%PLA	0.034±0.001 <sup>c</sup>	17.30±1.91 <sup>c</sup>	115.80±5.16 <sup>b</sup>	367.36±16.73 <sup>c</sup>	1.82±0.05 <sup>b</sup>
PVC+10%PLA	0.063±0.003 <sup>b</sup>	18.51±0.94 <sup>c</sup>	123.52±4.57 <sup>b</sup>	418.66±58.39 <sup>bc</sup>	1.59±0.07 <sup>b</sup>
PVC+20%PLA	0.090±0.003 <sup>a</sup>	24.55±1.34 <sup>b</sup>	117.45±14.58 <sup>b</sup>	459.72±46.48 <sup>ab</sup>	1.36±0.08 <sup>b</sup>

Results are expressed as mean ± standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

Abbreviations: TS, tensile strength; EAB, elongation at break; PF, puncture force; PD, puncture deformation

### Mechanical properties

The mechanical properties of the packaging materials represent their ability to protect their unity and tolerate outside stress during transportation, processing, storage, and handling. Sufficient extensibility and mechanical strength are generally needed for use in applications of food packaging (Sothornvit and Krochta, 2000; Briassoulis and Giannoulis, 2018; Haghghi et al., 2019; Zhou et al., 2019; Pirinc et al., 2020). It is expected that the films to be used as packaging materials have high elongation at break (EAB) and puncture deformation (PD) values to be flexible during wrapping, and high tensile strength (TS) and puncture force (PF) values to ensure product integrity during transportation (Nuthong et al., 2009). It has been reported that using combinations of different polymers (blends or multilayer) to improve some mechanical properties have better or less values than single

component materials (Chieng et al., 2014; Liu et al., 2017; Patwa et al., 2018; Iglesias Montes et al., 2019; Al-Shalchy et al., 2020; Oksiuta et al., 2020; ).

EAB, and TS of the films were measured and listed in Table 1. The PVC film had higher resistance to break (TS of 53.62 MPa), and stretchability (EAB of 544.78 %) than those of the other films. In a study by Coltro et al. (2013); they reported TS and EAB values in PVC stretch films (16-20 µm thickness) in the range of 24.5-36.8 MPa and 190-227 %, respectively. Park et al. (2020) reported these values in the range of 23.4-28.3 MPa and 635-741 %, respectively. The results obtained for uncoated PVC films are difficult to compare with the literature due to the wide variety of relevant variables (different thickness and compositions).

These values decreased rapidly with the application of PLA coating to PVC films ( $P < 0.05$ ). When PLA, which has lower TS and EAB values compared to PVC, was coated on the PVC surface, it caused a significant decrease in both values of the bilayer films. In studies on bilayer films reported that using a second layer in films decreases the TS value (Jiang et al., 2018; Park et al., 2020). The lowest values were observed as 17.3 MPa and 115.8 % in the PVC+5%PLA sample. Among the bilayer films, the TS value also increased with the increasing PLA concentration in the coating ( $P < 0.05$ ). The highest TS value among PLA-coated PVC films was determined as 24.55 MPa in the films coded PVC+20%PLA. The increase in TS value was due to the increase in the PLA concentration of the PLA layer in bilayer films, similar findings were reported by Zhou et al. (2019). No significant change was observed in the EAB value of PLA-coated PVC films ( $P > 0.05$ ). However, Zhou et al. (2019) reported that the EAB value decreased due to the increase in PLA concentration.

Puncture properties such as force and deformation of packaging materials are other important mechanical properties. Puncture force (PF) indicates the ability of packaging material to inhibit the intrusion of a foreign object, and puncture deformation (PD) is the expression of the amount of elongation before the burst of packaging by this foreign substance (Pirinc et al., 2020). The puncture properties of bilayer films are shown in Table 1. When the puncture properties of the films were examined, the highest PF (517.66 N) and PD (13.09 mm) values were obtained in uncoated PVC films. PF and PD values of PVC films significantly decreased with PLA coating ( $P < 0.05$ ). The decreasing trend of PF and PD values could be related to the PLA layer which produces films having a lower tensile, and puncture force. However, the puncture strength of the multilayered materials was higher than those of the conventional blend (monolayer) and the puncture mechanisms of multilayered materials were more complex. It has been stated that due to the tensile and shear stress differences between the adjacent layers during the puncture,

interfacial delamination will occur and exhibit gradual rupture behavior (He et al., 2016).

The lowest PF value (367.36 N) was obtained in the PVC+5%PLA film, and the lowest PD value (1.36 mm) was obtained in the PVC+20%PLA film. In PLA-coated films, with increasing PLA concentration, PF value increased significantly ( $P < 0.05$ ), and PD value decreased, but did not significantly affect ( $P > 0.05$ ). The increase in PLA concentration in the second layer of multilayer packaging films resulted in an increase in TS and PF, while there was no significant change in EAB and PD values. Although the literature suggests that an increase in the thickness of the second layer would lead to significant changes in mechanical properties, the effect of an increase in polymer concentration in the second layer has not been investigated. Therefore, we can only explain the results of our study as follows: It is known that the elongation capability of films is directly related to the amount and type of plasticizer incorporated into the film structure. In our study, glycerol used as a plasticizer for PLA film layers was added to the formulation based on PLA mass and kept constant at 50% (w/w). This explains why there was an increase in TS and PF values due to an increase in surface area resulting from an increased thickness of all PLA layers, but no significant change occurred in elongation values (EAB and PD) because the proportional amount of plasticizer remains consistent across all PLA layers.

#### Color properties of films

The color and transparency of the packaging material have a significant impact on consumer expectations. Normally, transparent film packaging has higher demands in market as customer would like to have clear view on the colors, textures and quality of the food's ingredients that they are consuming (Bourtoom and Chinnan, 2008; Khoshgozaran-Abras et al., 2012; Lee et al., 2019; Zhao et al., 2022; Guzman-Puyol et al. 2022; Abdullah et al., 2022; González-López et al., 2023). The color results of the films are given in Table 2. As is seen, the highest  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values were determined from the PVC (control), PVC+5%PLA, and PVC+20%PLA

films, respectively. With the increase in the PLA concentration decreased the  $L^*$  values compared to the control film. All films had positive  $a^*$  and  $b^*$  values, meaning the films showed very slight redness and yellowness. In addition, increasing the PLA concentration in the layer slightly increased the  $a^*$  and  $b^*$  values. The lowest  $a^*$  and  $b^*$  values were determined in PVC (control) film. The total color difference ( $\Delta E^*$ ) of the films was calculated based on the reference plate. With the

increase of PLA concentration in the films,  $\Delta E^*$  values increased in general, and the lowest results were obtained for the PVC (control) film. According to the classification of  $\Delta E^*$  values by Silva and Silva (1999), PVC control films showed a “very small (between 0.2 and 0.5)” color difference, while PLA-coated bi-layer films showed “small (between 0.5 and 1.5), and distinct (between 1.5 and 3.0)”  $\Delta E^*$  values.

Table 2. Color properties of films.

Films	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E^*$
PVC (control)	94.83±0.07 <sup>a</sup>	0.37±0.02 <sup>c</sup>	0.63±0.09 <sup>c</sup>	0.36±0.05 <sup>c</sup>
PVC+5%PLA	94.12±0.09 <sup>b</sup>	0.55±0.04 <sup>a</sup>	1.10±0.09 <sup>b</sup>	0.93±0.08 <sup>b</sup>
PVC+10%PLA	94.09±0.12 <sup>b</sup>	0.49±0.02 <sup>b</sup>	1.09±0.10 <sup>b</sup>	0.93±0.13 <sup>b</sup>
PVC+20%PLA	92.85±0.15 <sup>c</sup>	0.46±0.04 <sup>b</sup>	1.27±0.14 <sup>a</sup>	2.02±0.13 <sup>a</sup>

Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

Abbreviations:  $L^*$ , darkness (0) – lightness (100);  $a^*$ , greenness (-) – redness (+);  $b^*$ , blueness (-) – yellowness (+);  $\Delta E^*$ , color difference

There are many factors that affect the color of packaging films. Some of them are the type of polymer material, the additives used, the thickness of the films and film production methods (Guzman-Puyol et al. 2022). In our study, color values changed depending on the increase in PLA layer thickness. This situation has been observed in some studies; in multilayer polyethylene films, the thickness of each layer and the total layer thickness are effective on color values (Kondratov et al., 2018), and in some films, opacity or darkness values increase as the thickness increases (Galdeano et al., 2013; Nilsuwan et al., 2017; Lee et al., 2019), and in gelatin/PLA bilayer films, increasing PLA layer thickness causes an increase in  $L^*$  and  $a^*$  values and a decrease in  $b^*$  and  $\Delta E^*$  values (Nilsuwan et al., 2018).

### FTIR spectroscopy results

FT-IR is a well-known and widely used method to investigate the phase behavior and intermolecular interaction between polymers. In this study, the FTIR-ATR spectra along with characteristic transmittance bands for PVC and PLA surfaces of the films are shown in Figure 1. Accordingly, PVC surfaces detected characteristic stretching

vibrations for C-H, C-C, and C-Cl at 2958/2927/2857  $\text{cm}^{-1}$ , 1089  $\text{cm}^{-1}$ , and 835/692/635/608  $\text{cm}^{-1}$ , respectively.  $\text{CH}_2$  scissoring and  $\text{CH}_2$  rocking vibrations were observed at 1425  $\text{cm}^{-1}$  and 959  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. Other peaks seen in PVC stretch films were attributed by the additives in the composition of PVC, especially phthalate derivatives. The C=O and C-O-C stretching vibrations were observed at 1730  $\text{cm}^{-1}$  and 1461/1174  $\text{cm}^{-1}$ . Similar results have also been reported by other researchers (Coltro et al., 2013; Kerr et al., 2013; Ludwig et al., 2018; Sharma et al., 2019; Al-Shalchy et al., 2020; IRSAT, 2024).

PLA shows characteristic stretching vibrations for C-H, C=O, C-O, C- $\text{CH}_3$  and C-C at 2998/2947  $\text{cm}^{-1}$ , 1756  $\text{cm}^{-1}$ , 1180/1130/1080  $\text{cm}^{-1}$ , 1043  $\text{cm}^{-1}$ , and 871/755  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. Bending vibrations for C-H have been identified at 1455/1359/1383  $\text{cm}^{-1}$ .  $-\text{CH}_3$  rocking and C=O bond vibrations were observed at 957 and 694  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. Similar results have also been reported by other researchers (Zakaria et al., 2013; Chieng et al., 2014; Yuniarto et al., 2016; Rocca-Smith et al., 2016; Răpă et al., 2016; Patwa et al., 2018; Olejnik and Masek, 2020; IRSAT, 2024).

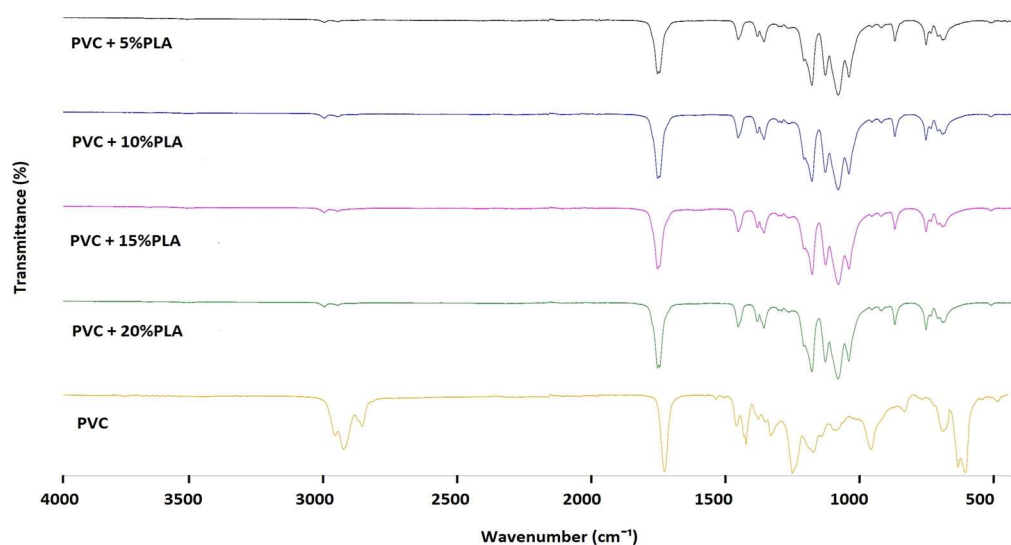


Figure 1. FTIR spectra of PVC and PLA surfaces of films

When the FTIR spectra collected from both surfaces of the films are examined, the characteristic wavelengths of both polymers were seen only on their surfaces. This situation can be explained by the fact that the thermal sealing process does not cause any structural deformation and interactions between the PVC and PLA layer; shows that the films were formed by physical interaction rather than chemical interaction on their surfaces.

### Overall migration results

When the results of the overall migration analysis of the films are analyzed; no migration was observed in contact with FS-A and FS-B representing aqueous foods. In this case, it shows that no adverse situation will occur in the long-term contact of the films with aqueous foodstuffs. In FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub> food simulants, overall migration was observed in the range of 0.80-8.13 mg/dm<sup>2</sup> and 0.87-6.33 mg/dm<sup>2</sup>, respectively (Figure 2). In the control PVC films obtained from the market in the study, the overall migration level was 0.80 and 6.33 mg/dm<sup>2</sup> for FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub>, respectively. Overall migration in PVC films has been reported to range between 13 and 720 mg/dm<sup>2</sup> (Petersen et al. 1995; 1997; 2004).

The migrations occurring in FS-D<sub>21</sub> (polar) and FS-D<sub>22</sub> (apolar) representing fatty foods were measured below the legal limit (10 mg/dm<sup>2</sup>). This indicates that the produced multilayer films can be in contact with such foodstuffs for a long time without exceeding the permitted migration limits. In contact of the films with FS-D<sub>21</sub>, there was an increase in the migration level due to the increase in PLA concentration ( $P < 0.05$ ). This may be due to the migration of lactic acid monomers/oligomers in the structure of the PLA as a result of the strong affinity of PLA to FS-D<sub>21</sub>, or the dissolution of the glycerol, which is used as a plasticizer, in FS-D<sub>21</sub> (Conn et al., 1995; Mutsuga et al., 2008; Bor et al., 2012; Scarfato et al., 2017; Ubeda et al., 2019).

The test results with the apolar FS-D<sub>22</sub> showed that the overall migration level in the PVC film with the PLA layer decreased significantly ( $P < 0.05$ ). However, the increase in PLA concentration in the PLA-coated PVC films did not have a significant effect on overall migration ( $P > 0.05$ ). Previous studies (López-Cervantes and Paseiro-Losada, 2003; Coltro et al., 2013; Li et al., 2015; Petersen and Jensen, 2016; Bernard et al., 2017; Raeisi et al., 2017) have shown that the PLA layer acts as a functional barrier, preventing nonpolar substances from diffusing into the PVC films.



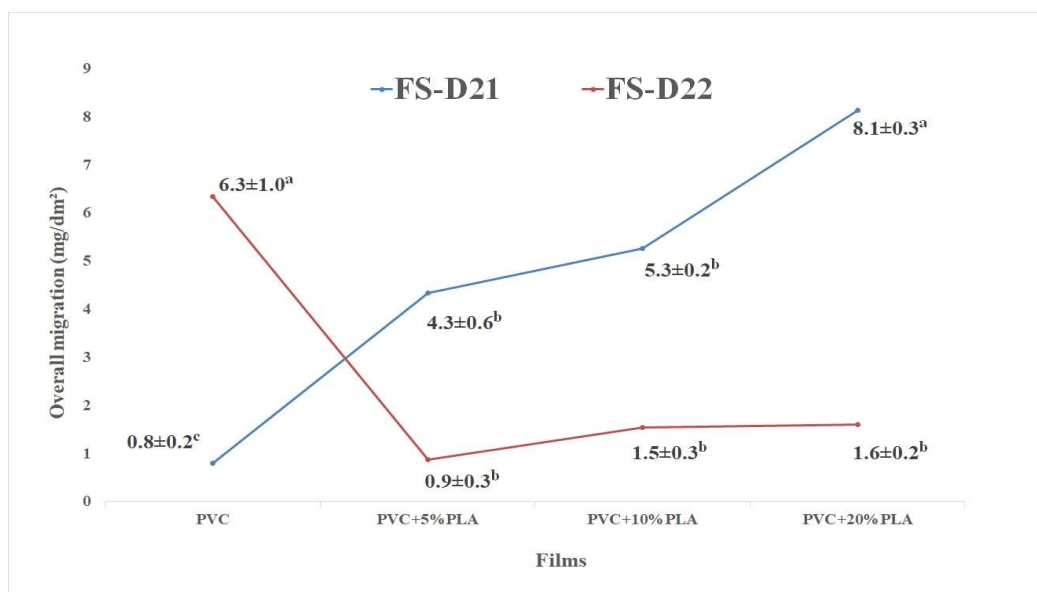


Figure 2. Overall migration analysis results with FS-D<sub>21</sub> (95% EtOH) and FS-D<sub>22</sub> (isooctane) food simulants in films

### Specific migration results

As a result of the contact of films with FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub> under test conditions, polar and apolar specific migrants diffusing to these food simulants were determined qualitatively by GC-MS. Total ion concentrations (TIC) were determined by calculating the areas of the peaks of each migrant as m/z (Figure 3). TIC levels in FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub> were determined in the range

of 0.5-5.6 x 10<sup>8</sup> m/z and 2.5-8.7 x 10<sup>8</sup> m/z, respectively. PLA layer significantly reduced migration in PVC films (P < 0.05). In the study reported by Bradley and Coulier (2007) for the determination of residues migration from "Food contact PVC materials" to food simulants (ethanol and isooctane) with GC-MS; residues were detected at similar retention times.

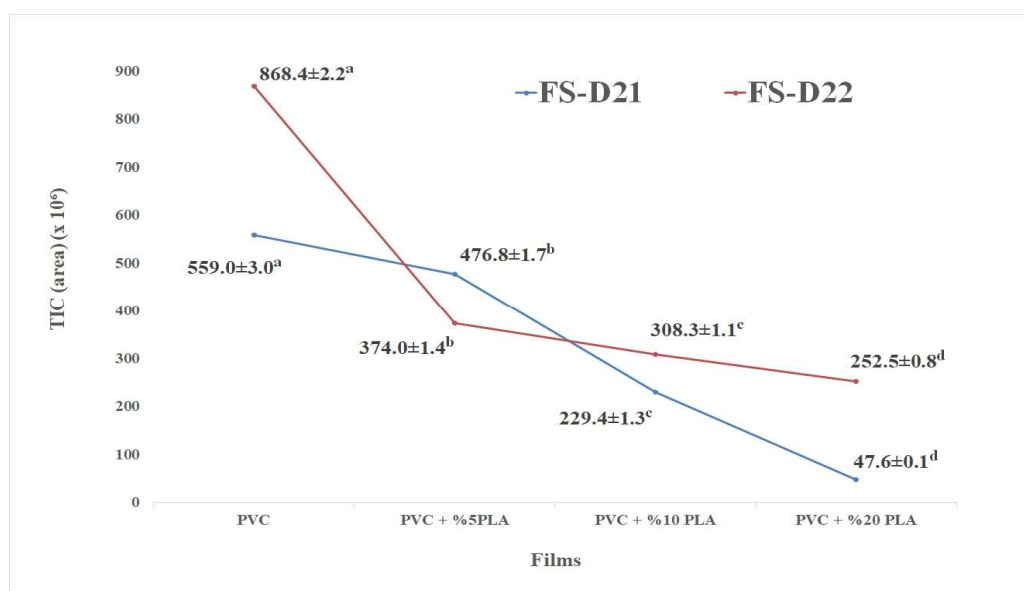


Figure 3. Total ion concentration (TIC) migration analysis results by GC-MS

Among the detected peaks, only di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) could be identified by the MS library. The concentration (in the area) of this migrant, which is the most commonly used phthalate derivative in PVC films, in FS-D<sub>21</sub> and FS-D<sub>22</sub> was determined in the ranges of 0.2-3.2x10<sup>8</sup> m/z and 2.1-5.1x10<sup>8</sup> m/z, respectively (Figure 4). PLA layer significantly reduced DEHP migration in PVC films ( $P < 0.05$ ). This shows that phthalate derivatives, which are used to ensure the processability of PVC-based stretch films and improve some mechanical properties (flexibility, physical strength, barrier, etc.), but can pose a risk to human health, are prevented to migrate by the

PLA layer. There are various studies to reduce DEHP migration from PVCs. In these studies, methods used nano inhibitors (Raiesi et al., 2017), films made by micro-layer co-extrusion technology (Xiong et al., 2016), by covalently attaching hydrophilic monomers onto the hydrophobic PVC surface (Wen et al., 2010), plasma and UV application on the surface (Ito et al., 2005; McGinty and Brittain, 2008), and coating the surface (Messori et al. 2004; Reddy et al., 2009). Especially, there was a considerable reduction in the plasticizer migration with coated PVC sheets versus uncoated PVC sheets (Reddy et al., 2009).

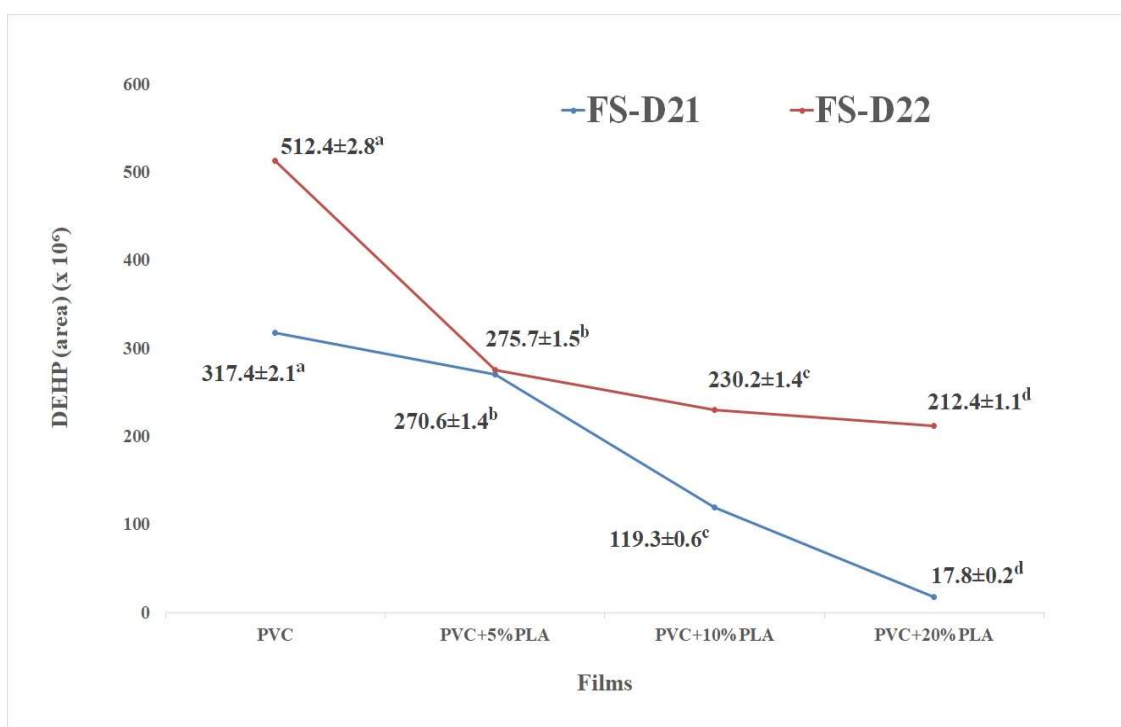


Figure 4. Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) migration analysis results by GC-MS

According to EU 10/2011 regulation; a functional barrier 'means a barrier consisting of one or more layers of any type of material which ensures that the final material or article (EU, 2011). In this case, the PLA coating exhibited functional barrier properties by preventing the migration of PVC films.

## CONCLUSION

In this study, PVC stretch films were coated with a PLA layer to prevent the migration of plasticizers such as phthalate. The physical, mechanical, migration, and FTIR properties of films were also determined. The physical and mechanical analysis of the films revealed that the tensile (TS and EAB) and puncture (PF and PD)

properties of the PVC films have weakened with the coating of the PLA layer. This situation negatively affected the flexibility and strength of the films.

The color values of the films were quite similar to those of the PVC control films, and a low level of change occurred. This change is "not perceptible by the human eyes ( $\Delta E^* \leq 1$ )" or "detectable only by close observation ( $\Delta E^* = 1-2$ )".

The migration analysis indicated that there was a considerable reduction in the overall and specific migration with PLA-coated PVC films when compared to uncoated PVC films. All PVC films coated with the PLA layer showed a lower overall migration to all food simulants than the limit set in the legislation. Overall migration analysis is a practical and simple method used to check the safety of food contact materials. However, even if the results obtained by overall migration analysis are appropriate, the safety of the materials should be checked by specific migration analysis. In our study, although the overall migration result with FS-D<sub>21</sub> increased with PLA layer thickness, it reduced the migration of residues such as DEHP, which may pose a risk in terms of specific migration. This indicates that PLA can be used as a functional barrier to prevent the migration of hazardous residues such as plasticizers into food.

As a result, the addition of a PLA layer to the PVC film caused a weakening in the mechanical, and color properties of the films. However, given that it can be an effective way to reduce the risk of migration from PVC-based packaging to foods, this situation may be acceptable in certain applications for improved food safety.

In future studies, it can be recommended to add different plasticizers at various concentrations to PLA films to improve the flexibility and strength of bi-layer PVC films.

#### DECLARATION OF COMPETING INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal

relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, A.F.D; Writing and Original Draft Preparation, A.F.D. and F.T.S.; Writing and Review and Editing, A.F.D., F.T.K.D., F.T.S.; Visualization, A.F.D.; Funding Acquisition, A.F.D. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This research was financially supported by Bursa Technical University Scientific Research Projects Office with a project number of 182N29.

#### REFERENCES

- Abdullah, C.J., Hafeez, M.A., Wang, Q., Farooq, S., Huang, Q., Tian, W., Xiao, J. (2022). Biopolymer-based functional films for packaging applications: A review. *Front. Nutr.*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1000116>.
- Ackerman, L. K., Noonan, G. O., Begley, T. H. (2009). Assessing direct analysis in a real time-mass spectrometry (DART-MS) for the rapid identification of additives in food packaging. *Food Additives and Contaminants*, 26(12), 1611–1618. <https://doi.org/10.1080/02652030903232753>.
- Al-Shalchy, S. I., Shabeeb, K. M., Hasan, A. M., Hasan, R. F. (2020). Mechanical Properties of Polyvinyl Chloride and Polypropylene Hybrid Polymeric Nanocomposites for Structural Applications. *International Journal of Nanoelectronics and Materials*, 13(2), 249-262. <http://dspace.unimap.edu.my:80/xmlui/handle/123456789/64928>.
- Arvanitoyannis, I. S., Kotsanopoulos, K. V. (2014). Migration Phenomenon in Food Packaging. Food–Package Interactions, Mechanisms, Types of Migrants, Testing and Relative Legislation—A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 21–36. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1106-8>.
- ASTM. (2007). *Standard practice for general techniques for obtaining infrared spectra for qualitative analysis*, E1252. American Society for Testing and Materials (ASTM).

- ASTM. (2018). *Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting*, D882-18. American Society for Testing and Materials (ASTM).
- ASTM. (2020). *Standard Test Method for High Speed Puncture Properties of Plastic Films Using Load and Displacement Sensors*, D7192-20. American Society for Testing and Materials (ASTM).
- ASTM. (2022). *Standard Practice for Computing the Colors of Objects by Using the CIE System*, E308-22. American Society for Testing and Materials (ASTM).
- Baur, E., Osswald, T. A., Rudolph, N. (2019). *Plastics Handbook The Resource for Plastics Engineers*. 5th Edt., Hanser Publication, E-Book ISBN 978-1-56990-560-9.
- Bentayeb, K., Ackerman, L. K., Lord, T., Begley, T. H. (2013). Non-visible print set-off of photoinitiators in food packaging: detection by ambient ionization mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants*, Part A, 30(4), 750-759. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.762694>.
- Bernard, L., Bourdeaux, D., Pereira, B., Azaroual, N., Barthelemy, C., Breyse, C., Chennell, P., Cuff, R., Dine, T., Eljezi, T., Feutry, F., Genay, S., Kambia, N., Lecoecur, M., Masse, M., Odou, P., Radaniel, T., Simon, N., Vaccher, C., Verlhac, C., Yessad, M., Decaudin, B., Sautou, V. (2017). Analysis of plasticizers in PVC medical devices: Performance comparison of eight analytical methods. *Talanta*, 162, 604-611. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.033>.
- Bor, Y., Alin, J., Hakkarainen, M. (2012). Electrospray Ionization-Mass Spectrometry Analysis Reveals Migration of Cyclic Lactide Oligomers from Polylactide Packaging in Contact with Ethanolic Food Simulant. *Packag. Technol. Sci.*, 25, 427-433. <https://doi.org/10.1002/pts.990>.
- Bourtoom, T., Chinnan, M.S. (2008). Preparation and properties of rice starch–chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food science and Technology*, 41(9), 1633–1641. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.10.014>.
- Bradley, E., Coulier, L. (2007). *An investigation into the reaction and breakdown products from starting substances used to produce food contact plastics*. Food Standards Agency, Project number A03054.
- Briassoulis, D., Giannoulis, A. (2018). Evaluation of the functionality of bio-based food packaging films. *Polymer Testing*, 69, 39-51. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.05.003>.
- Brunazzi, G., Parisi, S., Pereno, A. (2014). *The Importance of Packaging Design for the Chemistry of Food Products*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-08452-7>.
- Castle, L. (2007). *Chemical migration and food contact materials*. Chapter 1: Chemical migration into food: an overview, Edited by K. A. Barnes, C. R. Sinclair, D. H. Watson, Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 464 p.
- CEN. (2002). *Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics - Part 1: Guide to the selection of conditions and test methods for overall migration*, EN 1186-1. European Committee for Standardization (CEN).
- CEN. (2004). *Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics substances subject to limitation - Part 1: Guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food simulants*, EN 13130-1. European Committee for Standardization (CEN).
- Chieng, B. W., Ibrahim, N. A., Yunus, W. M. Z. W., Hussein, M. Z. (2014). Poly(lactic acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets. *Polymers*, 6(1), 93-104. <https://doi.org/10.3390/polym6010093>.
- Coltro, L., Pitta, J. B., Madaleno, E. (2013). Performance evaluation of new plasticizers for stretch PVC films. *Polymer Testing*, 32(2), 272-278. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.11.009>.
- Coltro, L., Pitta, J. B., da Costa, P. A., Perez, M. Â. F., de Araújo, V. A., Rodrigues, R. (2014). Migration of conventional and new plasticizers from PVC films into food simulants: A comparative study. *Food Control*, 44, 118-129.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.058>
- Conn, R. E., Kolstad, J. J., Borzelleca, J. F., Dixler, D. S., Filer, L. J. Jr., LaDu, B. N. Jr., Pariza, M. W. (1995). Safety assessment of polylactide (PLA) for use as a food-contact polymer. *Food and Chemical Toxicology*, 33, 273–283. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(94\)00145-e](https://doi.org/10.1016/0278-6915(94)00145-e).
- Cruz, R. M. S., Alves, V., Khmelinskii, I., Vieira, M. C. (2018). Chapter 2 - New Food Packaging Systems. In Handbook of Food Bioengineering, Food Packaging and Preservation, 63-85. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811516-9.00002-6>.
- EU. (2011). Regulation on plastic materials and articles intended to come into contact with food, No 10/2011. European Union (EU).
- FSA. (2007). An Investigation into the Reaction and Breakdown Products from Starting Substances used to Produce Food Contact Plastics. Food Standards Agency (FSA), Project number A03054.
- Galdeano, M., Wilhelm, A., Mali, S., Grossmann, M. (2013). Influence of thickness on properties of plasticized oat starch films. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 637-644. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000400014>.
- González-López, M.E., Calva-Estrada, Sd.J., Gradilla-Hernández, M.S., Barajas-Álvarez, P. (2023). Current trends in biopolymers for food packaging: a review. *Front. Sustain. Food Syst.*, 7. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1225371>.
- Groh, K. J., Backhaus, T., Carney-Almroth, B., Geueke, B., Inostroza, P. A., Lennquist, A., Leslie, H. A., Maffini, M., Slunge, D., Trasande, L., Warhurst, A. M., Muncke, J. (2019). Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Science of The Total Environment*, 651(2), 3253-3268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.015>.
- Guzman-Puyol, S., Benítez, J.J., Heredia-Guerrero, J.A. (2022). Transparency of polymeric food packaging materials. *Food Research International*, 161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111792>.
- Haghighi, H., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., Siesler, H. W., Pulvirenti, A. (2019). Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.015>.
- Hahladakisa, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Eleni Iacovidoua, E., Purnella, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal, and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179–199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>.
- Hanušová, K., Rajchl, A., Votavová, L., Dobiáš, J., Steiner, I. (2013). Testing the influence of various conditions on the migration of epoxidized soybean oil from polyvinylchloride gaskets. *Food Additives and Contaminants, Part A*, 30(11), 1963-1975. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.825818>.
- He, G., Zhang, F., Yu, H., Li, J., Guo, S. (2016). Puncture characterization of multilayered polypropylene homopolymer/ethylene 1-octene copolymer sheets. *Royal Society of Chemistry Advances*, 6, 12744–12752. <https://doi.org/10.1039/C5RA23333J>.
- Howick, C., Mollett, C., Leadbitter, J., O'Brien, A. (2005). New developments concerning compliance of PVC with European food contact regulations: threats or opportunities? *Plastics, Rubber and Composites*, 34(3), 121-126. <https://doi.org/10.1179/174328905X55489>.
- Ilyas, R. A., Sapuan, S. M., Kadir, A., Kalil, M. S., Ibrahim, R., Atikah, M. S. N., Nurazzi, N. M., Nazrin, A., Lee, C. H., Norrahim, M. N. F., Sari, N. H., Syafri, E., Abral, H., Jasmani, L., Ibrahim, M. I. J. (2020). *Advanced Processing, Properties, and Applications of Starch and Other Bio-Based Polymers*. Chapter 8 - Properties and Characterization of PLA, PHA, and Other Types of Biopolymer Composites, Edt. by F. M. Al-Oqla, S. M. Sapuan, Elsevier, 111-138. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819661-8.00008-1>.

- Iglesias Montes, M. L., Luzi, F., Dominici, F., Torre, L., Cyras, V. P., Manfredi, L. B., Puglia, D. (2019). Design and Characterization of PLA Bilayer Films Containing Lignin and Cellulose Nanostructures in Combination With Umbelliferone as Active Ingredient. *Frontiers in Chemistry*, 7, 157. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00157>.
- IRSAT. (2024). Infrared Spectroscopy Absorption Table (IRSAT). Retrieved From [https://chem.libretexts.org/Ancillary\\_Materials/Reference/Reference\\_Tables/Spectroscopic\\_Reference\\_Tables/Infrared\\_Spectroscopy\\_Absorption\\_Table](https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Reference/Reference_Tables/Spectroscopic_Reference_Tables/Infrared_Spectroscopy_Absorption_Table). Accessed March 24, 2024.
- Ito, R., Seshimo, F., Haishima, Y., Hasegawa, C., Isama, K., Yagami, T., Nakahashi, K., Yamazaki, H., Inoue, K., Yoshimura, Y., Saito, K., Tsuchiya, T., Nakazawa, H. (2005). Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices, *International Journal of Pharmaceutics*, 303(1–2), 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.07.009>
- Jiang, Y., Zhuang, C., Zhong, Y., Zhao, Y., Deng, Y., Gao, H., Chen, H., Mu, H. (2018). Effect of bilayer coating composed of polyvinyl alcohol, chitosan, and sodium alginate on salted duck eggs. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 868–878. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1466327>.
- Kassouf, A., Maalouly, J., Chebib, H., Rutledge, D.N., Ducruet, V. (2013). Chemometric tools to highlight non-intentionally added substances (NIAS) in polyethylene terephthalate (PET). *Talanta*, 115, 928–937. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.06.029>.
- Kerr, T. J., Duncan, K. L., Myers, L. (2013). Application of vibrational spectroscopy techniques for material identification from fire debris. *Vibrational Spectroscopy*, 68, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2013.08.006>.
- Khoshgozaran-Abras, S., Azizi, M.H., Hamidy, Z., Bagheripoor-Fallah, N. (2012). Mechanical, physicochemical and color properties of chitosan based-films as a function of aloe vera gel incorporation. *Carbohydr. Polym.*, 87(3), 2058–2062. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.10.020>.
- Kondratov, A.P., Volinsky, A.A., Chen, J. (2018). Scaling Effects on Color and Transparency of Multilayer Polyethylene Films in Polarized Light. *Adv Polym Technol*, 37, 668–673. <https://doi.org/10.1002/adv.21708>.
- Lee, J.S., Park, M.A., Yoon, C.S., Na, J.H., Han, J. (2019). Characterization and preservation performance of multilayer film with insect repellent and antimicrobial activities for sliced wheat bread packaging. *Journal of Food Science*, 84, 3194–3203. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14823>.
- Li, Å., Sem, S., Håland, J. T., Petersen, J. H., Jensen, L. K. (2015). *Nordic project food contact materials Control of declarations of compliance (DoC)*. Nordic Council of Ministers. <http://dx.doi.org/10.6027/TN2015-559>.
- Liu, T., Jiang, P., Liu, H., Li, M., Dong, Y., Wang, R., Wang, Y. (2017). Performance testing of a green plasticizer based on lactic acid for PVC. *Polymer Testing*, 61, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.05.012>.
- López-Cervantes, J., Paseiro-Losada, P. (2003). Determination of bisphenol A in, and its migration from, PVC stretch film used for food packaging. *Food Additives and Contaminants*, 20(6), 596–606. <https://doi.org/10.1080/0265203031000109495>.
- Ludwig, V., Da Costa Ludwig, Z. M., Rodrigues, M. M., Anjos, V., Costa, C. B., das Dores, D. R. A. S., da Silva, V. R., Soares, F. (2018). Analysis by Raman and infrared spectroscopy combined with theoretical studies on the identification of plasticizers in PVC films. *Vibrational Spectroscopy*, 98, 134–138. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.08.004>.
- McGinty, K. M., Brittain, W. J. (2008). Hydrophilic surface modification of poly(vinyl chloride) film and tubing using physisorbed free radical grafting technique. *Polymer*, 49, 4350–4357. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.07.063>.
- Messori, M., Toselli, M., Pilati, F., Fabbri, E., Fabbri, P., Pasquali, L., Nannarone, S. (2004).

- Prevention of plasticizer leaching from PVC medical devices by using organic–inorganic hybrid coatings. *Polymer*, 45(3), 805-813. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.12.006>
- Mutsuga, M., Kawamura, Y., Tanamoto, K. (2008). Migration of lactic acid, lactide, and oligomers from polylactide food-contact materials. *Food Additives and Contaminants, Part A*, 25(10), 1283-1290. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030802017529>.
- Nerin, C., Albinana, J., Philo, M. R., Castle, L., Raffael, B., Simoneau, C. (2003). Evaluation of some screening methods for the analysis of contaminants in recycled polyethylene terephthalate flakes. *Food Additives and Contaminants*, 20(7), 668-677. <https://doi.org/10.1080/0265203031000109503>.
- Niaounakis, M. (2015). *Biopolymers: Processing and Products*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-09982-3>.
- Nilsuwan, K., Benjakul, S., Prodpran, T. (2017). Properties, Microstructure and Heat Seal Ability of Bilayer Films Based on Fish Gelatin and Emulsified Gelatin Films. *Food Biophysics*, 12, 234–243. <https://doi.org/10.1007/s11483-017-9479-2>.
- Nilsuwan, K., Benjakul, S., Prodpran, T. (2018). Physical/thermal properties and heat seal ability of bilayer films based on fish gelatin and poly(lactic acid). *Food Hydrocolloids*, 77, 2018, 248-256. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.10.001>
- Nuthong, P., Benjakul, S., Prodpran, T. (2009). Effect of some factors and pretreatment on the properties of porcine plasma protein-based films. *LWT - Food Science and Technology*, 42(9), 1545-1552. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.003>.
- Oksiuta, Z., Jalbrzykowski, M., Mystkowska, J., Romanczuk, E., Osiecki, T. (2020). Mechanical and Thermal Properties of Polylactide (PLA) Composites Modified with Mg, Fe, and Polyethylene (PE) Additives. *Polymers*, 12, 2939. <https://doi.org/10.3390/polym12122939>.
- Olejnik, O., Masek, A. (2020). Bio-Based Packaging Materials Containing Substances Derived from Coffee and Tea Plants. *Materials*, 13(24), 5719. <https://doi.org/10.3390/ma13245719>.
- Park, M., Choi, I., Lee, S., Hong, S., Kim, A., Shin, J., Kang, H., Kim, Y. (2020). Renewable malic acid-based plasticizers for both PVC and PLA polymers. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 88, 148-158. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.04.007>.
- Patwa, R., Kumar, A., Katiyar, V. (2018). Effect of silk nano-disc dispersion on mechanical, thermal, and barrier properties of poly(lactic acid) based bionanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(38), 46671. <https://doi.org/10.1002/app.46671>.
- Petersen, J.H., Naamansen, T.E., Nielsen, P. A. (1995). PVC cling film in contact with cheese: Health aspects related to global migration and specific migration of DEHA. *Food Additives and Contaminants*, 12(2), 245–253. <https://doi.org/10.1080/02652039509374299>.
- Petersen, J.H., Lillemark, L., Lund, L. (1997). Migration from PVC cling films compared with their field of application. *Food Additives and Contaminants*, 14(4), 345-353. <https://doi.org/10.1080/02652039709374537>.
- Petersen, J.H., Tøgeskov, P., Hallas, J., Olsen, M.B., Jørgensen, B., Jakobsen, M. (2004). Evaluation of retail fresh meat packagings covered with stretch films of plasticized PVC and non-PVC alternatives. *Packag. Technol. Sci.*, 17, 53–66. <https://doi.org/10.1002/pts.639>.
- Petersen, J. H., Jensen, L. K. (2016). Phthalates in soft PVC products used in food production equipment and in other food contact materials on the Danish and the Nordic Market 2013-2014. *International Journal of Food Contamination*, 3. <https://doi.org/10.1186/s40550-016-0026-6>.
- Piergiovanni, L., Limbo, S. (2016). *Food Packaging Materials*. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24732-8>.
- Pirinc, F. T., Dağdelen, A. D., Sarıcaoğlu, F. T. (2020). Optical and mechanical properties of bilayer biodegradable films from poly lactic acid and

- bovine gelatin. *European Food Science and Engineering*, 1 (1), 13-17.
- Raeisi, A., Faghihi, K., Shabani, M. (2017). Designed biocompatible nano-inhibitor based on poly( $\beta$ -cyclodextrin-ester) for reduction of the DEHP migration from plasticized PVC. *Carbohydrate Polymers*, 174, 858–868. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.105>
- Râpă, M., Miteluț, A. C., Tănase, E. E., Grosu, E., Popescu, P., Popa, M. E., Rosnes, J. T., Sivertsvik, M., Darie-Niță, R. N., Vasile, C. (2016). Influence of chitosan on mechanical, thermal, barrier and antimicrobial properties of PLA-biocomposites for food packaging. *Composites Part B: Engineering*, 102, 112-121. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.07.016>
- Reddy, N. N., Mohan, Y. M., Varaprasad, K., Ravindra, S., Vimala, K., Raju, K. M. (2009). Surface Treatment of Plasticized Poly(vinyl chloride) to Prevent Plasticizer Migration. *Journal of Applied Polymer Science*, 115, 1589–1597. <https://doi.org/10.1002/app.31157>
- Rocca-Smith, J. R., Karbowiak, T., Marcuzzo, E., Sensidoni, A., Piasente, F., Champion, D., Heinz, O., Vitry, P., Bourillot, E., Lesniewska, E., Debeaufort, F. (2016). Impact of corona treatment on PLA film properties. *Polymer Degradation and Stability*, 132, 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.polyimdegradstab.2016.03.020>
- Saçak, M. (2010). *Polymer Chemistry*. Gazi Kitabevi, 5.Edt., Ankara, Turkey, 525 p.
- Scarfato, P., Di Maio, L., Milana, M. R., Giamberardini, S., Denaro, M., Incarnato, L. (2017). Performance properties, lactic acid specific migration and swelling by simulant of biodegradable poly(lactic acid)/nanoclay multilayer films for food packaging. *Food Additives and Contaminants, Part A*, 34(10), 1730-1742. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1321786>
- Sharma, V., Nani, D., Kumar, R. (2019). Spectroscopic and chemometric evaluation of cling films used for wrapping of foodstuff and illicit drugs. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 206, 558-568. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.08.052>
- Silva, F. M., Silva, C. L. M. (1999). Colour changes in thermally processed cupuaçu (Theobroma grandiflorum) puree: critical times and kinetics modeling. *International Journal of Food Science and Technology*, 34 (1), 87–94. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00246.x>
- Sothornvit, R., Krochta, J. M. (2000). Oxygen Permeability and Mechanical Properties of Films from Hydrolyzed Whey Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3913-3916. <http://dx.doi.org/10.1021/jf000161m>
- Tice, P. (2003). *Packaging materials: 4. Polyethylene for food packaging applications*. ILSI, Europe Report Series. Retrieved From [https://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/R2003Pac\\_Mat.pdf](https://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/R2003Pac_Mat.pdf). Accessed November 15, 2022.
- Ubeda, S., Aznar, M., Alfaro, P., Nerín, C. (2019). Migration of oligomers from a food contact biopolymer based on polylactic acid (PLA) and polyester. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 3521–3532. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01831-0>
- Üçüncü, M. (2007). *Food Packaging Technology*. Meta Basım, Izmir, Turkey, 896 p.
- Villanueva, M. E., González, J. A., Rodríguez-Castellón, E., Teves, S., Copello, G. J. (2016). Antimicrobial surface functionalization of PVC by a guanidine based antimicrobial polymer. *Materials Science and Engineering*, C67, 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.052>
- Wen, X. Q., Liu, X. H., Liu, G. S. (2010). Prevention of Plasticizer Leaching From the Inner Surface of Narrow Polyvinyl Chloride Tube by DC Glow Discharge Plasma. *IEEE Transactions On Plasma Science*, 38(11), 3152-3155. <https://doi.org/10.1109/TPS.2010.2074209>
- Xiong, J., Yang, W., Li, C., Zhou, X., Jiao, Z. (2016). Plasticizer migration from micro-layered flexible poly (vinyl chloride) films prepared by multi-layer co-extrusion technology. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 32(4), 402-418. <https://doi.org/10.1177/8756087915612884>



Yavuz, H. T. (2013). *Migration of Diisopropylene and Triisopropylene Glycol Diacrylate From Packaging Materials and Screening of Potential Risk in Paper Packagings*. Istanbul Technical University Graduate School Of Science Engineering and Technology Department of Food Engineering, M.Sc. Thesis, Istanbul, Turkey, 102 p.

Yuniarto, K., Purwanto, Y. A., Purwanto, S., Welt, B. A., Purwadaria, H. K., Sunarti, T. C. (2016). *Infrared and Raman studies on polylactide acid and polyethylene glycol-400 blend*. AIP Conference Proceedings, 1725. <https://doi.org/10.1063/1.4945555>.

Zakaria, Z., Islam, Md. S., Hassan, A., Haafiz, M. K. M., Arjmandi, R., Inuwa, I. M., Hasan, M. (2013). Mechanical Properties and Morphological Characterization of PLA/Chitosan/Epoxidized

Natural Rubber Composites. *Advances in Materials Science and Engineering*, 629092. <https://doi.org/10.1155/2013/629092>.

Zhao, J., Wang, Y., Liu, C. (2022). Film Transparency and Opacity Measurements. *Food Anal. Methods*, 15, 2840–2846. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02343-x>.

Zhou, X., Yang, R., Wang, B., Chen, K. (2019). Development and characterization of bilayer films based on pea starch/polylactic acid and use in the cherry tomatoes packaging. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114912. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.042>.



## PARAPROBİYOTİKLER VE POSTBİYOTİKLER: GIDA VE FARMAKOLOJİ UYGULAMALARI

**Berna ÖZTÜRK, Gülce SULAK, Selin EKER, İlkın YÜCEL ŞENGÜN\***

Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir/Türkiye

Geliş /Received 13.05.2024; Kabul /Accepted: 28.06.2024; Online baskı /Published online: 22.07.2024

Öztürk, B., Sulak, G., Eker, S., Yücel Şengün, İ. (2024). Paraprobiyotikler ve postbiyotikler: Gıda ve farmakoloji uygulamaları. GIDA (2024) 49 (4) 641-655 doi: 10.15237/ gida.GD24054

Öztürk, B., Sulak, G., Eker, S., Yücel Şengün, İ. (2024). Paraprobiotics and postbiotics: Applications in food and pharmacology. GIDA (2024) 49 (4) 641-655 doi: 10.15237/ gida.GD24054

### ÖZ

Son yıllarda tüketicilerin fonksiyonel ürünlere yönelik artan talepleriyle birlikte probiyotik ürün pazarı hızla gelişmeye başlamıştır. 'Yeterli miktarda alındığında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar' olarak tanımlanan probiyotikler, fonksiyonel gıda üretimi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, probiyotik hücrelerin canlı olmadığı durumlarda da sağlık üzerinde yararlı etkiler sağlayabileceğini göstermiştir. Probiyotik kullanımına alternatif olarak, fonksiyonel gıda pazarında potansiyel bir fırsat sağlayan paraprobiyotik ve postbiyotik terimleri ortaya çıkmıştır. Paraprobiyotikler, yeterli miktarda uygulandığında konakçı sağlığı üzerinde fayda sağlayan, canlı olmayan mikrobiyal hücreler olarak tanımlanmaktadır. Paraprobiyotik eldesinde hücrenin sağlam yapısı korunarak canlı hücre inaktive edilmektedir. Postbiyotikler yararlı mikroorganizmalar tarafından salgılanan metabolik ürünler veya mikrobiyal hücre lizisi sonucu ortama salınan düşük molekül ağırlıklı çözümlü bileşiklerdir. Antimikrobiyal, antiinflamatuar, antikarsinojenik, antiproliferatif ve immünomodülatör gibi yararlı özelliklere sahip olduğu bildirilen paraprobiyotik ve postbiyotikler, gıda ve farmakoloji endüstrisinde uygulanmaktadır. Bu çalışmada, paraprobiyotik ve postbiyotiklerin tanımı, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanımları ve sağlık üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Paraprobiyotik, postbiyotik, gıda, farmakoloji

## PARAPROBIOTICS AND POSTBIOTICS: APPLICATIONS IN FOOD AND PHARMACOLOGY

### ABSTRACT

In recent years, the probiotic product market has experienced rapid growth driven by the increasing consumer demand for functional products. Probiotics, defined as 'live microorganisms that have positive effects on host health when taken in sufficient amounts' are widely used in the production of functional foods. Studies have demonstrated that probiotic cells can provide beneficial health effects even when they are not active. The terms paraprobiotic and postbiotic have emerged as alternatives to probiotics, offering potential opportunities in the functional food market. Paraprobiotics are defined as non-living microbial cells that confer health benefits on the host when

\* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: ilkin.sengun@ege.edu.tr

☎: (+90) 232 311 3028

☎: (+90) 232 342 7592

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

Gülce Sulak; ORCID no: 0009-0003-0436-1006

Selin Eker; ORCID no: 0009-0007-0841-3781

İlkin Yücel Şengün; ORCID no: 0000-0001-6940-2129

administered in sufficient quantities. To obtain paraprobiotics, the living cell must be inactivated while preserving its intact structure. Postbiotics are metabolic products secreted by beneficial microorganisms or low molecular weight soluble compounds released into the environment because of microbial cell lysis. Paraprobiotics and postbiotics, which are reported to possess beneficial properties such as antimicrobial, anti-inflammatory, anticarcinogenic, antiproliferative, and immunomodulatory effects, are applied in the food and pharmacology industries. This study evaluates the definitions of paraprobiotics and postbiotics, their uses in the food and pharmaceutical industries, and their effects on health.

**Keywords:** Paraprobiotic, postbiotic, food, pharmacology

## GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin daha az miktarda katkı maddesi ve kimyasal madde içeren ürünleri tercih etmesi nedeniyle, gıda güvenilirliğini sağlamak ve tüketicilerin taleplerini karşılamak için doğal koruyucu maddeler üzerine yapılan çalışmalar artış göstermiştir. Yararlı mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal maddeler, gıda kaynaklı patojenlerin ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişmesini önleyerek gıda güvenilirliği sağlayan ve gıdaların kalitesini arttıran önemli bileşiklerdir (Moradi vd., 2021).

ParaprobİYotikler, DNA filamentlerinin kırılması, hücre zarının mekanik hasarı, enzimlerin inaktivasyonu veya membran geçirgenliğinin deaktivasyonu gibi faktörlere maruz kalarak hücre canlılıklarını tamamen kaybeden probiyotik ya da probiyotik olmayan yararlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Barros vd., 2020; Cuevas-González vd., 2020). Bakteriyel hücre inaktivasyonu amacıyla ısı işlem, kimyasal maddeler, gama veya ultraviyole ışınlama, yüksek hidrostatik basınç, sonikasyon ve ohmik ısıtma gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Kamilya vd., 2015; de Almada vd., 2016). Yapılan çalışmalarda, paraprobİYotiklerin antiinflamatuvar, immünomodülatör, antioksidan, antimikrobiyal, antikarsinojenik ve antiproliferatif etkileri olduğu bildirilmiştir (Nataraj vd., 2020; Barros vd., 2021; Kye vd., 2022).

Postbiyotikler; yararlı mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler, proteinler, kısa zincirli yağ asitleri, organik asitler, hidrojen peroksit, diasetil ve ekzopolisakkarit (EPS) gibi mikrobiyal metabolitleri veya bir hücrenin bakteriyel lizisi sonucu inaktif hale gelmesiyle ortama salınan hücre yüzeyiyle ilişkili proteinler,

hücre duvarına bağlı biyolojik yüzey aktif maddeler, teikoik asitler, mikroorganizma yüzeyinde bulunan pili, fimbria ve flagella gibi yapıları ifade etmektedir (Barros vd., 2020). Literatürde, postbiyotiklerin etkinliğini değerlendirmek amacıyla *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri (LAB) yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, postbiyotiklerin antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antihipertansif, antiproliferatif, antioksidan ve immünomodülatör gibi yararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Nagpal vd., 2018; Nataraj vd., 2020; Liu vd., 2023).

Canlı hücrelerin inaktivasyonu sonucu uygulanan işleme ve koşullara bağlı olarak paraprobİYotikleri ve postbiyotikleri bir arada içeren karışımlar elde edilebilmektedir. Dolayısıyla, postbiyotikleri paraprobİYotiklerden ayırabilmek amacıyla yapısı bozulmayan hücreleri karışımdan uzaklaştırabilmek için mikrofiltrasyon gibi ek yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Cuevas-González vd., 2020). Bu derleme çalışmasında, paraprobİYotikler ve postbiyotiklerin tanımı, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanımları ve sağlık üzerine etkileri ele alınmıştır.

## PARAPROBİYOTİKLER

“Canlı olmayan probiyotikler”, “inaktive edilmiş probiyotikler” veya “hayalet probiyotikler” olarak da adlandırılan paraprobİYotikler, yeterli miktarda uygulandığında tüketicilere fayda sağlayan cansız probiyotik ya da probiyotik olmayan yararlı mikrobiyal hücreleri ifade etmektedir (de Almada vd., 2016; Nurko ve Nakilcioglu, 2023). ParaprobİYotikler, hücrenin sağlam yapısını korumak için gerekli olan bakteri zarını ve hücre duvarı yapısını bozmadan mikrobiyal hücre yapısını (DNA filamentlerinin kırılması, hücre zarı

hasarı, vb.) veya fizyolojik fonksiyonlarını (enzim inaktivasyonu, membran seçiciliğinin deaktivasyonu) değiştiren fiziksel veya kimyasal faktörlere maruz kaldıktan sonra elde edilmektedir (Siciliano vd., 2021). Canlı hücreler, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi termal uygulamalarla; iyonlaştırıcı radyasyon, ultraviyole ışınları, yüksek basınç, sonikasyon gibi termal olmayan uygulamalarla veya darbeli elektrik alan, ohmik ısıtma ve süper kritik karbondioksit teknolojisi gibi alternatif uygulamalarla inaktif hale getirilebilmektedir (de Almada vd., 2016).

### POSTBİYOTİKLER

Başta LAB ve *Bifidobacterium* spp. olmak üzere yararlı mikroorganizmalar tarafından üretilen enzimler, proteinler, aminoasitler, peptitler, vitaminler, kısa zincirli yağ asitleri, organik asitler, hidrojen peroksit, diasetil ve EPS gibi mikrobiyal metabolitler veya bir hücrenin bakteriyel lizisi sonucu inaktif hale gelmesiyle ortama salınan hücre yüzeyiyle ilişkili proteinler, hücre duvarına bağlı biyolojik yüzey aktif maddeler, teikoik asitler, peptidoglikan türevi muropeptitler, mikroorganizma yüzeyinde bulunan pili, fimbria ve flagella gibi yapılar postbiyotik olarak tanımlanmaktadır (Barros vd., 2020). Postbiyotikler, çoğunlukla mikroorganizmaların hücre içermeyen süpernatantlarından (CFS) elde edilmektedir. Ayrıca hedef postbiyotikler, ultrafiltrasyon veya kromatografi gibi çeşitli yöntemler kullanılarak saflaştırılabilmektedir (İçier vd., 2022). Postbiyotikler; metabiyotikler, biyojenikler, metabolitler veya hücre içermeyen süpernatantlar olarak da adlandırılmaktadır (Cuevas-González vd., 2020).

### Organik Asitler

LAB tarafından karbonhidrat metabolizmasının son ürünü olarak laktik asit, asetik asit, propiyonik asit ve benzoik asit gibi çeşitli organik asitler üretilmektedir. Organik asitler, gıdaların hidrojen iyon konsantrasyonunu değiştirerek mikrobiyal gelişimi kontrol etmekte ve bakteri, küf ve mayaların gelişmesini engellemek amacıyla gıda endüstrisinde koruyucu ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Reis vd., 2012). Organik asitler hücre membranından geçerek iyonlarına ayrılmakta ve hücre dışı ortamının sitoplazma

ortamına göre daha düşük pH değerine sahip olması nedeniyle, sitoplazmik pH değerini düşürmektedir. pH değerinin düşmesi ile enzim ve proteinler denatüre olmakta ve hücrenin proton itici gücü bozulmaktadır. Böylelikle, hücre geçirgenliği artmakta ve membrandan besin elementlerinin aktif transportu engellenmektedir. Sonuç olarak, mikroorganizma canlılığını yitirmektedir (Singh, 2018).

### Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Kısa zincirli yağ asitleri, gastrointestinal sistemde bulunan mikroorganizmaların sindirilemeyen karbonhidratları fermente etmesi sonucu oluşmaktadır. Asetat, propiyonat ve bütirat fermente gıdalarda en çok bulunan kısa zincirli yağ asitleridir. Asetat ve propiyonat periferik dokular için bütirat ise kolon epiteli için enerji kaynağı olarak görev yapmaktadır (Nataraj vd., 2020). Hafif asidik olan bu bileşikler, bağırsağın pH değerini düşürerek patojenlerin gelişimini baskılamaktadır (Gill vd., 2018). Kan dolaşımındaki kısa zincirli yağ asitleri sinyal molekülleri olarak görev yaptıkları organlar tarafından emilirler. Böylece, lipid metabolizmasını, glikoz ve insülin homeostazını iyileştirerek genetik metabolizma dengesizliğinin düzenlenmesine katkıda bulunurlar (Canfora vd., 2015). Yapılan çalışmalarda, kısa zincirli yağ asitlerinin anti-tümör, anti-enflamatuvar, bağışıklık sistemini güçlendirme, obezite kontrolü ve kardiyovasküler etkiler gibi yararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Gill vd., 2018; Li vd., 2018).

### Ekzopolisakkarit

EPS, *Leuconostoc* spp. ve *Weissella* spp. gibi LAB de dahil olmak üzere birçok mikroorganizma tarafından hücre içi, hücre duvarı ve hücre dışına sentezlenen, yüksek molekül ağırlığına sahip, geri dönüşebilen ve çevre dostu doğal polimer metabolitlerdir. Düz ya da dallanmış yapıya sahip olan EPS, monosakkaritlerin glikozidik bağ ile bağlanması sonucu oluşmaktadır. Kimyasal kompozisyonlarına bağlı olarak homopolisakkaritler (tek tip monosakkarit içeren) ve heteropolisakkaritler (farklı monosakkaritlerin yapısal olarak tekrar eden birimlerinden oluşan) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Dekstran *Leuconostoc mesenteroides* tarafından üretilen bir

homopolisakarittir. *Lactobacillus bulgaricus* tarafından üretilen heteropolisakarit, glikoz, galaktoz ve ramnozun tekrar ünitelerinden oluşmaktadır (Lynch vd., 2018; Valerio vd., 2020). EPS mikroorganizmaları kurumadan, fagositozdan, antibiyotiklerden, toksik metallerin nüfuz etmesinden ve faj etkisinden korumakta ve ısı, ışık, ses gibi stres ortamlarında bariyer görevi görmektedir (Kanmani vd., 2011). Bununla birlikte, protein, fosfat gibi moleküllerin depolanmasını ve genetik bilginin korunmasını sağlamaktadır (Singh vd., 2011). EPS, biyofilm oluşumunu sağlayarak patojenlere karşı hücreyi koruyucu etki göstermektedir. LAB tarafından üretilen EPS, gıda endüstrisinde kıvam verici, stabilizatör, emülgatör, nem tutucu ve jelleştirme ajanı olarak kullanılmaktadır (Bengoa vd., 2018). Gıda ürünlerine kazandırdığı teknolojik özelliklerin yanı sıra, EPS antiülser, antitümör, antimitojenik, bağışıklık sistemini geliştirici, kolesterol düşürücü, kardiyovasküler ve gastrointestinal hastalıkları önleyici gibi sağlık üzerine olumlu etkiler göstermektedir (Xu vd., 2019; Nataraj vd., 2020; Wang vd., 2020).

### Bakteriyosin

Bakteriyosinler, mikroorganizmalar tarafından ribozomal olarak sentezlenen peptit ya da protein yapısındaki bileşiklerdir. Etki spektrumları bazı türlerle sınırlı olup, daha çok Gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde etkilidir ve genellikle üretici suşa yakın türlere karşı antimikrobiyal etki gösterirler. Bakteriyosinler duyarlı mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Hücrenin sitoplazmik zarına bağlanarak, hücre içerisine girip zarı zarda gözenekler oluştururlar. Böylece düşük molekül ağırlığına sahip hücre bileşenlerinin hücre dışına sızmasına yol açarlar. Bununla birlikte, iyonların, özellikle de ATP kaybı ve hücre içi pH dengesinin korunmasında etkili olan potasyum iyonunun hücre dışına sızması, hücrede enerji tüketimine neden olmaktadır. Hücrede neden olan bu değişimler, DNA ve RNA gibi hücre içi hayati önemi olan makro moleküllerin degradasyonuna, bu moleküllerle birlikte protein ve peptidoglikan gibi biyolojik proseslerin inhibisyonuna yol açmaktadır (Singh, 2018).

### Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, LAB gibi katalaz negatif mikroorganizmalar tarafından flavoprotein oksidaz ve nikotinamid adenin hidroksi dinükleotid (NADH) peroksidazların etkisiyle aerobik şartlarda üretilmektedir. Hidrojen peroksit, DNA'da hasara neden olan süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi bakterisidal serbest radikallerin oluşumunu sağlamaktadır. Ayrıca, hidrojen peroksit laktoperoksidaz-tiyosiyanat-sistemi ile kullanıldığında patojenler üzerinde bakterisidal etki göstermektedir. Laktoperoksidaz varlığında tiyosiyanatın (SCN<sup>-</sup>) hidrojen peroksit tarafından oksidasyonu sonucu hipotiyosiyanat (OSCN<sup>-</sup>) açığa çıkmakta ve OSCN<sup>-</sup> hedef hücre membranında hasara neden olmaktadır (Welk vd., 2021).

LAB'nde katalaz enzimi bulunmadığı için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülü ortamda birikmektedir. Biriken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülü hedef hücrenin lipid membranı ve hücresel proteinlerini oksitlemektedir. Ayrıca, metabolik işlemlerde esansiyel olan enzimlerin sülfidril gruplarını oksitleyerek disülfid köprüleri oluşturmakta ve böylece mikroorganizmalara karşı antagonistik bir etki oluşturmaktadır. Güçlü bir oksitleyici bileşen olan hidrojen peroksit, bakteri, küf, maya ve virüsler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahiptir (Galvez vd., 2014).

### Diasetil

*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* tarafından üretilen diasetil, sitratın metabolize edilmesi sonucu meydana gelmektedir (Rincon-Delgadillo vd., 2012). Diasetil oluşumunda ilk olarak sitrat, permeaz enzimi ile hücre içine alınmakta ve sitrat liyaz enziminin etkisiyle asetat ve okzalasetat parçalanmaktadır. Oluşan okzalasetat ise okzalasetat dekarboksilaz enzimiyle pirüvata dönüştürülmekte ve ardından asetolaktat sintaz enziminin etkisiyle pirüvattan kararsız bir bileşik olan asetolaktat meydana gelmektedir. Asetolaktatın oksidatif dekarboksilasyonu sonucu ise diasetil oluşmaktadır. Endüstriyel öneme sahip bir özellik olan lezzet oluşumuna doğrudan katkıda bulunan diasetil, başta tereyağı olmak üzere taze peynirler ve kremanın karakteristik aroma maddesidir (Lew vd., 2013). Diasetil, Gram negatif bakterilerde

hücre bölünmesinde önemli rolü olan arjinin aminoasidine bağlanmakta ve ilgili proteinlerin kullanımını kısıtlayarak *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Yersinia enterocolitica* gibi Gram negatif bakterilere karşı inhibitif etki göstermektedir. Diasetil yaklaşık %0.1-0.25 oranında etki göstermektedir (Akbar vd., 2016).

### Reuterin

Reuterin, başta *Limosilactobacillus reuterii* olmak üzere *Levilactobacillus brevis*, *Lentilactobacillus buchneri*, *Secundilactobacillus collinoides* ve *Loigolactobacillus coryniformis* gibi heterofermantatif LAB'nin, gliserolü anaerobik koşullarda fermente etmesi sonucu oluşmaktadır (Dalié vd., 2010). Düşük molekül ağırlıklı, yüksek çözünürlükte ve nötral pH değerine sahip bir antimikrobiyal bileşiktir. Isıya, proteolitik ve lipolitik enzimlere dirençli olan reuterin, hedef mikroorganizma üzerine DNA replikasyonunu inhibe ederek etki göstermektedir (Stoyanova vd., 2012). Reuterin geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir ve enteropatojen, küf, maya, protozoa ve virüslere karşı güçlü etki göstermektedir. *Aspergillus* ve *Fusarium*'un gelişmesini engellemesi nedeniyle gıdalarda mikotoksin oluşumunun önlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte, reuterin *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomycopsis fibuligera* üzerine inhibisyon etki göstermektedir (Vieco-Saiz vd., 2019). Reuterin üretimi sadece gliserol bulunan ortamda gerçekleştiği için gıda muhafazasında kullanımı sınırlıdır.

### Karbondioksit

Karbondioksit, heterofermantatif LAB tarafından heksoz fermentasyonunun yan ürünü olarak üretilmektedir. Karbondioksit, enzimatik dekarboksilasyon ile anaerobik bir ortam oluşturarak, gelişmek için oksijene ihtiyaç duyan mikroorganizmalar üzerine etki etmektedir. Karbondioksitin etki mekanizması dekarboksilaz ve süksinat dehidrogenaz enzimlerini inhibe etmesi ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, hücre zarının çift katlı lipid tabakasında biriken karbondioksit, zar yapısının geçirgenliğini bozarak antimikrobiyal etki sağlamaktadır (Kırma, 2016).

Karbondioksit, gıdalarda bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimini engellediği için modifiye atmosfer paketlemede temel bileşen olarak kullanılmaktadır. Gram negatif bakteriler, Gram pozitif bakterilere kıyasla karbondioksite karşı daha duyarlıdır (Galvez vd., 2014).

### Teikoik ve Lipoteikoik Asit

Teikoik ve lipoteikoik asit Gram pozitif bakterilerde bulunan önemli immünomodülör hücre duvarı bileşenleridir. Teikoik asit suda eriyebilen, fosfodiester bağlarıyla bağlanarak uzun zincirler oluşturan şeker-alkol-fosfat polimeridir. Hücre zarı lipidlerine kovalent bağ ile bağlı teikoik asitler lipoteikoik asit olarak adlandırılmaktadır (Mehta vd., 2023). Teikoik asit ve lipoteikoik asit hücre şeklinin belirlenmesi ve hücre bölünmesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar (Nataraj vd., 2020). Bu bileşenlerin, antitümör, antioksidan ve immünomodülör olmak üzere çeşitli biyoaktiviteler sergilediği bildirilmiştir (Ahn vd., 2019; Kim vd., 2019).

### Peptidoglikan

Peptidoglikan, N-asetil glikozamin ve N-asetil müramik asidin  $\beta$ -1-4 bağlarıyla bağlanması sonucu oluşan büyük bir moleküldür (Nataraj vd., 2020; Mehta vd., 2023). Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının %90'ı peptidoglikandan oluşurken, Gram negatif bakterilerin hücre duvarının yaklaşık %10'u peptidoglikandan oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda, peptidoglikanın antitümör, antimutajenik, antiproliferatif ve antienflamatuvar vb. sağlık üzerine önemli etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Fichera vd., 2016; Wang vd., 2018; Huang vd., 2020).

## PARAPROBİYOTİK VE POSTBİYOTİKLERİN GIDA ENDÜSTRİSİNDEKİ UYGULAMALARI

Paraprobiyotik ve postbiyotikler güvenilir, toksik etki göstermeyen, uzun raf ömrüne sahip ve standardize edilebilmesi nedeniyle gıda uygulamalarında potansiyel biyokoruyucu ve detoksifikasyon ajanı olarak değerlendirilmektedir (Moradi vd., 2021).

Gıdaların güvenilirliğinin sağlanması ve raf ömrünün artırılması amacıyla sentetik maddelere alternatif olarak doğal, geniş antimikrobiyal spektruma sahip, toksik etki göstermeyen paraprobiyotik ve postbiyotiklerin gıdalarda kullanımına yönelik çalışmalar artış göstermiştir (Çizelge 1). Yi vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *Lactiplantibacillus pentosus* MS031 suşundan elde edilen postbiyotiklerin taze meyvelere (pitaya, papaya, kivi, ananas ve kavun) bulaştırılan *Listeria monocytogenes*, *S. Typhi* ve *E. coli* (5 log KOB/g) üzerine inaktivasyon etkisi incelenmiş ve 4°C'de 10 günlük depolamanın ardından *L. monocytogenes* sayısının yaklaşık 2 logaritmik birim azaldığı, *S. Typhi* ve *E. coli* sayılarının ise tespit edilebilir limitin altına düştüğü belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, tüketime hazır yapraklı sebzeler (kırmızı pancar, horoz ibiği çiçeği, turp) *L. brevis* WK12 CFS WK12 ve *L. mesenteroides* WK32 CFS WK32 tarafından üretilen postbiyotikler (%5) ile 5 dakika yıkama işlemine tabi tutulmuştur. CFS WK12 ve CFS WK32 uygulaması ile toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB), koliform ve küf-maya sayıları sırasıyla 1.60 ve 1.03 log KOB/g, 1.02 ve 1.13 log KOB/g, 0.62 ve 0.79 log KOB/g azalmıştır (Lee vd., 2016). Yapılan diğer bir çalışmada, *L. plantarum* tarafından üretilen postbiyotiklerin dana eti yüzeyine inoküle edilen *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* üzerine inhibitif etkisi incelenmiş ve 4°C'de 14 saatlik depolamanın ardından mikroorganizma sayılarının sırasıyla 3.74 ve 2.3 log KOB/g azaldığı tespit edilmiştir (Arrioja-Bretón vd., 2020). Yapılan başka bir çalışmada, tavuk göğsü örnekleri *Pediococcus acidilactici* tarafından üretilen postbiyotikler (%10 ve 50) ile hazırlanan sıvılarda 3 dakika bekletilmiş ve vakum paketlemenin ardından 4°C'de 15 gün depolanmıştır. Depolamanın sonunda örneklerin TMAB ve toplam psikrofilik aerobik bakteri (TPAB) sayılarında kontrol örneğine kıyasla farklılık olmadığı tespit edilirken, LAB sayılarının ise %10 ve %50 postbiyotik uygulaması ile sırasıyla 0.06 ve 0.77 log KOB/g azaldığı belirlenmiştir (İncili vd., 2021). Yapılan başka bir çalışmada, kurdele balığı örnekleri *L. plantarum* SKD4 ve *P. stilesii* SKD11 tarafından üretilen postbiyotikler (SKD4 ve SKD11) içerisinde 30 dakika bekletilmiş, ardından

4°C'de 120 gün ve 25°C'de 48 saat depolanmıştır. 4°C'de 120 gün depolamanın ardından örneklerin TMAB sayıları 3.58-3.62 log KOB/g aralığında azalırken, 25°C'de 48 saat depolamanın ardından örneklerin TMAB sayılarının ise 3.62-4.64 log KOB/g aralığında azaldığı tespit edilmiştir (Jo vd., 2021). Yapılan diğer bir çalışmada, süt örneklerine  $5 \times 10^5$  KOB/mL düzeyinde *Bacillus cereus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* inoküle edilmiştir. *B. cereus* inoküle edilen süt örneklerine *L. plantarum* PFC339 tarafından üretilen bakteriyosin PFC339 (100 AU/mL), *L. monocytogenes* inoküle edilen örnekler *Enterococcus faecalis* PFC340 tarafından üretilen bakteriyosin PFC340 (100 AU/mL), *S. aureus* inoküle edilen örnekler *L. lactis* PFC341 tarafından üretilen bakteriyosin PFC341 (100 AU/mL) ilave edilmiş ve örnekler 4°C'de 7 gün depolanmıştır. Depolamanın sonunda süt örneklerinin *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* sayılarının sırasıyla 1.5, 3.0 ve 2.0 log KOB/mL azaldığı tespit edilmiştir (Kaya ve Simsek, 2019). Yapılan başka bir çalışmada, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 ve *L. acidophilus* ATCCSD 5221'in inaktivasyonu amacıyla hücreler otoklavda 121°C'de 15 dakika ısı işleme maruz bırakılarak inaktive edilmiştir. Elde edilen paraprobiyotikler yoğurt örneklerine ilave edilmiş ve örneklerin reolojik ve duyuşal özelliklerinin geliştiği gözlemlenmiştir (Parvarei vd., 2021). Yapılan tüm bu çalışmalar, paraprobiyotik ve postbiyotiklerin gıdaların güvenilirliğinin sağlanması ve kalitesinin artırılmasında önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

## PARAPROBİYOTİK VE POSTBİYOTİKLERİN FARMAKOLOJİ ALANINDAKİ UYGULAMALARI

Paraprobiyotik ve postbiyotikler sağlığı iyileştirici özelliklere sahip olmaları nedeniyle farmakolojide üretilen tabletlerde kullanım alanı bulmaktadır (Gökırmaklı vd., 2021). Günümüzde bazı hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kanıtlanmış etkileri olan ve ticari olarak üretilen paraprobiyotik ve postbiyotik ürünler takviye olarak kullanılmaktadır (Çizelge 2). *L. reuteri* DSMZ 17648 suşunun liyofilize edilmesiyle elde edilen Pylopass™ kapsülünün, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun kontrolünde etkili olduğu

bildirilmiştir (Mehling ve Busjahn, 2013; Buckley vd., 2018). Lacteol® Fort kapsülü *L. acidophilus* LB suşunun liyofilize edilmesiyle elde edilmektedir. Bu ürünün ishal tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir (Xiao vd., 2003; Liévin-Le Moal vd., 2007). CytoFlora® kapsülü, *Lacticaseibacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* DDS-1, *L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus*, *B. bifidum*, *B. infantis* ve *B. bulgaricus* suşlarının hücre duvarı bileşenlerini içermektedir. Bu kapsülün bağırsak homeostazının sürdürülmesinde ve bağışıklık yanıtının iyileştirilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Ray

vd., 2010). Diğer bir ürün olan Pro-Symbioflor®, *E. faecalis* DSM 16440 ve *E. coli* DSM 17252 suşlarının hücre lizatını içeren oral süspansiyondur. Bu ürünün gastrointestinal rahatsızlıkları iyileştirdiği ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği belirtilmiştir (Beimfohr, 2016). Hylak® Forte, *E. coli* DSM 4087, *E. faecalis* DSM 4086, *L. acidophilus* DSM 414 ve *L. helveticus* DS 4183 suşlarının çözünür metabolitlerini içermekte ve şişkinlik, ishal ve kabızlık gibi şikayetlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Patil vd., 2019).

Çizelge 1. Paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin gıda uygulamaları

Üretici mikroorganizma	Paraprobiyotik-Postbiyotik	Gıda örnekleri	Uygulama koşulları	Etki	Kaynaklar
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Liyofilize hücre (%3 ve %6)	Köfte	4°C'de 8 gün depolama	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ve <i>Listeria monocytogenes</i> sayılarının sırasıyla 2.54-2.56 ve 0.75-1.07 log KOB/g aralığında azaldığı belirlenmiştir.	İncili vd. (2023)
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Liyofilize CFS (25, 50 ve 100 mg/g)	Hamsi filetosu	6°C'de 15 gün depolama	25, 50 ve 100 mg/g liyofilize CFS uygulamaları ile <i>Clostridium botulinum</i> sayısının sırasıyla depolamanın 6., 5. ve 4. günlerinde tespit edilebilir limitin altında olduğu belirlenmiştir.	Hamad vd. (2022)
<i>Pediococcus acidilactici</i> (PA), <i>Lactilactobacillus sakei</i> + <i>Staphylococcus xylosum</i> (LS)	CFS PA (%10) CFS LS (%10)	Tavuk but	10 dakika daldırma işlemi 4°C'de 6 gün depolama	Depolamanın 6. gününde <i>Listeria monocytogenes</i> sayısı CFS LS uygulaması ile 0.5 log KOB/g azalırken, CFS PA uygulaması ile 0.4 log KOB/g artmıştır. <i>Salmonella</i> Typhimurium sayıları ise 1.1-1.8 log KOB/g aralığında azalmıştır.	İncili vd. (2022)
<i>Pediococcus acidilactici</i>	CFS (%10 ve %50)	Vakum paketlenmiş tavuk göğsü	3 dakika daldırma işlemi 4°C'de 15 gün depolama	<i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>Salmonella</i> Typhimurium sayıları sırasıyla 0.70-0.89 log KOB/g ve 0.79-0.93 log KOB/g aralığında azalmıştır.	İncili vd. (2021)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	CFS (%10)	Dana eti	4°C'de 14 saat marinasyon	<i>Listeria monocytogenes</i> ve <i>Salmonella</i> Typhimurium sayıları sırasıyla 3.74 ve 2.30 log KOB/g azalmıştır.	Arrijoja-Bretón vd. (2020)
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	CFS (%10)	Tavuk eti	5 dakika yıkama işlemi 4°C'de 15 gün depolama	Depolamanın 4. gününde <i>Clostridium perfringens</i> sayısı tespit edilebilir limitin altına düşmüştür.	Hamad vd. (2020)



<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>	Liyofilize hücre	Yoğurt	4°C'de 7 gün depolama	Viskozitenin azaldığı ve duyu özelliklerinin geliştiği tespit edilmiştir.	Parvarei vd. (2021)
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	CFS	Taze kesilmiş meyve salatası	10 dakika yıkama işlemi 4°C'de 10 gün depolama	Depolamanın sonunda <i>Listeria monocytogenes</i> sayısının yaklaşık 2 log KOB/g azaldığı, <i>Escherichia coli</i> ve <i>Salmonella</i> Typhi sayılarının tespit limitlerinin altına düştüğü tespit edilmiştir.	Yi vd. (2020)
<i>Lactobacillus salivarius</i> (LS), <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA)	Liyofilize CFS LS, Liyofilize CFS LA (10 ve 35 mg/g)	Kıyma	4°C'de 9 gün depolama	CFS LS ve CFS LA uygulaması ile TPAB sayıları sırasıyla 1.03-2.0 log KOB/g ve 1.0-1.5 log KOB/g aralığında azalmıştır.	Moradi vd. (2019)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Bakteriyosin (128 AU/mL)	Fermente chicha suyu	4°C'de 5 gün depolama	Bakteriyosin uygulaması ile <i>Escherichia coli</i> ve <i>Salmonella enterica</i> sayıları sırasıyla 3.54 ve 1.31 log KOB/mL azalmıştır.	Tenea ve Barrigas (2018)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Bakteriyosin Cys5-4 (128 AU/mL)	Fermente portakal suyu	25°C'de 5 gün depolama	Bakteriyosin uygulaması ile <i>Escherichia coli</i> ve <i>Salmonella enterica</i> sayıları sırasıyla 3.63 ve 1.76 log KOB/mL azalmıştır.	Tenea ve Barrigas (2018)

\*CFS: hücre içermeyen supernatant

Çizelge 2. Ticari olarak üretilen paraprobiyotikler ve postbiyotikler (Cuevas-González vd., 2020)

Ürün	Üretici mikroorganizma	Paraprobiyotik-Postbiyotik	Etki	Şirket-Ülke
Bactistatin®	<i>Bacillus subtilis</i> VKPM V-2335	CFS*	Bağırsak mikrobiyotasını düzenler.	Kraft- Rusya
CytoFlora®	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	Hücre bileşenleri	duvarı Bağırsaklık sistemini düzenler.	BioRay Inc.- ABD
Del-Immune V®	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> DV	Peptidoglikan DNA fragmenti	ve Mide-bağırsak rahatsızlıklarını önler.	Pure Research Products-ABD
Hylak® Forte	<i>Escherichia coli</i> DSM 4087, <i>Enterococcus faecalis</i> DSM 4086, <i>Lactobacillus acidophilus</i> DSM 414, <i>Lactobacillus helveticus</i> DS 4183	CFS	Bağırsak patojenlerine karşı antimikrobiyal etki gösterir.	Ratiopharm/Merckle- Almanya
Lacteol® Fort	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LB	Liyofilize hücre	İshal tedavisinde etkilidir.	Carnot Laboratories-Fransa
Pro-Symbioflor®	<i>Enterococcus faecalis</i> DSM16440, <i>Escherichia coli</i> DSM 17252	CFS	Mide-bağırsak rahatsızlıklarını önler. Bağırsaklık sistemini düzenler.	SymbioPharm-Almanya

## PARAPROBİYOTİK VE POSTBİYOTİKLERİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda paraprobiyotik ve postbiyotiklerin antimikrobiyal, antienflamatuvar, antihipertansif, hiperkolesterolemi, antiproliferatif, antioksidan ve immünomodülatör gibi birçok etkisinin olduğu bildirilmiştir (Çizelge 3). Bununla birlikte, paraprobiyotikler ve postbiyotikler bağırsak mikrobiyotasının sağlığı açısından önemli işlevlere sahiptir (Uğur vd., 2021). Yapılan bir çalışmada, ısı işlem ile inaktive edilen *L. paracasei* suşunun bağırsak sistemini olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir (Arai vd., 2018). Maghsood vd. (2020), ısı işlem ve sonikasyon işlemleri ile inaktive edilmiş *L. reuteri* PTCC 1655 hücrelerinin kolon kanserini baskıladığını bildirmiştir. Kawase vd. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, ısı ile inaktive edilmiş *L. gasseri* TMC0356 suşunun,

H1N1 grip virüsünün neden olduğu enfeksiyona karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, elde edilen bu paraprobiyotüğün lokal ve sistemik bağırsaklık tepkilerini uyarak enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı ve hücre bileşenlerinin, bağırsak ve solunum sisteminin bağırsaklık tepkilerini artırarak viral enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir. Koscik vd. (2018), *L. rhamnosus* GR-1 suşundan elden edilen hücre içermeyen süpernatantların immünomodülatör etki gösterdiğini raporlamıştır. Lindström vd. (2012), *P. parvulus* tarafından üretilen EPS'nin kolesterol düşürücü ve immünomodülatör etkilere sahip olduğunu bildirmiştir. Wang vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. fermentum* S1 suşunun ürettiği EPS'nin antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan tüm bu çalışmalar, paraprobiyotik ve postbiyotiklerin sağlık üzerine önemli etkilere sahip olduklarını ortaya koymaktadır.

Çizelge 3. Paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin biyoaktif etkileri üzerine yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar

Üretici mikroorganizma	Paraprobiyotik-Postbiyotik	Çalışma ortamı	Biyolojik etki	Kaynaklar
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> HF06	CFS ve inaktif hücre (ısı işlem)	In vivo	Antienflamatuvar	Liu vd. (2023)
<i>Lactocaseibacillus casei</i>	CFS ve inaktif hücre (ısı işlem)	In vitro	Antitümör	Elham vd. (2022)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	İnaktif hücre (ısı işlem)	In vivo	Antienflamatuvar	Kye vd. (2022)
<i>Lactocaseibacillus casei</i> 01	İnaktif hücre (ohmik ısıtma)	In vivo	Hipoglisemik aktivitenin düzenlenmesi	Barros vd. (2021)
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Ekzopolisakkarit	In vitro	Antioksidan	Wang vd. (2020)
<i>Lentilactobacillus buchneri</i> TCP016	Ekzopolisakkarit	In vivo	Karaciğer hasarını azaltıcı	Xu vd. (2019)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> OLL1073R-1	Ekzopolisakkarit	Bağırsak epitel hücre	Antiviral	Kanmani vd. (2018)
<i>Lactobacillus</i> spp.	Kısa zincirli yağ asitleri	In vivo	Bağırsak disbiyozunun iyileştirilmesi	Nagpal vd. (2018)
<i>Lactocaseibacillus casei</i>	Biyosülfaktanlar	In vitro insan epitel hücre dizisi	Antioksidan ve antiproliferatif	Merghni vd. (2017)
<i>Lactobacillus jensenii</i> <i>Lactobacillus gasseri</i>	Biyosülfaktanlar	In vitro	Antimikrobiyal	Morais vd. (2017)
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> GG	CFS	İnsan kolonik düz kas hücreleri	Antienflamatuvar	Cicenia vd. (2016)
<i>Lactocaseibacillus casei</i>	Peptidoglikan	Kanser hücre dizileri	Antitümör	Fichera vd. (2016)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	CFS	In vitro	Antimikrobiyal	Kareem vd. (2014)
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> KF5	Ekzopolisakkarit	In vitro	Bağırsaklık uyarıcı	Shao vd. (2014)

\*CFS: hücre içermeyen süpernatant

## SONUÇ

Son yıllarda, inaktif mikroorganizmalar olarak bilinen paraprobiyotiklerin ya da canlı bakterilerden salınan veya bakteriyel parçalanma sonrasında ortaya çıkan metabolik yan ürünler olan postbiyotiklerin, gıda ve farmakoloji endüstrisinde kullanımına yönelik çalışmalar artış göstermiştir. Paraprobiyotik ve postbiyotiklerin konakçının bağırsak sağlığını düzenleme ve immün sistemini güçlendirme gibi birçok sağlık etkisine sahip olduğu bildirilmektedir. Paraprobiyotik ve postbiyotik kavramları için herhangi bir bilimsel kurum tarafından net bir ayırım gözeterek tanımlama yapılmamış olması, literatürde kafa karışıklığına neden olmaktadır. Bu derlemede de belirtildiği gibi, bazı araştırmacılar inaktivasyon yöntemi uygulandığında hücre yapısının bozulup bozulmamasını dikkate alarak paraprobiyotik ve postbiyotikleri tanımlamaktadır. Bununla birlikte, diğer araştırmacılar postbiyotiklerin paraprobiyotikleri de kapsayan bir kategoriye temsil ettiklerini bildirmektedir. Ayrıca, bu araştırmacılar paraprobiyotikleri postbiyotiklerin bir alt grubu olarak kabul etmekte ve bu iki terimi postbiyotikler kategorisi altında incelemektedir. Bu kavramlar arasında daha net bir ayırım yapılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni paraprobiyotik ve postbiyotiklerin keşfi, güvenli dozları, etki mekanizmaları ve bileşenlerin kimyasal yapılarına yönelik metabolik ve klinik çalışmalar yapılması gerekmektedir. Paraprobiyotik ve postbiyotiklerin gıda ve farmakoloji alanında kullanımına yönelik ve ayrıca klinik ve koruyucu etkilerini desteklemek amacıyla daha fazla in vitro ve in vivo çalışmalar yapılması önem arz etmektedir.

## YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar derlemenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okumuş ve onaylamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

## KAYNAKLAR

- Ahn, J.E., Kim, H., Chung, D.K. (2019). Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* maintains inflammatory homeostasis through regulation of Th1-and Th2-induced cytokines. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 29(1): 151-159. doi: 10.4014/jmb.1809.09001.
- Akbar, A., Ali, I., Anal, A.K. (2016). Industrial perspectives of lactic acid bacteria for biopreservation and food safety. *Journal Animal and Plant Sciences* 26: 938-948.
- Arai, S., Iwabuchi, N., Takahashi, S., Xiao, J.Z., Abe, F., Hachimura, S. (2018). Orally administered heat-killed *Lactobacillus paracasei* MCC1849 enhances antigen-specific Iga secretion and induces follicular helper T cells in mice. *PLoS one* 13(6): 0199018. doi:10.1371/journal.pone.0199018.
- Arrijoja-Bretón, D., Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A. (2020). Antimicrobial activity and storage stability of cell-free supernatants from lactic acid bacteria and their applications with fresh beef. *Food Control* 115: 107286. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107286
- Barros, C.P., Guimaraes, J.T., Esmerino, E.A., Duarte, M.C.K., Silva, M.C., Silva, R., Ferreira, B.M., Sant'Ana, A.S., Freitas, M.Q., Cruz, A.G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: Concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science* 32: 1-8. doi: 10.1016/j.cofs.2019.12.003.
- Barros, C.P., Grom, L.C., Guimarães, J.T., Balthazar, C.F., Rocha, R.S., Silva, R., Almada, C. N., Pimentel, T.C., Venancio, E.L., Junior, I.C., Maciel, P.M.C., Freitas, M.Q., Esmerino, E.A., Silva, M.C., Duarte, M.C.K.H., Sant'Ana, A.S., Cruz, A.G. (2021). Paraprobiotic obtained by ohmic heating added in whey-grape juice drink is effective to control postprandial glycemia in healthy adults. *Food Research International* 140: 109905. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109905.
- Beimfohr, C. (2016). A review of research conducted with probiotic *E. coli* marketed as symbioflor. *International Journal of Bacteriology* 2016: 3535621. doi: 10.1155/2016/3535621.

- Bengoa, A.A., Llamas, M.G., Iraporda, C., Dueñas, M.T., Abraham, A.G., Garrote, G.L. (2018). Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food Microbiology* 69: 212-218. doi: 10.1016/j.fm.2017.08.012.
- Buckley, M., Lacey, S., Doolan, A., Goodbody, E., Seamans, K. (2018). The effect of *Lactobacillus reuteri* supplementation in *Helicobacter pylori* infection: a placebo-controlled, single-blind study. *BMC Nutrition* 4(1): 1-8. doi: 10.1186/s40795-018-0257-4.
- Canfora, E.E., Jocken, J.W., Blaak, E.E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology* 11(10): 577-591. doi: 10.1038/nrendo.2015.128.
- Cicenia, A., Santangelo, F., Gambardella, L., Pallotta, L., Iebba, V., Scirocco, A., Marignani, M., Tellan, G., Carabotii, M., Corazziari, E.S., Schippa, S., Severi, C. (2016). Protective role of postbiotic mediators secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG versus lipopolysaccharide-induced damage in human colonic smooth muscle cells. *Journal of Clinical Gastroenterology* 50: 140-144. doi: 10.1097/MCG.0000000000000681.
- Cuevas-González, P.F., Liceaga, A.M., Aguilar-Toalá, J.E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Research International* 136: 109502. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109502.
- Dalié, D.K.D., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F. (2010). Lactic acid bacteria-potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control* 21(4): 370-380. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.07.011.
- de Almada, C.N., Almada, C.N., Martinez, R., Sant'Ana, A. (2016). Paraprobiotics: Evidence on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science & Technology* 58: 96-114. doi: 10.1016/j.tifs.2016.09.011.
- Elham, N., Naheed, M., Elahe, M., Hossein, M.M., Majid, T. (2022). Selective cytotoxic effect of probiotic, paraprobiotic and postbiotics of *L. casei* strains against colorectal cancer cells: *in vitro* studies. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 58: e19400. doi: 10.1590/s2175-97902022e19400.
- Fichera, G.A., Fichera, M., Milone, G. (2016). Antitumoural activity of a cytotoxic peptide of *Lactobacillus casei* peptidoglycan and its interaction with mitochondrial-bound hexokinase. *Anti-Cancer Drugs* 27(7): 609. doi: 10.1097/CAD.0000000000000367.
- Galvez, A., López, R.L., Pulido, R.P., Burgos, M.J.G. (2014). Natural antimicrobials for food biopreservation. *Food Biopreservation*, New York: Springer.
- Gill, P.A., Van Zelm, M.C., Muir, J.G., Gibson, P.R. (2018). Short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 48(1): 15-34. doi: 10.1111/apt.14689.
- Gökırmaklı, Ç., Üçgül, B., Seydim, Z. (2021). Fonksiyonel gıda kavramına yeni bir bakış: Postbiyotikler. *Gıda* 46(4): 872-882. doi: 10.15237/gida.GD21035.
- Hamad, G.M., Abdelmotilib, N.M., Darwish, A.M., Zeitoun, A.M. (2020). Commercial probiotic cell-free supernatants for inhibition of *Clostridium perfringens* poultry meat infection in Egypt. *Anaerobe* 62: 102181. doi: 10.1016/j.anaerobe.2020.102181.
- Hamad, G., Ombarak, R.A., Eskander, M., Mehany, T., Anees, F.R., Elfayoumy, R.A., Omar, S.A., Lorenzo, J.M., Abou-Alella, S.A.E. (2022). Detection and inhibition of *Clostridium botulinum* in some Egyptian fish products by probiotics cell-free supernatants as bio-preservation agents. *LWT-Food Science and Technology* 163: 113603. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113603.
- Huang, J., Li, J., Li, Q., Li, L., Zhu, N., Xiong, X., Li, G. (2020). Peptidoglycan derived from *Lactobacillus rhamnosus* MLGA up-regulates the expression of chicken  $\beta$ -defensin 9 without triggering an inflammatory response. *Innate Immunity* 26(8): 733-745. doi: 10.1177/1753425920949917.

- İcier, S., Güzelcan, C., Hıdır, Ş., Türköz, B.K. (2022). Postbiyotikler ve gıda endüstrisinde kullanım alanları. *Gıda* 47(2): 252-265. doi: 10.15237/gıda.GD21145.
- İncili, G.K., Karatepe, P., Akgöl, M., Kaya, B., Kanmaz, H., Hayaloğlu, A.A. (2021). Characterization of *Pediococcus acidilactici* postbiotic and impact of postbiotic-fortified chitosan coating on the microbial and chemical quality of chicken breast fillets. *International Journal of Biological Macromolecules* 184: 429-437. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.106.
- İncili, G.K., Karatepe, P., Akgöl, M., Güngören, A., Koluman, A., İlhak, O.İ., Kanmaz, H., Kaya, B., Hayaloğlu, A.A. (2022). Characterization of lactic acid bacteria postbiotics, evaluation *in-vitro* antibacterial effect, microbial and chemical quality on chicken drumsticks. *Food Microbiology* 104: 104001. doi: 10.1016/j.fm.2022.104001.
- İncili, G.K., Akgöl, M., Karatepe, P., Kanmaz, H., Kaya, B., Tekin, A., Hayaloğlu, A.A. (2023). Inhibitory effect of bioactive compounds derived from freeze-dried paraprobiotic of *Pediococcus acidilactici* against food-borne pathogens: In-vitro and food model studies. *Food Research International* 170: 113045. doi: 10.1016/j.foodres.2023.113045.
- Jo, D.M., Park, S.K., Khan, F., Kang, M.G., Lee, J.H., Kim, Y.M. (2021). An approach to extend the shelf life of ribbonfish fillet using lactic acid bacteria cell-free culture supernatant. *Food Control* 123: 107731. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107731.
- Kamilya, D., Baruah, A., Sangma, T., Chowdhury, S., Pal, P. (2015). Inactivated probiotic bacteria stimulate cellular immune responses of Catla, *Catla catla* (Hamilton) *in vitro*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 7: 101-106. doi: 10.1007/s12602-015-9191-9.
- Kanmani, P., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V., Arul, V. (2011). Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* P180 and its functional characteristics activity *in vitro*. *Bioresource Technology* 102(7): 4827-4833. doi: 10.1016/j.biortech.2010.12.118.
- Kanmani, P., Albarracin, L., Kobayashi, H., Iida, H., Komatsu, R., Kober, A.H., Ikeda-Ohtsubo, W., Suda, Y., Aso, H., Makino, S., Kano, H., Saito, T., Villena, J., Kitazawa, H. (2018). Exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* OLL1073R-1 modulate innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells. *Molecular Immunology* 93: 253-265. doi: 10.1016/j.molimm.2017.07.009.
- Kareem, K.Y., Hooi Ling, F., Teck Chwen, L., May Foong, O., Anjas Asmara, S. (2014). Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. *Gut Pathogens* 6(1): 1-7. doi: 10.1186/1757-4749-6-23.
- Kawase, M., He, F., Miyazawa, K., Kubota, A., Yoda, K., Hiramatsu, M. (2012). Orally administered heat-killed *Lactobacillus gasseri* TMC0356 can upregulate cell-mediated immunity in senescence-accelerated mice. *FEMS Microbiology Letters* 326: 125-130. doi: 10.1111/j.1574-6968.2011.02440.x.
- Kaya, H.I., Simsek, O. (2019). Characterization of pathogen-specific bacteriocins from lactic acid bacteria and their application within cocktail against pathogens in milk. *LWT-Food Science and Technology* 115: 108464. doi: 10.1016/j.lwt.2019.108464.
- Kim, A.R., Ahn, K.B., Yun, C.H., Park, O.J., Perinpanayagam, H., Yoo, Y.J., Kum, K.Y., Han, S.H. (2019). *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits oral multispecies biofilm. *Journal of Endodontics* 45(3): 310-315. doi: 10.1016/j.joen.2018.12.007.
- Kırma, İ. (2016). Gıda kaynaklı laktik asit bakterileri kullanılarak ekzopolisakkarit üretimi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 105 s.
- Koscik, R.J., Reid, G., Kim, S.O., Li, W., Challis, J.R., Bocking, A.D. (2018). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 Supernatant on cytokine and chemokine output from human amnion cells treated with lipoteichoic acid and

- lipopolysaccharide. *Reproductive Sciences* 25(2): 239-245. doi: 10.1177/1933719117711259.
- Kye, Y.J., Lee, S.Y., Kim, H.R., Lee, B.H., Park, J.H., Park, M.S., Ji, G.E., Sung, M.K. (2022). *Lactobacillus acidophilus* PIN7 paraprobiotic supplementation ameliorates DSS-induced colitis through anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Journal of Applied Microbiology* 132(4): 3189-3200. doi: 10.1111/jam.15406.
- Lee, K.J., Park, H.W., Choi, E.J., Chun, H.H. (2016). Effects of CFSs produced by lactic acid bacteria in combination with grape seed extract on the microbial quality of ready-to-eat baby leaf vegetables. *Cogent Food & Agriculture* 2(1): 1268742. doi: 10.1080/23311932.2016.1268742.
- Lew, L.C., Gan, C.Y., Liong, M.T. (2013). Dermal bioactives from lactobacilli and bifidobacterial. *Annals of Microbiology* 63(3): 1047-1055. doi: 10.1007/s13213-012-0561-1.
- Li, Q., Cao, L., Tian, Y., Zhang, P., Ding, C., Lu, W., Wang, D., Ye, H., Hao, H. (2018). Butyrate suppresses the proliferation of colorectal cancer cells via targeting pyruvate kinase M2 and metabolic reprogramming. *Molecular & Cellular Proteomics* 17(8): 1531-1545. doi: 10.1074/mcp.RA118.000752.
- Liévin-Le Moal, V., Sarrazin-Davila, L.E., Servin, A.L. (2007). An experimental study and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the antisecretory activity of *Lactobacillus acidophilus* strain LB against nonrotavirus diarrhea. *Pediatrics* 120(4): e795-e803. doi: 10.1542/peds.2006-2930.
- Lindström, C., Holst, O., Nilsson, L., Öste, R., Andersson, K.E. (2012). Effects of *Pediococcus parvulus* 2.6 and its exopolysaccharide on plasma cholesterol levels and inflammatory markers in mice. *AMB Express* 2(1): 1-9. doi: 10.1186/2191-0855-2-66.
- Liu, C., Qi, X., Li, D., Zhao, L., Li, Q., Mao, K., Shen, G., Ma, Y., Wang, R. (2023). *Limosilactobacillus fermentum* HF06-derived paraprobiotic and postbiotic alleviate intestinal barrier damage and gut microbiota disruption in mice with ulcerative colitis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 104(3): 1702-1712. doi: 10.1002/jsfa.13057.
- Lynch, K.M., Zannini, E., Coffey, A., Arendt, E.K. (2018). Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology* 9: 155-176. doi: 10.1146/annurev-food-030117-012537.
- Maghsood, F., Johari, B., Rohani, M., Madanchi, H., Saltanatpour, Z., Kadivar, M. (2020). Antiproliferative and anti-metastatic potential of high molecular weight secretory molecules from probiotic *Lactobacillus reuteri* cell-free supernatant against human colon cancer stem-like cells (ht29-she). *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 26: 2619-2631. doi: 10.1007/s10989-020-10049-z.
- Mehling, H., Busjahn, A. (2013). Non-viable *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17648 (Pylopass™) as a new approach to *Helicobacter pylori* control in humans. *Nutrients* 5(8): 3062-3073. doi: 10.3390/nu5083062.
- Mehta, J.P., Ayakar, S., Singhal, R.S. (2023). The potential of paraprobiotics and postbiotics to modulate the immune system: A Review. *Microbiological Research* 127449.
- Merghni, A., Dallel, I., Noumi, E., Kadmi, Y., Hentati, H., Tobji, S., Amor, A.B., Mastouri, M. (2017). Antioxidant and antiproliferative potential of biosurfactants isolated from *Lactobacillus casei* and their anti-biofilm effect in oral *Staphylococcus aureus* strains. *Microbial Pathogenesis* 104: 84-89. doi: 10.1016/j.micpath.2017.01.017.
- Moradi, M., Tajik, H., Mardani, K., Ezati, P. (2019). Efficacy of lyophilized cell-free supernatant of *Lactobacillus salivarius* (Ls-BU2) on *Escherichia coli* and shelf life of ground beef. *Veterinary Research Forum* 10(3): 193-198. doi: 10.30466/vrf.2019.101419.2417.
- Moradi, M., Molaei, R., Guimarães, J.T. (2021). A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology* 143: 109722. doi: 10.1016/j.enzmctec.2020.109722.

- Morais, I.M.C., Cordeiro, A.L., Teixeira, G.S., Domingues, V.S., Nardi, R.M.D., Monteiro, A.S., Alves, R.J., Siqueira, E.P., Santos, V.L. (2017). Biological and physicochemical properties of biosurfactants produced by *Lactobacillus jensenii* P 6A and *Lactobacillus gasserii* P 65. *Microbial Cell Factories* 16: 1-15. doi: 10.1186/s12934-017-0769-7.
- Nagpal, R., Wang, S., Ahmadi, S., Hayes, J., Gagliano, J., Subashchandrabose, S., Kitzman, D. W., Becton, T., Read, R., Yadav, H. (2018). Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports* 8(1): 12649. doi: 10.1038/s41598-018-30114-4.
- Nurko, E., Nakilcioğlu, E. (2023). Gıda endüstrisinde simbiyotikler, postbiyotikler ve paraprobiyotikler. *Gıda* 48(1): 144-159. doi: 10.15237/gida.GD22089.
- Nataraj, B.H., Ali, S.A., Behare, P.V., Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial Cell Factories* 19(1): 1-22. doi: 10.1186/s12934-020-01426-w.
- Parvarei, M.M., Khorshidian, N., Fazeli, M.R., Mortazavian, A.M., Nezhad, S.S., Mortazavi, A.S. (2021). Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on physicochemical, chemometric and microstructural properties of yogurt. *LWT- Food Science and Technology* 144: 111177. doi: 10.1016/j.lwt.2021.111177.
- Patil, S., Sawant, S., Hauff, K., Hampp, G. (2019). Validated postbiotic screening confirms presence of physiologically-active metabolites, such as short-chain fatty acids, amino acids and vitamins in Hylak® Forte. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11: 1124-1131. doi: 10.1007/s12602-018-9497-5.
- Ray, S., Sherlock, A., Wilken, T., Woods, T. (2010). Cell wall lysed probiotic tincture decreases immune response to pathogenic enteric bacteria and improves symptoms in autistic and immune compromised children. *Explore* 19(1): 1-5.
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S.N., Penna, A.L.B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews* 4: 124-140. doi: 10.1007/s12393-012-9051-2.
- Rincon-Delgadillo, M.I., Lopez-Hernandez, A., Wijaya, I., Rankin, S.A. (2012). Diacetyl levels and volatile profiles of commercial starter distillates and selected dairy foods. *Journal of Dairy Science* 95(3): 1128-1139. doi: 10.3168/jds.2011-4834.
- Shao, L.I., Wu, Z., Zhang, H., Chen, W., Ai, L., Guo, B. (2014). Partial characterization and immunostimulatory activity of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* KF5. *Carbohydrate Polymers* 107: 51-56. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.02.037.
- Siciliano, R.A., Reale, A., Mazzeo, M.F., Morandi, S., Silveti, T., Brasca, M. (2021). Paraprobiotics: A new perspective for functional foods and nutraceuticals. *Nutrients* 13(4): 1225. doi: 10.3390/nu13041225.
- Singh, R.P., Shukla, M.K., Mishra, A., Kumari, P., Reddy, C.R.K., Jha, B. (2011). Isolation and characterization of exopolysaccharides from seaweed associated bacteria *Bacillus licheniformis*. *Carbohydrate Polymers* 84(3): 1019-1026. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.12.061.
- Singh, V.P. (2018). Recent approaches in food bio-preservation-a review. *Open Veterinary Journal* 8(1): 104-111. doi: 10.4314/ovj.v8i1.16.
- Stoyanova, L.G., Ustyugova, E.A., Netrusov, A.I. (2012). Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: their diversity and properties. *Applied Biochemistry and Microbiology* 48: 229-243. doi: 10.1134/S0003683812030143.
- Tenea, G.N., Barrigas, A. (2018). The efficacy of bacteriocin-containing cell-free supernatant from *Lactobacillus plantarum* Cys5-4 to control pathogenic bacteria growth in artisanal beverages. *International Food Research Journal* 25(5): 2031-2037.
- Uğur, E., Öner, Z., Bektas, A., Ulusoy, M. (2021). Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda* 46(2): 428-442. doi: 10.15237/gida.GD20141.
- Valerio, F., Bavaro, A.R., Di Biase, M., Lonigro, S.L., Logrieco, A.F., Lavermicocca, P. (2020). Effect of amaranth and quinoa flours on

- exopolysaccharide production and protein profile of liquid sourdough fermented by *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*. *Frontiers in Microbiology* 11: 967. doi: 10.3389/fmicb.2020.00967.
- Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., Drider, D. (2019). Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food-animal production. *Frontiers in Microbiology* 10: 57. doi: 10.3389/fmicb.2019.00057.
- Wang, S., Han, X., Zhang, L., Zhang, Y., Li, H., Jiao, Y. (2018). Whole peptidoglycan extracts from the *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* M5 strain exert anticancer activity *in vitro*. *BioMed Research International* 2018: 2871710. doi: 10.1155/2018/2871710.
- Wang, K., Niu, M., Song, D., Song, X., Zhao, J., Wu, Y., Lu, B., Niu, G. (2020). Preparation, partial characterization and biological activity of exopolysaccharides produced from *Lactobacillus fermentum* S1. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 129(2): 206-214. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.07.009.
- Welk, A., Patjek, S., Gärtner, M., Baguhl, R., Schwahn, C., Below, H. (2021). Antibacterial and antiplaque efficacy of a lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen-peroxide-system-containing lozenge. *BMC Microbiology* 21: 1-12. doi: 10.1186/s12866-021-02333-9.
- Xiao, S.D., De Zhang, Z., Lu, H., Jiang, S.H., Liu, H.Y., Wang, G.S., Xu, G.M., Zhang, Z.B., Lin, G.J., Wang, G.L. (2003). Multicenter, randomized, controlled trial of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB in patients with chronic diarrhea. *Advances in Therapy* 20: 253-260. doi: 10.1007/BF02849854.
- Xu, R., Aruhan, Xiu, L., Sheng, S., Liang, Y., Zhang, H., Liu, Y., Tong, H., Du, R., Wang, X. (2019). Exopolysaccharides from *Lactobacillus buchneri* TCP016 attenuate LPS-and d-GalN-induced liver injury by modulating the gut microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67(42): 11627-11637.
- Yi, L., Qi, T., Ma, J., Zeng, K. (2020). Genome and metabolites analysis reveal insights into control of foodborne pathogens in fresh-cut fruits by *Lactobacillus pentosus* MS031 isolated from Chinese Sichuan Paocai. *Postharvest Biology and Technology* 164: 111150. doi: 10.1016/j.postharvbio.2020.111150.





## SOĞUK PLAZMA TEKNOLOJİSİNİN MEYVE, SEBZE, ET, TAVUK VE SU ÜRÜNLERİNDEKİ UYGULAMALARI

**Murat ÖZDEMİR\***, Alpaslan Kerem ŞENGÜL,  
**Bartu BULAMACI, Berke TAŞDEMİR**

Gebze Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı,  
Gebze, Kocaeli, Türkiye

Geliş / Received 24.11.2023; Kabul / Accepted: 16.07.2024; Online baskı / Published online: 23.07.2024

Özdemir, M., Şengül, A. K., Bulamacı, B., Taşdemir, B. (2024). Soğuk plazma teknolojisinin meyve, sebze, et, tavuk ve su ürünlerindeki uygulamaları. GIDA (2024) 49 (4) 656-668 doi: 10.15237/gida.GD23133

Özdemir, M., Şengül, A. K., Bulamacı, B., Taşdemir, B. (2024). Applications of cold plasma technology in fruit, vegetable, meat, chicken and aquatic products. GIDA (2024) 49 (4) 656-668 doi: 10.15237/gida.GD23133

### ÖZ

Tüketiciler kimyasal maddeler içeren ve ısı olarak işlenmiş gıdaların yerine koruyucu içermeyen ve ısı işlem uygulanmamış gıdaları talep etmektedir. Tüketicilerin bu isteklerini karşılamak için ısı olmayan alternatif gıda işleme teknolojileri geliştirilmiş ancak, bu teknolojilerin etkinliği gıda kaynaklı mikroorganizmaların dirençli sporlar oluşturması ve toksin üretmesi nedeniyle sınırlı kalmaktadır. Yeni bir teknoloji olan soğuk plazma, özellikle gıda kaynaklı mikroorganizmaların ve sporların inaktivasyonunda ümit vadeden bir teknoloji olarak öne çıkmaktadır. Soğuk plazma teknolojisi, çok yönlü, etkin, ekonomik, kalıntı bırakmayan ve çevre dostu bir yöntem olması nedeniyle mikrobiyal inaktivasyon için konvansiyonel gıda işleme teknolojilerine göre önemli avantajlar da sağlamaktadır. Soğuk plazma teknolojisi ile gıdaların mikrobiyal yükü azaltılabilmekte, kaliteleri korunabilmekte ve raf ömürleri uzatılabilmektedir. Bu derleme çalışmasında soğuk plazma teknolojisi, soğuk plazma üretim yöntemleri, soğuk plazmanın mekanizması ile meyve, sebze, et, tavuk ve su ürünlerindeki mikroorganizmalar üzerindeki etkileri incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Soğuk plazma, ısı olmayan işlem, gıda güvenliği, gıda kalitesi, mikrobiyal inaktivasyon

## APPLICATIONS OF COLD PLASMA TECHNOLOGY IN FRUIT, VEGETABLE, MEAT, CHICKEN AND AQUATIC PRODUCTS

### ABSTRACT

Consumers demand preservative-free and not heat-treated foods instead of preservative containing and thermally processed foods. Alternative non-thermal food processing technologies have been developed to meet these demands of consumers, but the effectiveness of these technologies is limited due to the fact that foodborne microorganisms form resistant spores and produce toxins. Cold plasma, a new technology, stands out as a promising technology, especially in the inactivation of foodborne microorganisms and spores. Cold plasma technology also provides significant advantages over conventional food processing technologies for microbial inactivation as it is a versatile, efficient,

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ozdemirm@gtu.edu.tr

☎: (+90) 262 605 2109

☎: (+90) 262 605 2105

Murat Özdemir; ORCID no: 0000-0001-9025-3068

Alpaslan Kerem Şengül; ORCID no: 0009-0006-6019-1963

Bartu Bulamacı; ORCID no: 0009-0003-4805-9650

Berke Taşdemir; ORCID no: 0009-0001-4538-0292

economical, residue-free and environmentally friendly method. Cold plasma technology can reduce the microbial load of foods, preserve their quality and extend their shelf life. In this review, cold plasma technology, cold plasma production methods, mechanism of cold plasma and its effects on microorganisms in fruits, vegetables, meat, poultry and seafood were investigated.

**Keywords:** Cold plasma, non-thermal process, food safety, food quality, microbial inactivation

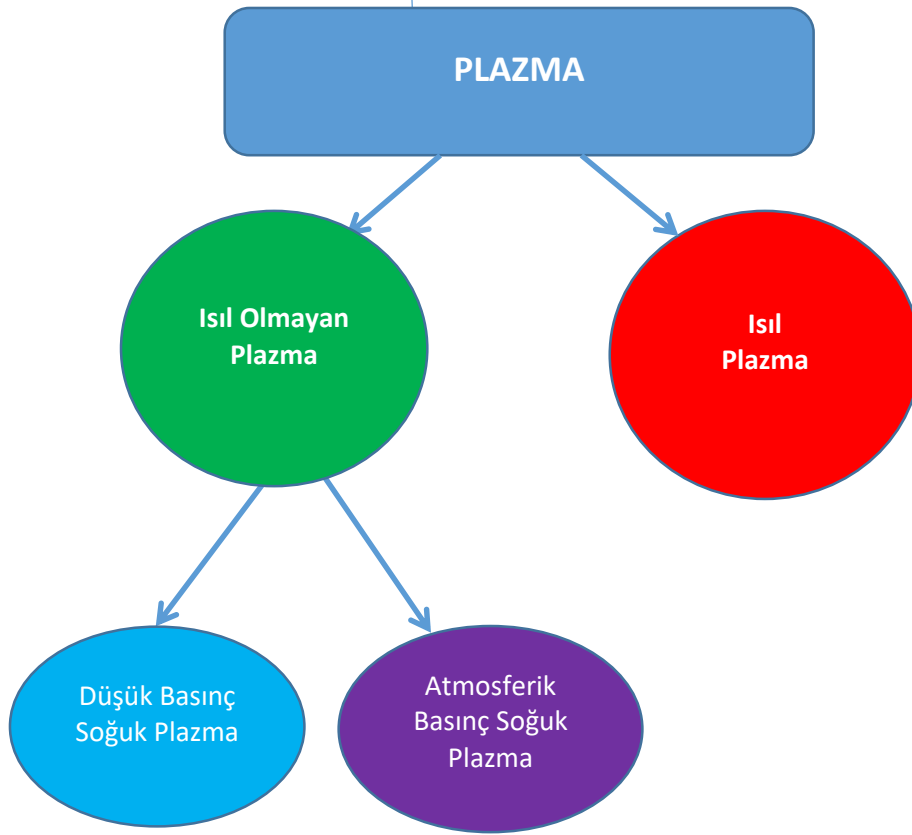
### GİRİŞ

Üretimden tüketime kadar olan birçok aşamada (hasat, hasat sonrası depolama, işleme ve ambalajlama, dağıtım, pazarlama ve satış, tüketim) gıda kayıpları olmaktadır. Gıda bilimi ve teknolojisi ile gıda ambalajlaması alanındaki gelişmelerin uygulanma şekli ülkeler arasında farklılıklar gösterdiğinden, gıda kayıpları da ürün ve ürün gruplarına bağlı olarak değişmektedir. Dünya nüfusunun hızlı artışı göz önünde bulundurulduğunda, gıda kayıplarının azaltılması büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla, yeni gıda işleme ve muhafaza teknolojileri ile ambalajlama tekniklerinin uygulanmasına ve yaygınlaşmasına ihtiyaç vardır. Yeni gıda işleme teknolojileri, gıdaların kalitesini iyileştirerek ve gıdalardaki aktif bileşikleri koruyarak gıdaların raf ömrünü artırmayı amaçlayan teknolojilerdir. Diğer yandan, yeni gıda işleme teknolojileri gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi ve gıda güvenliğinin sağlanması konularında da önemli katkılar sağlamaktadır (Gavahian ve Cullen, 2020; Gavahian ve Khaneghah, 2020; Zhu vd., 2020). Son yıllarda yeni gıda işleme teknolojilerinden biri olan soğuk plazma teknolojisi konusundaki çalışmalar ve gıda uygulamaları artış göstermiştir (Priyadarshini vd., 2019; Corradini, 2020).

Sir William Crookes, 1879 yılında ilk olarak plazmayı maddenin benzer gaz özelliklerine sahip dördüncü hali olarak keşfetmiş ve iyonize bir gaz olarak tanımlamıştır (Bogaerts vd., 2002). Daha sonra plazma terimi 1928 yılında Irving Langmuir tarafından ortaya atılmıştır (Raviteja vd., 2019; Bora vd., 2022). Plazma, ısı ve ısı olmayan plazma olarak ikiye ayrılır (Şekil 1). Isıl plazma; elektronlar, iyonlar ve nötr moleküller gibi parçacıkların termodinamik dengede bulunduğu koşullarda ve yüksek sıcaklıklardaki gazın ısıtılmasıyla elde edilen plazmadır (Fridman vd., 2008). Soğuk plazma olarak bilinen ısı olmayan plazma ise düşük sıcaklıklarda, normal atmosferik basınç veya vakum altında, ortamdaki gazlara elektrik akımı, elektromanyetik radyasyon veya

diğer enerji kaynaklarıyla verilen enerji sonucunda oluşan plazmadır (Ganesan vd., 2021; Nwabor vd., 2022).

Soğuk plazma uygulamasının en önemli amacı, mikroorganizma inaktivasyonu ile gıda güvenliğini sağlamak ve gıdanın kalitesini muhafaza etmektir (Sarangapani vd., 2017; Corradini, 2020). Soğuk plazma yüksek reaktiviteye sahip olması ve termodinamik olarak dengede olmaması sebebiyle, özellikle ısıya duyarlı gıda ürünleri için ısı yöntemlere kıyasla önemli avantajlar sunmaktadır (Sruthi vd., 2022; Farooq vd., 2023). Soğuk plazma teknolojisiyle bakteriler, virüsler, patojen mikroorganizmalar ve diğer mikroorganizma türlerinin inaktivasyonu, enzimlerin denatürasyonu ve toksinlerin dekontaminasyonu mümkün olabilmektedir (Shi vd., 2017; Birania vd., 2022; Mehta ve Yadav, 2022; Rao vd., 2023). Soğuk plazma teknolojisi ile meyveler, sebzeler, kırmızı et ve kanatlı etleri ile su ürünleri gibi birçok gıda ürününün rengi, aroması, tadı, görünümü ve bileşimi dahil olmak üzere fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri korunabilmektedir (Kulawik vd., 2018; Gavahian ve Khaneghah, 2020; Rana vd., 2020). Bu çalışmanın amacı; meyveler, sebzeler, kırmızı et, kanatlı etleri ile su ürünlerinin muhafazasında ve gıda güvenliğinin artırılmasında yeni bir gıda işleme teknolojisi olan soğuk plazma teknolojisinin etkinliğinin daha iyi anlaşılmasına ve uygulanmasına yönelik son yıllardaki gelişmelerle ilgili bilimsel çalışmaları sunmaktır. Bu çalışmanın soğuk plazma konusundaki diğer derleme çalışmalarından en önemli farkı, soğuk plazma teknolojisinin çeşitli gıda ürünlerindeki yenilikçi, gelişmiş ve güncel uygulamalarını vermesi sebebiyle, alternatif gıda muhafaza teknolojileri konularında çalışan bilim insanlarına ve gıda işleme sektöründeki uzmanlara bir kaynak görevi görmesidir.



Şekil 1. Plazma tipleri

### SOĞUK PLAZMA TEKNOLOJİSİ

Plazma terimi; serbest radikaller, elektronlar, elektromanyetik radyasyon kuantumları, pozitif ve negatif iyonlar, uyarılmış ve uyarılmamış molekülleri içeren maddenin dördüncü halini ifade eder (Laroque vd., 2022; Farooq vd., 2023; Monjazez Marvdashti vd., 2023). Soğuk plazma, ısı olmayan plazma ve denge dışı plazma gibi diğer isimlerle de bilinir. Genel olarak soğuk plazma, değişen frekans ve güçte hava, helyum, argon, oksijen, nitrojen ve karbondioksit gibi besleme gazları veya bu gazların karışımı ile üretilir (Ganesan vd., 2021; Bora vd., 2022). Üretilen bu plazma içerisindeki elektriksel yükü sahip parçacıklar ve reaktif bileşenler mikroorganizmalarda hücre hasarına ve inaktivasyona sebep olur (Stoffels vd., 2008; Laroque vd., 2022). Soğuk plazma; düşük sıcaklıklarda çalışmaya izin vermesi, ısıya duyarlı bileşenlere zarar vermemesi, toksik kalıntı bırakmaması, gıdaların besleyicilik değerini

olumsuz yönde etkilememesi, düşük enerji tüketimi ve basit ekipmanlar ile üretilebilmesi nedeniyle diğer yenilikçi gıda teknolojileriyle kıyaslandığında gıda sanayi tarafından daha fazla ilgi gören yenilikçi bir gıda işleme teknolojisidir (Farber vd., 2019; Scholtz vd., 2021).

Gıda işleme sanayinde plazma üretimi dielektrik bariyer deşarjı, plazma jeti, korona deşarjı, radyo frekans ve mikrodalga yöntemleri ile yapılabilir (Hage vd., 2022; Nwabor vd., 2022). Dielektrik bariyer deşarjı ve plazma jeti, gıda sanayinde en fazla kullanılan plazma üretim yöntemleridir (Mollakhalili-Meybodi vd., 2021; Mehta ve Yadav, 2022). Dielektrik bariyer deşarj ile plazma, iki metal elektrot (güçlendirilmiş bir elektrot ve bir toprak elektrotu) arasına uygulanan yüksek voltajla üretilir (Gao vd., 2023). Elektrotlardan biri veya her ikisi de polimer, cam, kuvars veya seramik gibi dielektrik bir malzeme ile kaplanmıştır ve aralarında 0.1 mm ile birkaç cm

arasında değişen değişken bir boşluk bulunur. Dielektrik bariyer malzemeler, elektrik deşarjının yere ulaşmasını önleyen ve plazmayı belirli bir alan içerisinde sınırlandıran yalıtkan malzemelerdir. Dielektrik bariyer deşarjı, soğuk plazma üretmenin en kolay yöntemlerinden biri olması, düşük gaz akış hızlarında çalışabilmesi, birden fazla gazın kullanımına uygun olması, değişken elektrot geometrilerine sahip olabilmesi ve birkaç metre boyunca tekdüze deşarj ateşlemesi yapabilmesi nedeniyle diğer plazma üretim yöntemlerine göre avantajlar sağlar (Laroque vd., 2022; Farooq vd., 2023). Dielektrik bariyer deşarjı, gıda güvenliğinden ve gıdaların besin değerinden ödün vermeden gıdalardaki mikroorganizmaları öldürmek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılan güvenli ve düşük maliyetli bir plazma üretim yöntemidir (Feizollahi vd., 2021).

Plazma jet cihazı, iki eşmerkezli elektrot ve elektrotlar arasından geçirilen bir gaz veya gaz karışımından oluşur. İç elektrot yüksek frekansa maruz bırakılır ve elektrotlar arasında 100-250 V seviyesinde bir potansiyel farkı oluşturularak gaz ve gaz karışımının iyonize olması sağlanır. İyonlaşmış gaz molekülleri bir nozul aracılığıyla, birkaç milimetre mesafede bulunan bir gıda ürününün yüzeyine doğru yönlendirilir. İyonize gaz jet şeklinde nozuldan çıktığı için plazma jeti olarak adlandırılmaktadır. Plazma jet yönteminin avantajları; küçük boyutta ve az yer kaplaması, hedeflenen ürüne kolay uygulanabilmesi ve dar boşluklara bile nüfuz etme yeteneğidir (Mollakhalili-Meybodi vd., 2021).

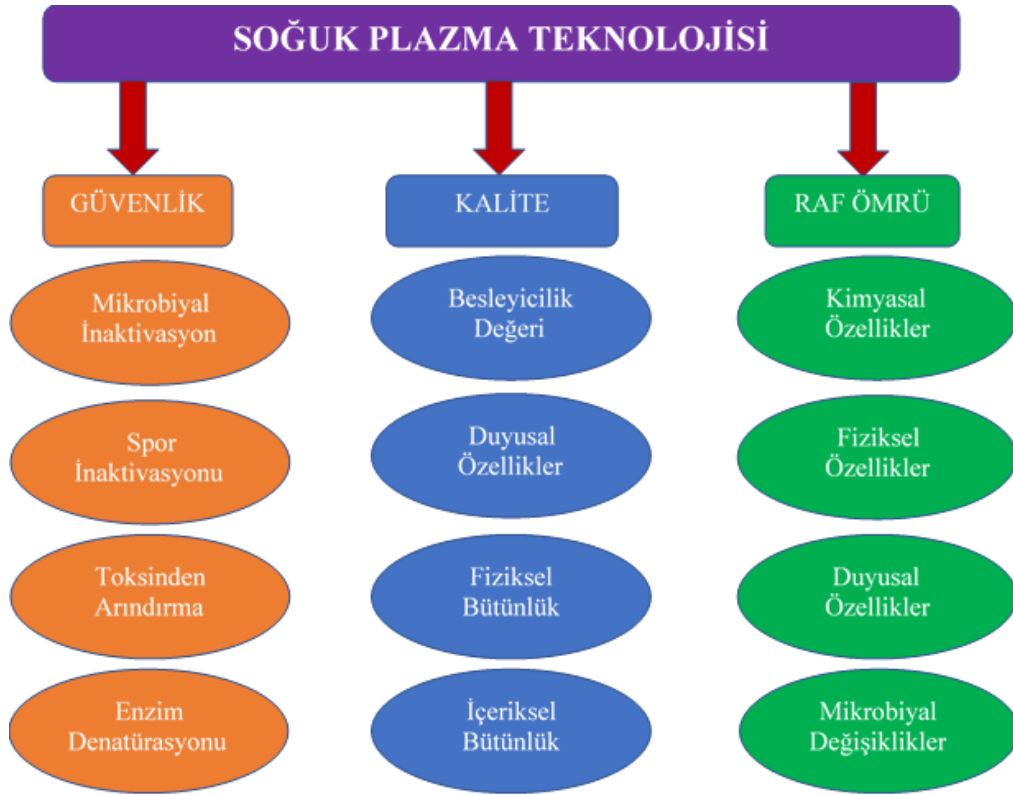
Korona deşarjı ile üretilen plazma, bir elektrot çevresinde yüksek voltaja sahip elektrik alanının oluşturulmasıyla, çevresindeki gazların atomlarındaki veya moleküllerindeki elektronları iyonize eden plazmayı ifade eder (Scholtz vd., 2015). Korona deşarj plazmasının homojen özelliklere sahip olmaması, tekdüze bir uygulama yapılmasını sınırlar (Nwabor vd., 2022). Bununla birlikte, tasarımının basit ve nispeten az maliyetli olması, özellikle yüzey sterilizasyonu ve mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Ekezie vd., 2017).

Radyo frekansı yöntemiyle plazma üretiminde, bir radyo frekansı üreticisi, iki metal elektrot ve içi gaz dolu bir ortama ihtiyaç vardır. Elektrotlardan biri radyo frekansı güç kaynağına bağlanır ve diğeri topraklanır. Elektrotlar arasındaki potansiyel fark, gazın iyonize edilerek plazmaya dönüşmesini sağlar. Plazma deşarjının üretimi elektrotun ucunda gerçekleşir (Mollakhalili-Meybodi vd., 2021).

Mikrodalga ile plazma, yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar kullanılarak üretilir. Elektrot tabanlı yöntemlerin aksine, bir magnetron işlem odasında mikrodalga deşarjlarını üretmek için kullanılır. Mikrodalga enerjisinin ürettiği ısı, gaz molekülleri tarafından emilerek gaz moleküllerinin çarpışmasını artırır ve gaz moleküllerinin iyonlaşmasına neden olur (Nwabor vd., 2022). Mikrodalga ile plazma üretiminin en büyük avantajı, plazmayı serbest havada iyonize etmek için elektrot gerektirmemesi ve gereksinim duyulan gaz ihtiyacını azaltmasıdır. Mikrodalga enerjisiyle üretilen plazmanın geniş bir bölgede kullanılabilmesi, bir dizi deşarj ünitesi ile mümkündür (Mehta ve Yadav, 2022).

### **SOĞUK ATMOSFERİK PLAZMANIN GIDA ÜRÜNLERİNDEKİ UYGULAMALARI**

Soğuk plazma teknolojisi, gıdalardaki mikroorganizmaları inaktive ederek gıdaların kalitesini koruyan, gıdaların raf ömrünü arttıran ve gıda güvenliğini sağlayan yenilikçi bir teknolojidir (Şekil 2). Soğuk plazmanın uygulama sonrası hücre hasarına sebep olduğu, zarar görmüş hücrelerin gelişimini engellediği ve mikroorganizmaların hücre içi bileşenlerine (DNA ve protein gibi) zarar verdiği belirlenmiştir (Guo vd., 2018; Gavahian ve Khaneghah, 2020; Hosseini vd., 2020). Soğuk atmosferik plazmanın gıdalarda bulunan Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler ile virüsler üzerinde etkili olduğu görülmüştür (Guo vd., 2018; Filipić vd., 2020; Han vd., 2020; Rao vd., 2023). Soğuk plazma teknolojisinin meyveler, sebzeler, et, tavuk ve su ürünleri üzerindeki etkileri aşağıda verilmiştir.



Şekil 2. Soğuk plazma ve etkileri

### Meyveler ve Sebzeler

Soğuk plazma, meyve ve sebze işleme sanayinde önemli kullanım alanı bulabilecek bir teknolojidir. Soğuk plazma teknolojisi ile özellikle meyve ve sebzelerin yüzeylerindeki mikroorganizma yükü azaltılabilmekte, ambalajlanmış taze meyve ve sebzelerin dekontaminasyonu yapılabilmektedir (Asl vd., 2022). Soğuk plazma uygulamasının taze meyve ve sebzelerde bulunan mikroorganizmalar üzerindeki etkisi Çizelge 1'de sunulmuştur. Başlangıç mezofil bakteri ve maya yükleri 4.5 log KOB/g seviyesinde olan taze kesilmiş havuçlara 100 kV değerinde, 60 Hz frekansta ve 5 dk. süreyle soğuk plazma uygulaması sonrası mezofil bakteri ve maya yükünde 2.1 log KOB/g düşüş olmuş, aynı zamanda havuçların tekstür ve karotenoid miktarının korunduğu gözlenmiştir (Mahnot vd., 2020). Taze çileklere (60 kV değerinde, 50 Hz frekansta, 15 dk.) uygulanan soğuk plazma işlemi sonucunda bakteri, maya ve küf popülasyonlarında 2 log KOB/g azalma görülmüştür (Rana vd., 2020). Mandalinalara soğuk plazma işlemi (27 kV değerinde, 2 dk.)

uygulandığında *Penicillium digitatum* küfünde %77.1 oranında azalma gözlenmiştir (Bang vd., 2020). Taze kesilmiş elmalara 6-10 kV değerleri arasında, 7 kHz frekansta ve 10 dk. boyunca plazma işlemi uygulanmış ve aerobik bakteri sayısında 1 log KOB/g azalma meydana gelmiştir (Liu vd., 2020). Taze yaban mersini meyvesine 36 kV voltaj değerinde ve 10 dk. soğuk plazma işlemi uygulaması sonrası yaban mersininde bulunan bakteri sayısında %93, mantar sayısında %25.8 azalma meydana gelmiştir (Dong ve Yang, 2019). 60 kV değerinde ve 5 dk. boyunca uygulanan soğuk plazma işleminin taze kesilmiş ejder meyvelerinde aerobik bakterilerin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenmiştir (Li vd., 2019). Marullara 20 kV değerinde, 25.8 kHz frekansta ve 10 dk. süresince uygulanan soğuk plazma, *Pseudomonas fluorescens* popülasyonunun 3 dk. içinde saptama sınırının altına düşmesine, *Listeria innocua* bakterisinin ise 5 dk. sonra yaklaşık 2.4 log KOB/g azalmasına neden olmuştur (Patange vd., 2019). Soğuk atmosferik plazma işleminin, taze meyve ve sebzelerde hasat

sonrasında solunum hızını azalttığı ve olgunlaşmayı yavaşlattığı görülmüştür (Bang vd., 2020; Mahnot vd., 2020; Ziuzina vd., 2020). Meyve ve sebzelerde soğuk atmosferik plazma işleminin ana avantajlarından biri, ürünün yüzeyindeki mikroorganizmaların varlığını, patojen mikroorganizmalar dahil olmak üzere azaltma kabiliyetidir. Bu sebeple, soğuk plazma uygulamaları gıda güvenliğini artırmak ve gıda kaynaklı hastalık risklerini azaltma amaçlı

kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Soğuk atmosferik plazma uygulamasının bir diğer faydası, meyve ve sebzelerin kalitesini ve görünümünü koruma yeteneğidir. Soğuk atmosferik plazma, ürünün yapısını, rengini ve dokusunu korumaya yardımcı olmaktadır. Soğuk atmosferik plazma uygulaması meyve ve sebzelerin kalitesini korumanın yanında mikrobiyal gelişimi yavaşlatarak ürünlerin raf ömürlerini artırmaktadır.

Çizelge 1. Meyve ve sebzelerdeki soğuk plazma uygulamaları

Gıda	Soğuk plazma koşulları	Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi	Kaynaklar
Taze kesilmiş havuç	100 kV, 60 Hz, 5 dk.	Mezofil bakterilerde ve mayalarda 2.1 log KOB/g azalma.	Mahnot vd. (2020)
Çilek	60 kV, 50 Hz, 15 dk.	Bakteri, maya ve küflerde 2 log KOB/g azalma.	Rana vd. (2020)
Mandalina	27 kV, 2 dk.	<i>Penicillium digitatum</i> küfünde %77.1 azalma.	Bang vd. (2020)
Taze kesilmiş elma	6-10 kV, 7 kHz, 10 dk.	Aerobik bakterilerde 1 log KOB/g azalma.	Liu vd. (2020)
Yaban mersini	36 kV, 10 dk.	Bakteri sayısında %93, mantar sayısında %25.8 azalma.	Dong ve Yang (2019)
Taze kesilmiş ejder meyvesi	60 kV, 5 dk.	Aerobik bakterilerin inhibisyonu.	Li vd. (2019)
Marul	20 kV, 25.8 kHz, 10 dk.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> popülasyonu 3 dk. içinde saptama sınırının altına düştü. <i>Listeria innocua</i> popülasyonunda 5 dk. sonra ~2.4 log KOB/g azalma.	Patange vd. (2019)

### Kırmızı Et ve Tavuk

Et ve tavuk ürünlerinde yapılan soğuk plazma uygulamasının ürünlerin kalitesini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Chaplot vd., 2019; Luo vd., 2020). Bu sebeple, et ve tavuk ürünlerinde soğuk atmosferik plazma gıda güvenliğini artırma ve raf ömrünü uzatma potansiyeline sahip umut verici bir teknolojidir (Akhtar vd., 2022). Soğuk plazma uygulamasının et ve tavuk ürünlerindeki mikroorganizmalar üzerindeki etkileri Çizelge 2'de sunulmuştur.

Tavuk göğüs etine 100 kV değerinde, 60 Hz frekansta ve 5 dk. süreyle uygulanan soğuk atmosferik plazma doğal mikroflorada yaklaşık 2 log KOB/g azalma sağlamıştır (Moutiq vd., 2020). Soğuk plazma uygulanmış tavuk göğüs etinde 24 gün sonunda kontrol grubuna göre mezofil, psikrotrof ve *Enterobacteriaceae* popülasyonlarının sırasıyla 1.5, 1.4 ve 0.5 log KOB/g daha az olduğu

gözlenmiştir. Soğuk plazma uygulamasının, örneklerin lipit oksidasyonu, renk ve pH değerleri üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde, tavuk filetolarına 22 kV değerinde, 32 kHz frekansta ve 10 dk. süreyle argon atmosferinde uygulanan soğuk plazma işlemi *Staphylococcus aureus* popülasyonunda 3 log KOB/g, *Escherichia coli* popülasyonunda yaklaşık 4 log KOB/g azalma sağlamıştır (Sahebkar vd., 2020). Hava atmosferinde soğuk plazma ile aktive edilmiş asetik asit varlığında tavuk bagetlerine (8.4 kV voltaj değerinde, 2.2 kHz frekansta, 30 dk.) yapılan uygulamada *Salmonella* Typhimurium popülasyonunda 1.2 log KOB/g düşüş gözlenmiştir (Kang vd., 2022). Kuzu etine 80 kV değerinde, 50 Hz frekansta ve 5 dk. boyunca uygulanan soğuk plazma uygulaması, *Brochothrix thermosphacta* bakterisinde 2 log KOB/g azalmaya neden olmuştur (Patange vd., 2017). 19.2 kV voltaj değerinde 80 s süreyle hava atmosferinde

soğuk plazma ile aktive edilmiş laktik asit uygulaması, dana etindeki *Salmonella* Enteritidis popülasyonunda 2.1 log KOB/g azalma sağlamıştır (Qian vd., 2019). Dana etine 6 kV değerinde, 20 MHz frekansta ve 5 dk. süreyle uygulanan soğuk plazma, *Escherichia coli* sayısında 1.82 log KOB/g düşüşe neden olmuştur (Stratakos ve Grant, 2018). Dana etli hamburgerlere argon, helyum, azot ve normal hava atmosferinde 15 kV voltaj değerinde, 15 kHz frekansta ve 90 saniye süre ile soğuk plazma uygulaması sonrası toplam canlı bakteri sayısı  $10^4$  KOB/g seviyesinden 1.5 log KOB/g seviyesine, *Escherichia coli* bakterisi 2 log KOB/g, *Staphylococcus aureus* bakterisi 1.5 log KOB/g ve maya-küfler ise 1 log KOB/g seviyesine inmiştir (Roshanak vd., 2023). Soğuk plazma uygulaması hamburgerlerin renk, tekstür ve lipid oksidasyon değerlerinde herhangi bir olumsuz etkiye sebep olmamıştır.

Son yıllarda soğuk atmosferik plazma uygulaması etin yumuşatılmasında (tenderizasyon) da kullanılmaktadır (Luo vd., 2020; Carrillo-Lopez vd., 2022). Tenderizasyon, etin dokusunun iyileştirilerek daha yumuşak hale getirildiği ve etin çignenmesini kolaylaştıran bir uygulamadır.

Geleneksel olarak et yumuşatma, vurma veya marine etme gibi yöntemlerle yapılır. Soğuk atmosferik plazma, etteki kolajen ve diğer sert bağ dokuları parçalayarak eti yumuşatmaktadır (Luo vd., 2022). Soğuk atmosferik plazma ile muamele edilmiş dana bifteklerin, soğuk plazma ile muamele edilmemiş bifteklerle kıyasla %30 oranında daha yumuşak olduğu, soğuk atmosferik plazma ile muamele edilmiş tavuk göğüs etlerinin, soğuk plazma ile muamele edilmemiş tavuk göğüs etlerine göre %20 oranında daha yumuşak olduğu gözlenmiştir (Abdel-Naeem vd., 2022; Jayasena vd., 2023). Kırmızı ve beyaz etleri yumuşatmak için soğuk atmosferik plazma kullanımının potansiyel avantajlarından en önemlisi, temassız ve herhangi bir kimyasala ihtiyaç olmadan yumuşatmanın sağlanması, başka bir deyişle, etle doğrudan fiziksel temas olmaksızın zararlı olabilecek kimyasalların kullanımını içermemesidir. Et ürünleri havaya maruz kaldıklarında oksidasyona uğrayabilir, bu da renk, koku ve tat değişikliklerine yol açabilir. Soğuk atmosferik plazmanın et ürünlerinde lipid oksidasyonunu azalttığı, renk, koku ve tadın korunmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Nasiru vd., 2021).

Çizelge 2. Kırmızı et ve tavuktaki soğuk plazma uygulamaları

Gıda	Soğuk plazma koşulları	Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi	Kaynaklar
Tavuk göğüs eti	100 kV, 60 Hz, 5 dk.	Mezofil, psikrotrof ve <i>Enterobacteriaceae</i> popülasyonlarında ~2 log KOB/g azalma.	Moutiq vd. (2020)
Tavuk fileto	22 kV, 32 kHz, 10 dk.	<i>Staphylococcus aureus</i> popülasyonunda 3 log KOB/g, <i>Escherichia coli</i> popülasyonunda ~4 log KOB/g azalma.	Sahebkar vd. (2020)
Tavuk baget	8.4 kV, 2.2 kHz, 30 dk. asetik asit ile aktivasyon	<i>Salmonella</i> Typhimurium popülasyonunda 1.2 log KOB/g düşüş.	Kang vd. (2022)
Kuzu eti	80 kV, 50 Hz, 5 dk.	<i>Brochothrix thermosphacta</i> bakterisinde 2 log KOB/g azalma.	Patange vd. (2017)
Dana eti	19.2 kV, 80 s laktik asit ile aktivasyon	<i>Salmonella</i> Enteritidis popülasyonunda 2.1 log KOB/g düşüş.	Qian vd. (2019)
Dana eti	6 kV, 20 MHz, 5 dk.	<i>Escherichia coli</i> bakterisinde 1.82 log KOB/g azalma.	Stratakos ve Grant (2018)
Dana hamburger	15 kV, 15 kHz, 90 s.	Toplam canlı bakteri sayısında $10^4$ KOB/g seviyesinden 1.5 log KOB/g seviyesine, <i>Escherichia coli</i> bakterisinde 2 log KOB/g, <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisinde 1.5 log KOB/g, maya ve küflerde 1 log KOB/g seviyesine kadar azalma.	Roshanak vd. (2023)

**Su Ürünleri**

Su ürünleri yüksek besleyicilik değerlerine ve mikroorganizmalar için uygun bir üreme ortamına sahip olduğundan, patojenik mikroorganizmalar da dahil olmak üzere çok çeşitli mikrobiyolojik bozulmalara sebep olabilir (Sheng ve Wang, 2021). Soğuk atmosferik plazma uygulaması, su ürünlerindeki mikrobiyolojik yükün azaltılmasına, raf ömrünün artırılmasına, kalitenin iyileştirilmesine ve tüketicilere daha güvenli ürünlerin sunulmasına önemli katkılar sağlama potansiyeline sahiptir. Su ürünlerinde soğuk atmosferik plazma işleminin ana avantajlarından

biri, su ürünlerinin yüzeyindeki mikroorganizmaların varlığını azaltma kabiliyetidir (Speranza vd., 2021). Bu sebeple, soğuk atmosferik plazma uygulaması gıda güvenliğini artırmaya ve gıda kaynaklı hastalık riskini azaltmaya yönelik kullanım için oldukça uygun bir teknolojidir. Soğuk atmosferik plazma uygulaması, başta balıklar olmak üzere diğer su ürünlerinin işlenmesinde araştırılmıştır. Soğuk plazma uygulamasının su ürünlerindeki mikroorganizmalar üzerindeki etkileri Çizelge 3'te sunulmuştur.

Çizelge 3. Su ürünlerindeki soğuk plazma uygulamaları

Gıda	Soğuk plazma koşulları	Mikroorganizmalar üzerindeki etkisi	Kaynaklar
Uskumru fileto	80 kV, 5 dk.	<i>Pseudomonas</i> ve laktik asit bakterilerinde 1 log KOB/g azalma.	Albertos vd. (2017)
Ringa balığı fileto	80 kV, 5 dk.	Laktik asit bakterilerinde 2 log KOB/g, <i>Enterobacteriaceae</i> sayısında 3 log KOB/g azalma.	Albertos vd. (2019)
Çipura fileto	3 kV, 45 Hz, 15 dk.	Toplam başlangıç mikroorganizma yükünde 1 log KOB/g azalma.	Giannoglou vd. (2021)
Asya levreği dilimi	80 kV, 50 Hz, 5 dk.	Toplam canlı bakteri sayısında ~1 log KOB/g azalma.	Olatunde vd. (2020)
Tütsülenmiş somon fileto	1.1 kV, 43 kHz, 60 dk.	<i>Listeria monocytogenes</i> sayısında 1.25 log KOB/g azalma.	Roy vd. (2022)
Beyaz karides	40 kV, 500 Hz, 10 dk.	Mezofil ve psikrotrof popülasyonlarında ~0.5 log KOB/g azalma.	de Souza Silva vd. (2019)
Kalamar	20 kV, 58 kHz, 10 dk.	Aerobik bakterilerde 2.1 log KOB/g, küf ve mayalarda 1.9 log KOB/g, koliform bakterilerinde 1.5 log KOB/g azalma.	Choi vd. (2017)
İstiridye	1.1 kV, 43 kHz, 60 dk.	Norovirüs GI.4 konsantrasyonunda 1.68 log KOB/g düşüş.	Choi vd. (2020)

80 kV değerinde ve 5 dk. boyunca soğuk atmosferik plazmaya maruz bırakılan uskumru fileto larındaki *Pseudomonas* ve laktik asit bakterilerinin sayılarında 1 log KOB/g azalma meydana gelmiştir (Albertos vd., 2017). Benzer şekilde ringa balığı fileto larına 80 kV değerinde ve 5 dk. süre ile uygulanan soğuk plazma, laktik asit bakterileri ve *Enterobacteriaceae* sayılarında sırasıyla 2 log KOB/g ve 3 log KOB/g azalmaya sebep olmuştur (Albertos vd., 2019). Soğuk plazma uygulaması sırasında üretilen reaktif oksijen bileşiklerinin bakteri hücreleri ile reaksiyona girerek, DNA ve hücre zarına zarar verdiği ve bu şekilde mikroorganizmaları öldürdüğü rapor edilmiştir. Çipura fileto larına 3 kV değerinde, 45

Hz frekansta ve 15 dk. boyunca uygulanan soğuk plazma işlemi, fileto ların toplam başlangıç mikroorganizma yükünde yaklaşık 1 log KOB/g azalma sağlamıştır (Giannoglou vd., 2021). İki farklı gaz kompozisyonunda ambalajlanan dilimlenmiş Asya levreklerinin soğuk plazma işlemine (80 kV voltaj değerinde, 50 Hz frekansta, 5 dk.) maruz bırakılması sonucunda toplam canlı bakteri sayısında 1 log KOB/g seviyesinde düşüş olmuş ve soğuk plazma uygulamasında ambalaj içi gaz kompozisyonunun önemli olduğu gözlenmiştir (Olatunde vd., 2020). Tütsülenmiş somon fileto larına 1.1 kV değerinde, 43 kHz frekansta ve 60 dk. süreyle uygulanan soğuk atmosferik plazma sonucunda *Listeria monocytogenes*



popülasyonunda 1.25 log KOB/g azalma sağlanırken, tütsülenmiş somon filetolarının pH değerlerinde ve duyuşsal özelliklerinde soğuk plazma uygulanmamış somon filetolarına göre kayda değer bir değişiklik olmamıştır (Roy vd., 2022).

Beyaz karideslerin 40 kV değerinde 500 Hz frekansta ve 10 dk. süre ile soğuk atmosferik plazmaya maruz bırakılması sonucunda mezofil ve psikrotrof popülasyonlarında yaklaşık 0.5 log KOB/g azalma olmuştur (de Souza Silva vd., 2019). Uygulanan soğuk atmosferik plazma sonucunda, karideslerin su tutma kapasitesi artmış, pişirme sırasındaki ağırlık kayıpları azalmış ve 12 gün boyunca +5 °C sıcaklıkta muhafaza edilen beyaz karideslerdeki renk kararması minimuma indirilmiştir (de Souza Silva vd., 2019). Kalamarlara hava atmosferinde uygulanan soğuk atmosferik plazma (20 kV voltaj değerinde, 58 kHz frekansta, 10 dk.) aerobik bakterilerde 2.1 log KOB/g, küf ve mayalarda 1.9 log KOB/g, koliform bakterilerinde 1.5 log KOB/g azalma sağlamıştır (Choi vd., 2017). Soğuk plazma uygulanmış kalamarların görünüş, renk ve lezzetlerinin soğuk plazma uygulanmamış kalamarlara göre daha iyi olduğu gözlenmiştir. İstiridyeler genellikle çiğ veya yarı pişmiş olarak tüketildiklerinden, norovirüsün insanlara bulaşmasında önemli bir bulaş kaynağıdır (Paulsen vd., 2022). İstiridyeler az hareketli olduklarından ve özellikle çevre kirliliği olan sularda yetiştirildiklerinde başta norovirüsler olmak üzere çeşitli bakterileri barındırabilmektedirler. Norovirüs ile kontamine olmuş istiridyelerin tüketilmesi insanlarda çeşitli komplikasyonlara sebep olmakta, özellikle küçük çocuklarda, yaşlılarda, hamilelerde ve bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde, norovirüs enfeksiyonu ciddi su kaybına ve ölüme neden olabilmektedir. Bu bakımdan norovirüs ile kontamine olmuş gıdaların dekontaminasyonu önem taşımaktadır. Sadece soğuk plazma (1.1 kV voltaj değerinde, 43 kHz frekansta, 60 dk.) uygulanmış istiridyelerdeki norovirüs konsantrasyonundaki azalma 1 log KOB/g değerinden az iken, propidyum monoazit ile boyama sonrası norovirüs konsantrasyonundaki azalmanın 1.68 log KOB/g olduğu görülmüştür (Choi vd., 2020).

## SONUÇ

Yakın geçmişte soğuk plazma teknolojisi, gıdalardaki mikroorganizmaların inaktivasyonundaki etkinliği nedeniyle giderek artan bir popülerlik kazanmıştır. Soğuk plazma işleminin çok yönlü, verimli, ekonomik ve çevre dostu bir yöntem olması, kalıntı bırakmaması, atmosferik koşullarda ve ortam sıcaklığında uygulanabilmesi, gıdalardaki mikrobiyal inaktivasyon için hem konvansiyonel gıda işleme teknolojilerine hem de diğer ısı olmayan yöntemlere kıyasla birçok avantaj sunmaktadır. Soğuk plazma teknolojisi geleneksel ısı gıda işleme teknolojileri ile kıyaslandığında, gıdaların fizikokimyasal özellikleri üzerinde daha az olumsuz etkiye sahiptir. Gıda sanayinin soğuk plazma teknolojisinin avantajlarını değerlendirerek mikrobiyal inaktivasyon yöntemi olarak kullanması, tüketicilerin daha sağlıklı, daha kaliteli ve raf ömrü daha uzun gıdaları tüketmesine olanak sağlayacaktır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yer alan yazarlar ile ilgili herhangi bir kurum, kuruluş ve kişi arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

Murat Özdemir makalenin planlanması, yazımı, düzeltilmesi, basıma hazır hale getirilmesi ile danışmanlık kısımlarında katkı sağlamıştır. Alpaslan Kerem Şengül, Bartu Bulamacı ve Berke Taşdemir makalenin yazımında ortak katkı vermiştir.

## KAYNAKLAR

Abdel-Naeem, H.H., Ebaid, E.M., Khalel, K.H., Imre, K., Morar, A., Herman, V., El-Nawawi, F.A.M. (2022). Decontamination of chicken meat using dielectric barrier discharge cold plasma technology: The effect on microbial quality, physicochemical properties, topographical structure, and sensory attributes. *LWT-Food Science and Technology*, 165: 113739.

Akhtar, J., Abrha, M.G., Teklehaimanot, K., Gebrekirstos, G. (2022). Cold plasma technology: Fundamentals and effect on quality of meat and its products. *Food and Agricultural Immunology*, 33(1): 451-478.

- Albertos, I., Martín-Diana, A., Cullen, P.J., Tiwari, B.K., Ojha, S.K., Bourke, P., Álvarez, C., Rico, D. (2017). Effects of dielectric barrier discharge (DBD) generated plasma on microbial reduction and quality parameters of fresh mackerel (*Scomber scombrus*) fillets. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44: 117-122.
- Albertos, I., Martín-Diana, A.B., Cullen, P.J., Tiwari, B.K., Ojha, K.S., Bourke, P., Rico, D. (2019). Shelf-life extension of herring (*Clupea harengus*) using in-package atmospheric plasma technology. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 53: 85-91.
- Asl, P.J., Rajulapati, V., Gavahian, M., Kapusta, I., Putnik, P., Khaneghah, A.M., Marszalek, K. (2022). Non-thermal plasma technique for preservation of fresh foods: A review. *Food Control*, 134: 108560.
- Bang, I.H., Lee, E.S., Lee, H.S., Min, S.C. (2020). Microbial decontamination system combining antimicrobial solution washing and atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment for preservation of mandarins. *Postharvest Biology and Technology*, 162: 111102.
- Birania, S., Attkan, A.K., Kumar, S., Kumar, N., Singh, V.K. (2022). Cold plasma in food processing and preservation: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 45(9): e14110.
- Bogaerts, A., Neyts, E., Gijbels, R., van der Mullen, J. (2002). Gas discharge plasmas and their applications. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 57(4): 609-658.
- Bora, J., Khan, T., Mahnot, N.K. (2022). Cold plasma treatment concerning quality and safety of food: A review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 10(2): 427-446.
- Carrillo-Lopez, L.M., Cruz-Garibaldi, B.Y., Huerta-Jimenez, M., Garcia-Galicia, I.A., Alarcon-Rojo, A.D. (2022). The physicochemical, microbiological, and structural changes in beef are dependent on the ultrasound system, time, and one-side exposition. *Molecules*, 27(2): 541.
- Chaplot, S., Yadav, B., Jeon, B., Roopesh, M.S. (2019). Atmospheric cold plasma and peracetic acid-based hurdle intervention to reduce *Salmonella* on raw poultry meat. *Journal of Food Protection*, 82(5): 878-888.
- Choi, S., Puligundla, P., Mok, C. (2017). Impact of corona discharge plasma treatment on microbial load and physicochemical and sensory characteristics of semi-dried squid (*Todarodes pacificus*). *Food Science and Biotechnology*, 26: 1137-1144.
- Choi, M.S., Jeon, E.B., Kim, J.Y., Choi, E.H., Lim, J.S., Choi, J., Ha, K.S., Kwon, J.Y., Jeong, H.S., Park, S.Y. (2020). Virucidal effects of dielectric barrier discharge plasma on human norovirus infectivity in fresh oysters (*Crassostrea gigas*). *Foods*, 9: 1731.
- Corradini, M.G. (2020). Modeling microbial inactivation during cold atmospheric-pressure plasma (CAPP) processing. In: *Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation*, Bermudez-Aguirre, D. (ed.), Academic Press, UK, pp. 93-108.
- de Souza Silva, D.A., da Silva Campelo, M.C., de Oliveira Soares Rebouças, L., de Oliveira Vitoriano, J., Alves Junior, C., da Silva, J.B.A., de Oliveira Lima, P. (2019). Use of cold atmospheric plasma to preserve the quality of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Protection*, 82(7): 1217-1223.
- Dong, X.Y., Yang, Y.L. (2019). A novel approach to enhance blueberry quality during storage using cold plasma at atmospheric air pressure. *Food and Bioprocess Technology*, 12(8): 1409-1421.
- Ekezie, F.G.C., Sun, D.W., Cheng, J.H. (2017). A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. *Trends in Food Science and Technology*, 69: 46-58.
- Farber, R., Dabush-Busheri, I., Chaniel, G., Rozenfeld, S., Bormashenko, E., Multanen, V., Cahan, R. (2019). Biofilm grown on wood waste pretreated with cold low-pressure nitrogen plasma: Utilization for toluene remediation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 139: 62-69.
- Farooq, S., Dar, A.H., Dash, K.K., Srivastava, S., Pandey, V.K., Ayoub, W.S., Pandiselvam, R.,

- Manzoor, S., Kaur, M. (2023). Cold plasma treatment advancements in food processing and impact on the physiochemical characteristics of food products. *Food Science and Biotechnology*, 32(5), 621-638.
- Feizollahi, E., Misra, N.N., Roopesh, M.S. (2021). Factors influencing the antimicrobial efficacy of dielectric barrier discharge (DBD) atmospheric cold plasma (ACP) in food processing applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(4): 666-689.
- Filipić, A., Gutierrez-Aguirre, I., Primc, G., Mozetič, M., Dobnik, D. (2020). Cold plasma, a new hope in the field of virus inactivation. *Trends in Biotechnology*, 38(11): 1278-1291.
- Fridman, G., Friedman, G., Gutsol, A., Shekhter, A.B., Vasilets, V.N., Fridman, A. (2008). Applied plasma medicine. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6): 503-533.
- Ganesan, A.R., Tiwari, U., Ezhilarasi, P.N., Rajauria, G. (2021). Application of cold plasma on food matrices: A review on current and future prospects. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1): e15070.
- Gao, J., Chen, L., Zeng, X., Sun, X., Bai, Y., Wang, X., Xu, X., Han, M. (2023). Novel drying pretreatment technologies and their applications in the food industry. *Food Materials Research*, 3: 14.
- Gavahian, M., Cullen, P.J. (2020). Cold plasma as an emerging technique for mycotoxin-free food: Efficacy, mechanisms, and trends. *Food Reviews International*, 36(2): 193-214.
- Gavahian, M., Khaneghah, A.M. (2020). Cold plasma as a tool for the elimination of food contaminants: Recent advances and future trends. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9): 1581-1592.
- Giannoglou, M., Dimitrakellis, P., Efthimiadou, A., Gogolides, E., Katsaros, G. (2021). Comparative study on the effect of cold atmospheric plasma, ozonation, pulsed electromagnetic fields and high-pressure technologies on sea bream fillet quality indices and shelf life. *Food Engineering Reviews*, 13(1): 175-184.
- Guo, L., Xu, R., Gou, L., Liu, Z., Zhao, Y., Liu, D., Zhang, L., Chen, H., Kong, M.G. (2018). Mechanism of virus inactivation by cold atmospheric-pressure plasma and plasma-activated water. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(17): e00726-18.
- Hage, M., Khelissa, S., Akoum, H., Chihib, N.E., Jama, C. (2022). Cold plasma surface treatments to prevent biofilm formation in food industries and medical sectors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106: 81-100.
- Han, J.Y., Song, W.J., Kang, J.H., Min, S.C., Eom, S., Hong, E.J., Ryu, S., Kim, S.B., Cho, S., Kang, D.H. (2020). Effect of cold atmospheric pressure plasma-activated water on the microbial safety of Korean rice cake. *LWT-Food Science and Technology*, 120: 108918.
- Hosseini, S.M., Rostami, S., Hosseinzadeh Samani, B., Lorigooini, Z. (2020). The effect of atmospheric pressure cold plasma on the inactivation of *Escherichia coli* in sour cherry juice and its qualitative properties. *Food Science and Nutrition*, 8(2): 870-883.
- Jayasena, D.D., Kang, T., Wijayasekara, K.N., Jo, C. (2023). Innovative application of cold plasma technology in meat and its products. *Food Science of Animal Resources*, 43(6): 1087-1110.
- Kang, T., Yim, D., Kim, S.S., Baek, K.H., Kim, H.J., Jo, C. (2022). Effect of plasma-activated acetic acid on inactivation of *Salmonella* Typhimurium and quality traits on chicken meats. *Poultry Science*, 101(5): 101793.
- Kulawik, P., Alvarez, C., Cullen, P.J., Aznar-Roca, R., Mullen, A.M., Tiwari, B. (2018). The effect of non-thermal plasma on the lipid oxidation and microbiological quality of sushi. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45: 412-417.
- Laroque, D.A., Seó, S.T., Valencia, G.A., Laurindo, J.B., Carciofi, B.A.M. (2022). Cold plasma in food processing: Design, mechanisms, and application. *Journal of Food Engineering*, 312: 110748.
- Li, X., Li, M., Ji, N., Jin, P., Zhang, J., Zheng, Y., Zhang, X., Li, F. (2019). Cold plasma treatment induces phenolic accumulation and enhances

- antioxidant activity in fresh-cut pitaya (*Hylocereus undatus*) fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 115: 108447.
- Liu, C., Chen, C., Jiang, A., Sun, X., Guan, Q., Hu, W. (2020). Effects of plasma-activated water on microbial growth and storage quality of fresh-cut apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59: 102256.
- Luo, J., Nasiru, M.M., Yan, W., Zhuang, H., Zhou, G., Zhang, J. (2020). Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatment on the structure and binding capacity of aroma compounds of myofibrillar proteins from dry-cured bacon. *LWT-Food Science and Technology*, 117: 108606.
- Luo, J., Xu, W., Liu, Q., Zou, Y., Wang, D., Zhang, J. (2022). Dielectric barrier discharge cold plasma treatment of pork loin: Effects on muscle physicochemical properties and emulsifying properties of pork myofibrillar protein. *LWT-Food Science and Technology*, 162: 113484.
- Mahnot, N., Siyu, L.P., Wan, Z., Keener, K.M., Misra, N.N. (2020). In-package cold plasma decontamination of fresh-cut carrots: Microbial and quality aspects. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 53(15): 154002.
- Mehta, D., Yadav, S.K. (2022). Recent advances in cold plasma technology for food processing. *Food Engineering Reviews*, 14(4): 555-578.
- Mollakhalili-Meybodi, N., Yousefi, M., Nematollahi, A., Khorshidian, N. (2021). Effect of atmospheric cold plasma treatment on technological and nutrition functionality of protein in foods. *European Food Research and Technology*, 247: 1579-1594.
- Monjazeb Marvdashti, L., Arabameri, M., Yousefi, B., Eslami, M., Emadi, A., Ebrahimi, A., Abdolshahi, A., Abdel-Wahhab, M.A., (2023). Cold plasma technology impact on microorganisms inactivation in foods: A systematic review. *Journal of Chemical Health Risks*, 13(4): 623-634.
- Moutiq, R., Misra, N.N., Mendonça, A., Keener, K. (2020). In-package decontamination of chicken breast using cold plasma technology: Microbial, quality and storage studies. *Meat Science*, 159: 107942.
- Nasiru, M.M., Frimpong, E.B., Muhammad, U., Qian, J., Mustapha, A.T., Yan, W., Zhuang, H., Zhang, J. (2021). Dielectric barrier discharge cold atmospheric plasma: Influence of processing parameters on microbial inactivation in meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3): 2626-2659.
- Nwabor, O.F., Onyeaka, H., Miri, T., Obileke, K., Anumudu, C., Hart, A. (2022). A cold plasma technology for ensuring the microbiological safety and quality of foods. *Food Engineering Reviews*, 14(4): 535-554.
- Olatunde, O.O., Benjakul, S., Vongkamjan, K. (2020). Shelf-life of refrigerated Asian sea bass slices treated with cold plasma as affected by gas composition in packaging. *International Journal of Food Microbiology*, 324: 108612.
- Patange, A., Boehm, D., Bueno-Ferrer, C., Cullen, P.J., Bourke, P. (2017). Controlling *Brochothrix thermosphacta* as a spoilage risk using in-package atmospheric cold plasma. *Food Microbiology*, 66: 48-54.
- Patange, A., Lu, P., Boehm, D., Cullen, P.J., Bourke, P. (2019). Efficacy of cold plasma functionalised water for improving microbiological safety of fresh produce and wash water recycling. *Food Microbiology*, 84: 103226.
- Paulsen, P., Csadek, I., Bauer, A., Bak, K.H., Weidinger, P., Schwaiger, K., Nowotny, N., Walsh, J., Martines, E., Smulders, F.J.M. (2022). Treatment of fresh meat, fish and products thereof with cold atmospheric plasma to inactivate microbial pathogens and extend shelf life. *Foods*, 11(23): 3865.
- Priyadarshini, A., Rajauria, G., O'Donnell, C.P., Tiwari, B.K. (2019). Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19): 3082-3101.
- Qian, J., Zhuang, H., Nasiru, M.M., Muhammad, U., Zhang, J., Yan, W. (2019). Action of plasma-activated lactic acid on the inactivation of

- inoculated *Salmonella* Enteritidis and quality of beef. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 57: 102196.
- Rana, S., Mehta, D., Bansal, V., Shivhare, U.S., Yadav, S.K. (2020). Atmospheric cold plasma (ACP) treatment improved in-package shelf-life of strawberry fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1): 102-112.
- Rao, W., Li, Y., Dhaliwal, H., Feng, M., Xiang, Q., Roopesh, M.S., Pan, D., Du, L. (2023). The application of cold plasma technology in low-moisture foods. *Food Engineering Reviews*, 15(1): 86-112.
- Raviteja, T., Dayam, S.K., Yashwanth, J. (2019). A study on cold plasma for food preservation. *Journal of Scientific Research and Reports*, 23(4): 1-14.
- Roshanak, S., Maleki, M., Sani, M.A., Tavassoli, M., Pirkhezranian, Z., Shahidi, F. (2023). The impact of cold plasma innovative technology on quality and safety of refrigerated hamburger: Analysis of microbial safety and physicochemical properties. *International Journal of Food Microbiology*, 388: 110066.
- Roy, P.K., Jeon, E.B., Park, S.Y. (2022). Effects of nonthermal dielectric barrier discharge plasma against *Listeria monocytogenes* and quality of smoked salmon fillets. *Journal of Food Safety*, 42(6): e13012.
- Sahebkar, A., Hosseini, M., Sharifan, A. (2020). Plasma-assisted preservation of breast chicken fillets in essential oils-containing marinades. *LWT-Food Science and Technology*, 131: 109759.
- Sarangapani, C., O'Toole, G., Cullen, P.J., Bourke, P. (2017). Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44: 235-241.
- Scholtz, V., Pazlarova, J., Souskova, H., Khun, J., Julak, J. (2015). Nonthermal plasma—A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnology Advances*, 33(6): 1108-1119.
- Scholtz, V., Vaňková, E., Kašparová, P., Premanath, R., Karunasagar, I., Julák, J. (2021). Non-thermal plasma treatment of ESKAPE pathogens: a review. *Frontiers in Microbiology*, 12: 737635.
- Sheng L., Wang, L. (2021). The microbial safety of fish and fish products: Recent advances in understanding its significance, contamination sources, and control strategies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1): 738-786.
- Shi, H., Ileleji, K., Stroshine, R.L., Keener, K., Jensen, J.L. (2017). Reduction of aflatoxin in corn by high voltage atmospheric cold plasma. *Food and Bioprocess Technology*, 10(6): 1042-1052.
- Speranza, B., Racioppo, A., Bevilacqua, A., Buzzo, V., Marigliano, P., Mocerino, E., Scognamiglio, R., Corbo, M.R., Scognamiglio, G., Sinigaglia, M. (2021). Innovative preservation methods improving the quality and safety of fish products: Beneficial effects and limits. *Foods*, 10(11): 2854.
- Sruthi, N.U., Josna, K., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Gavahian, M., Khaneghah, A.M. (2022). Impacts of cold plasma treatment on physicochemical, functional, bioactive, textural, and sensory attributes of food: A comprehensive review. *Food Chemistry*, 368: 130809.
- Stoffels, E., Sakiyama, Y., Graves, D.B. (2008). Cold atmospheric plasma: Charged species and their interactions with cells and tissues. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 36(4): 1441-1457.
- Stratakos, A.C., Grant, I.R. (2018). Evaluation of the efficacy of multiple physical, biological and natural antimicrobial interventions for control of pathogenic *Escherichia coli* on beef. *Food Microbiology*, 76: 209-218.
- Zhu, Y., Li, C., Cui, H., Lin, L. (2020). Feasibility of cold plasma for the control of biofilms in food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 99: 142-151.
- Ziuzina, D., Misra, N.N., Han, L., Cullen, P.J., Moiseev, T., Mosnier, J.P., Keener, K., Gaston, E., Vilaró, I., Bourke, P. (2020). Investigation of a large gap cold plasma reactor for continuous in-package decontamination of fresh strawberries and spinach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 59: 102229.

***CRATAEGUS MONOGYNA* JACQ. VE *CRATAEGUS LAEVIGATA* (POIR.) DC.  
KIRMIZI ALIÇ TÜRLERİNİN MEYVE, ÇEKİRDEK, SAP KISIMLARININ  
FİTOKİMYASAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLER AÇISINDAN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hatice Feyza AKBULUT\***

Çumra MYO, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bölümü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 03.06.2024; Kabul / Accepted: 16.07.2024; Online baskı / Published online: 23.07.2024

Akbulut, H. F. (2024). *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. kırmızı alıç türlerinin meyve, çekirdek, sap kısımlarının fitokimyasal ve antioksidan özellikler açısından değerlendirilmesi. GIDA (2024) 49 (4) 669-681 doi: 10.15237/gida.GD24057

Akbulut, H. F. (2024). Evaluation of fruits, seeds and stem parts of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. red hawthorn species in terms of phytochemical and antioxidant properties. GIDA (2024) 49 (4) 669-681 doi: 10.15237/gida.GD24057

**ÖZ**

Yemişen, diğer adı ile kırmızı alıç (*Crataegus* spp.) Rosaceae familyasına ait bir bitki olup Dünya’da ılıman iklime sahip Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’nın farklı bölgelerinde yetişmekte ve aynı zamanda Türkiye’nin farklı bölgelerinde de yayılım göstermektedir. Meyveleri beğenilerek tüketilmekle birlikte bitkinin yaprak ve sapsarı, fenolik asitler ve flavonoidler gibi antioksidan biyoaktif bileşenlerce oldukça zengindir. Bu çalışmada, Türkiye’nin farklı bölgelerinden temin edilen iki farklı yemişen türünün fitokimyasal ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. *Crataegus monogyna* Jacq. Ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. Yemişen türlerine ait meyve, pulp, çekirdek ve sapsarında toplam fenolik madde (TFM) içeriği ve DPPH radikal süpürme aktivitesi, organik asit ve şeker profili ve mineral dağılımları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, en bol bulunan makro-mineral K, mikro-mineral Fe, hâkim asit malik asit ve baskın şeker fruktoz olarak belirlenmiştir. Her iki kırmızı alıç türünde de meyve pulplarının TFM bakımından zengin olduğu ve meyvenin sapsarlarının ise daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Crataegus monogyna* Jack., *Crataegus laevigata* (Poir.) DC, toplam fenolik, DPPH, mineral, askorbik asit, fruktoz

**EVALUATION OF FRUITS, SEEDS AND STEM PARTS OF *CRATAEGUS MONOGYNA* JACQ. AND *CRATAEGUS LAEVIGATA* (POIR.) DC. RED HAWTHORN SPECIES IN TERMS OF PHYTOCHEMICAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES**

**ABSTRACT**

Yemişen, also known as red hawthorn (*Crataegus* spp.), is a plant belonging to the Rosaceae family and grows in different regions of Asia, Europe and North America with temperate climates, and is also spread in different regions of Turkey. Although its fruits are consumed with pleasure, the leaves and stems of the plant are rich in antioxidant bioactive components such as phenolic acids and flavonoids. In this study, the phytochemical and antioxidant properties of two different *Crataegus*

\* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: haticefeyza@selcuk.edu.tr

☎: (+90) 332 4475621

☎: (+90) 332 4473425

Hatice Feyza Akbulut; ORCID no: 0000-0001-6798-0953

species obtained from different regions of Turkey were investigated. Total phenolic (TP) content, DPPH radical scavenging activity, organic acid and sugar profile and mineral distributions were determined in the fruits, pulp, seeds and stems of *Crataegus monogyna* Jacq., and *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. According to the obtained results, the most abundant macro-mineral was determined to be K, the micro-mineral was Fe, the dominant acid was malic acid, and the dominant sugar was fructose. In both red hawthorn species, it was determined that the fruit pulps were rich in TPC, and the stems of the fruit had higher antioxidant capacity.

**Keywords:** *Crataegus monogyna* Jack., *Crataegus laevigata* (Poir.) DC, total phenolic, DPPH, mineral, ascorbic acid, fructose

## GİRİŞ

Kırmızı alıç (*Crataegus* spp.), Rosaceae familyasına ait bir meyve türüdür ve genellikle ılıman iklimlerde yetişmekte olup Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'nın çeşitli bölgelerinde yaygın olarak bulunur. Kırmızı alıç (yemişen) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde de 17 tür ve 21 takson ile yaygın olarak bulunmakta olup, bölgelere göre yemişen, geyik dikenli, alıç, godon alıcı, çakır alıcı, kuş yemişi, ayva alıcı, beyazdiken, ekşi, geviş, edran, muşmula gibi isimlerle de bilinmektedir. Türkiye'nin zengin bitki çeşitliliği içinde önemli bir yere sahip olan yemişen, tıbbi, ekonomik ve ekolojik açıdan büyük bir öneme sahiptir (Ergezen, 1999).

Kırmızı alıç, geleneksel olarak tıbbi ve besin değeri olan meyveleri için yetiştirilir. Birçok kültürel ve ekonomik öneme sahip olan bu bitki, tıbbi özellikleri nedeniyle uzun bir tarihe sahiptir ve birçok kültürde kalp sağlığını iyileştirmek için kullanılmıştır. Bu amaçla kırmızı alıç bitkisinin meyveleri, yaprakları, çiçekleri, meyve sapları ve çekirdekleri geleneksel tıpta analjezik olarak, kardiyak sinir hastalıklarının tedavisinde, yara iyileştirici olarak, solunum yollarının tedavisinde, sedatif olarak ve ayak tabanı yaralarının tedavisinde kullanılmaktadır (Tetik vd., 2013; Nazhand vd., 2020).

Kırmızı alıçın biyolojik ve kimyasal bileşimi, antioksidanlar, flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi çeşitli biyoaktif bileşenleri içerir. Bununla birlikte, türler arasında ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak bileşimde farklılıklar olabilir (Wu vd., 2014; Orhan, 2018; Nazhand vd., 2018).

*C. monogyna* kırmızı alıç türü çiçek ve yapraklarının sulu ekstraktlarında mirisetin ve kamferol iz miktarda olmak üzere rutin, apigenin, kersetin ve naringenin tespit edilmiştir (Keser vd., 2014).

Kırmızı alıçın bu türünün yaprak, çiçeklerinde (Radi vd., 2023a) ve *C. laciniata* and *C. laciniata* alıç türlerinin meyvelerinde (Radi vd., 2023b) kalitatif analizlerde kateşik, gallik, flavonlar, lökoantosiyeninler, musilajlar, kumarinler, sterol ve triterpenler gibi biyoaktif maddelerin varlığı belirlenmiştir. *C. orientalis* subsp. *Orientalis* alıç türü meyvelerinde gallik asit, (+)-kateşin, prosiyanidin B2, (-)-epikateşin, siringik asit, klorojenik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve rutin fenolikleri, glukoz, fruktoz ve maltoz şekerleri,  $\beta$ -karoten ve sitrik asit varlığı rapor edilmiş ve olgunlaşma ile bu biyoaktif bileşenlerin değiştiği belirtilmiştir (Öztürk 2023).

*C. pinnatifida* var. *Majör*, *C. brettschneider*, *C. pinnatifida* ve *C. scabrifolia* alıç türlerinin meyvelerinde fruktoz, glukoz, sorbitol, myo-inositol, sükroz şekerlerine ve malik, sitrik ve quinik aside rastlanılmıştır (Yang vd. 2012). *C. laciniata* and *C. laciniata* türü alıçların meyvelerinde Mg baskın olmak üzere As, Cr, Pb, Ni ve Cd mineralleri varlığı belirlenmiştir (Radi vd., 2023b). Bazı alıç türlerinin salgıladığı ve manna adı verilen tatlı sıvıda mannitol ağırlıklı olarak fruktoz, sükroz ve maltitol şekerleri belirlenmiştir (Fakhri vd., 2017).

Bu makalede, Türkiye'nin iki farklı bölgesinde doğal olarak yetişen kırmızı alıç bitkisinin meyveleri, meyve pulpları, sapları ve çekirdeklerinin in vitro antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde içeriği, organik asit ve şeker dağılımları ve makro- ve mikro-mineralleri belirlenerek iki farklı tür arasında karşılaştırması yapılarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Literatürlerde farklı alıç türlerinin meyve (Yang vd., 2012; Öztürk vd., 2022; Pugna vd., 2022; Taleghani vd., 2024), yaprak (Pugna vd., 2022; Taleghani vd., 2024), çiçek (Pugna vd., 2022) ve

kökleri (Taleghani vd., 2024) üzerine (özellikle meyveler) yapılmış çok sayıda çalışmalar bulunmakla birlikte sap ve çekirdekleri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca çalışmamızda da mevcut olan *Crataegus monogyna* Jacq. Kırmızı alıç türünün meyveleri üzerine yakın zamanda yapılmış birçok çalışma (Boudraa vd., 2010; Keser vd., 2014; Radi vd., 2023b) bulunmakla birlikte bu çalışmalarda meyvenin sap ve çekirdek yapıları incelenmemiş olması, meyvede bakılan mineral madde dağılımının çok sığ kalmış olması ve bölgesel farklılıklardan dolayı çalışmamızdan oldukça farklılıklar söz konusudur. Yine çalışmamızda kullanılan *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. kırmızı alıç türünün yenilebilir kısımları üzerine literatürde yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olması çalışmamızın diğer çalışmalardan oldukça farklı kılmaktadır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Bitki materyali

Bu çalışmada tek çekirdekli (*Crataegus monogyna* Jacq.) ve çift çekirdekli (*Crataegus laevigata* (Poir.) DC) olmak üzere 2 farklı yemişen (kırmızı alıç) türüne ait meyve ve onun pulpu, çekirdeği ve sapsarı kullanılmıştır. Tek çekirdekli kırmızı alıç Karaman ili Ermenek ilçesinden, çift çekirdekli yemişen ise Malatya Kale ilçesinden toplanmış ve zaman kaybetmeden laboratuvara getirilerek işleme konulmuştur. Meyveler temizlenerek sapsarı, pulpları ve çekirdekleri alınmış ve çekirdeği dışında tüm örnekler -80°C'de 24 saat bekletildikten sonra liyofilizatörde kurutulmuştur. Çekirdekler ise 40 °C'de etüvde kurutulmuş ve öğütülmüştür. Etüvde kurutulan ve liyofilize edilen örnekler analiz aşamasına kadar kapalı bir ambalajda -30°C'de muhafaza edilmiştir. Metanol ekstraktı eldesinde bu örnekler kullanılmıştır. In vitro antioksidan aktivite ile toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde bu örneklerin metanol ekstraktları ve makro-mikro minerallerin belirlenmesinde ise örneklerin doğrudan kurutulmuş ve öğütülmüş şekilleri kullanılmıştır.

#### Kırmızı alıç meyve, pulp, çekirdek ve sapsarının ekstraksiyon işlemi

Liyofilize edilerek kurutulmuş ve öğütülmüş kırmızı alıç meyve, pulp, çekirdek ve sapsarından 20 g alınmış ve üzerine 150 mL metanol ilave

edilmiştir. Örnekler 200 rpm'de bir şilifli balon içerisinde 24 saat boyunca çalkalanmıştır. Çözelti kaba filtre kağıdından süzölmüş ve süzöntüden çözücü olarak metanol rotary evaporatör ile 40°C'de evapore edilerek uzaklaştırılmıştır. Ekstraktların üzerine 50 mL saf su ilave edilerek -80°C'de 24 saat tutulmuş ve liyofilizatörde suyu uzaklaştırılarak kurutulmuştur. Toplam fenolik madde içeriği ve DPPH radikal süpürme aktivitesi analizlerinde elde edilen bu toz metanol ekstraktları kullanılmıştır.

#### Toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik madde miktarı, alkali ortamda fenolik bileşikler ve Folin reaktifi arasında renkli komplekslerin oluşumuna dayanan kolorimetrik Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965; Akbulut ve Akbulut, 2023). Uygun şekilde seyreltilmiş örneklerin metanol ekstraktları (0.5 mL) ve Folin çözeltisi (2.5 mL; 0.2N) karıştırıldıktan sonra doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi (2 mL; 75 g/L) ilave edilmiş ve reaksiyonun tamamlanması için 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra bir spektrofotometre ile 765 nm'de örneklerin absorbansları okunmuştur. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde (KM) olarak verilmiştir.

#### Antioksidan kapasite analizleri

Örneklerin metanol ekstraktlarının 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi, Brand-Williams vd. (1995) tarafından tanımlanan yöntemde Kahve vd. (2024)'e göre örnek hazırlama aşamalarında bazı modifikasyonlar yapılarak analiz edilmiştir. Bu yöntemde göre örneklerin metanol ekstraktlarından 0.1 mL'lik kısımlar 3.9 mL DPPH (6 x 10<sup>-5</sup> M) metanolik solüsyona ilave edilmiştir. Karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon sonrası örneklerin absorbansları, bir spektrofotometre ile 515 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar µmol Trolox eşdeğeri (TE)/kg KM olarak verilmiştir.

#### Makro ve mikro mineral analizleri

Yakma kabına yaklaşık 0.2 g kurutulmuş ve öğütülmüş örnekler eklendikten sonra üzerine 15 mL saf HNO<sub>3</sub> ve yaklaşık 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiştir. Numune MARS 5 Mikrodalga Fırında 200 °C'de yakılmış ve çözünen kül, ultra saf su ile



belirli bir hacme kadar seyreltilmiş ve filtre edilmiştir. Makro ve mikro mineral elementlerin konsantrasyonları bir ICP-AES (Akbulut ve Akbulut, 2023; Skujins, 1998) ile belirlenmiştir.

### Organik asit ve şeker profili analizi

Kurutulmuş ve öğütülmüş örneklerden 4 g alınarak bir homojenizatörde (WiseMix™ HG-150; Daihan Scientific, Kore) 50 mL ultra saf su içerisinde ekstrakte edilmiş ve daha sonra 4500 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (NF 800R, Nuve, Türkiye). Süpernatant, HPLC cihazına enjekte edilmeden önce şırınga filtreden (0.45 µm) geçirilmiştir. Organik asitlerin ve şekerlerin analizleri, organik asitler için DAD detektörü ve şekerler için ise RID detektörü ile donatılmış Agilent 1260 Infinity Serisi HPLC sistemi tarafından gerçekleştirilmiştir. Aminex HPX-87H kolonu (Bio-Rad, 300 x 7.8 mm) ile ayırma sağlanmıştır. Mobil faz olarak akış hızı 0.6 mL/dak olarak 0.005 N sülfürik asit kullanılmıştır. DAD dedektörü organik asitler için 210 nm'ye ayarlanmıştır. Sıcaklık 50°C'de tutuldu (Coklar vd., 2018; Akbulut vd., 2024). Organik asitlerin ve şekerlerin tanımlamaları alikonma sürelerine göre yapılmıştır. Veriler ChemStation yazılımı ile analiz edilmiştir.

### İstatistiksel analiz

*Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, meyve pulpu, sapı ve çekirdeklerinin toplam fenolik, antioksidan kapasite, organik asit ve şeker profili, makro- ve mikro-elementleri sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi amacıyla MINITAB Yazılımı versiyon 19 (Minitab Inc., PA, ABD) programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Grup ortalamaları arasındaki farkların anlamlı olup olmadığını görmek için Tukey testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi  $P < 0.05$  olarak kabul edilmiştir. Tüm sonuçlar "ortalama değer ± standart sapma" olarak verilmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Toplam Fenolik Madde ve DPPH radikal süpürme aktivite sonuçları

İki farklı kırmızı alıç bitkisi türüne ait meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımlarının metanol ekstraktlarının toplam fenolik madde (TFM)

içeriği ve DPPH radikal süpürme aktivitesine ait sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Her iki yemişen türü incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde içeriği  $26.93 \pm 1.82$  mg GAE/g kuru madde ile *Crataegus monogyna* Jacq. türünün sap kısmında tespit edilmiştir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün meyve pulpları sap kısmından sonra en fazla toplam fenolik madde içerdiği görülmekte olup bunu sırasıyla çekirdek ve meyve izlemiştir. *Crataegus monogyna* Jacq. meyvesi pulp ve çekirdeğinin TFM miktarı *Crataegus laevigata* (Poir.) DC meyvesi pulp ve çekirdeğine göre daha yüksek olduğu belirlenirken, meyve bakımından durumunun bunun tersine olduğu görülmektedir.

DPPH radikal süpürme kapasitesi sonuçları incelendiğinde ise, en yüksek değer *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün saptarında olduğu belirlenmiştir ( $376.48 \pm 11.50$  µmol TE/g KM). Bunu sırasıyla *Crataegus laevigata* (Poir.) DC meyvesi pulpu ve *Crataegus monogyna* Jacq. meyvesinin çekirdeği takip ettiği görülmektedir (Çizelge 1). *Crataegus laevigata* (Poir.) DC yemişen türünün meyvesi ve pulpunun DPPH radikal süpürme kapasitesi *Crataegus monogyna* Jacq. türünün meyve ve pulpuna göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Şekil 1'de de görüldüğü gibi TFM ile DPPH radikal süpürme kapasitesi arasında pozitif yönde güçlü ve önemli bir korelasyon olduğu ( $r = 0.938$ ;  $p = 0.000$ ) belirlenmiştir. TFM biyoaktif maddeler içerdiğinden ve antioksidan aktivitesi yüksek fenolik bileşiklerin toplamını ifade ettiğinden dolayı aynı zamanda bir antioksidan kapasite belirleme yöntemi olarak da değerlendirilmektedir (Kalpoutzakis vd., 2023).

Radi vd. (2023a) *Crataegus monogyna* Jacq. yaprak ve çiçeklerinin sulu ekstraktlarının TFM içeriğinin  $1.65 \pm 0.04$  mg GAE/g kuru madde (KM) olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmada *C. monogyna* ekstraktının, DPPH radikal süpürme aktivitesi yoluyla yapılan antioksidan aktivitesinin  $9.23 \pm 0.01$  mg/mL ve FRAP yoluyla ise  $8.32 \pm 0.02$  mg/mL IC50 olarak belirledikleri değerlere göre yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda elde edilen

*Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC metanol ekstraktlarının TFM içerikleri ve DPPH radikal süpürme kapasitelerinin Radi

vd. (2023a)'nın sonuçlarına göre daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 1. Farklı kırmızı alıç (yemişen) türlerine ait bazı kısımların Toplam Fenolik İçeriği ve *in vitro* antioksidan kapasitesi

Table 1. Total Phenolic Content (TPC) and *in vitro* antioxidant capacity of some parts of different red hawthorn (yemişen) species

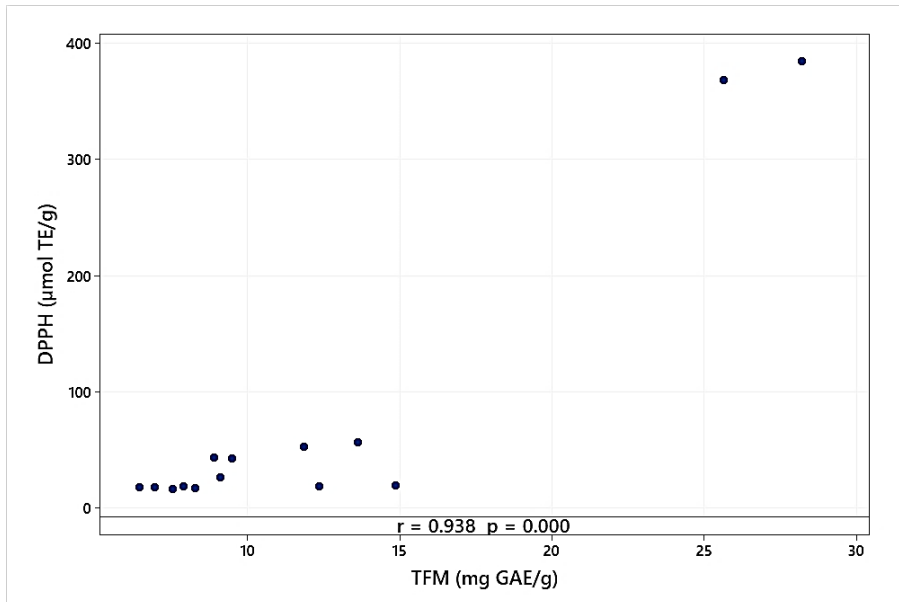
Örnekler Samples		TFM/TPC (mg GAE/g KM)	DPPH radikal süpürme kapasitesi/DPPH radical scavenging capacity ( $\mu\text{mol TE/g KM}$ )
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Meyve/ <i>Fruit</i>	7.73 $\pm$ 0.24 <sup>d</sup>	17.47 $\pm$ 1.32 <sup>c</sup>
	Pulp/ <i>Pulp</i>	13.61 $\pm$ 1.77 <sup>b</sup>	18.92 $\pm$ 0.38 <sup>c</sup>
	Çekirdek/ <i>Seed</i>	9.20 $\pm$ 0.43 <sup>bcd</sup>	43.19 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
	Sap/ <i>Stem</i>	26.93 $\pm$ 1.82 <sup>a</sup>	376.48 $\pm$ 11.50 <sup>a</sup>
<i>Crataegus laevigata</i> (Poir.) DC	Meyve/ <i>Fruit</i>	8.71 $\pm$ 0.58 <sup>cd</sup>	21.62 $\pm$ 6.37 <sup>c</sup>
	Pulp/ <i>Pulp</i>	12.74 $\pm$ 1.27 <sup>bc</sup>	54.80 $\pm$ 2.93 <sup>b</sup>
	Çekirdek/ <i>Seed</i>	6.70 $\pm$ 0.35 <sup>d</sup>	17.70 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>

Değerler "ortalama $\pm$ standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Values are expressed as "mean $\pm$ standard deviation".

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ); nd: tespit edilemedi; KM: Kuru Madde

Values shown with different letters in the same column indicate a statistically significant difference between them ( $P < 0.05$ ); nd: not detected; KM: Dry matter



Şekil 1. Yemişen bitkisi kısımlarının TFM ve DPPH radikal süpürme aktivitesi arasındaki Pearson korelasyon ( $r = 0.938$   $p = 0.000$ )

Figure 1. Pearson correlation between TPC and DPPH radical scavenging activity of red hawthorn parts ( $r = 0.938$   $p = 0.000$ )

Taleghani vd. (2024) alıcın farklı bir türü olan *Crataegus pentagyna* willd. meyve, yaprak ve köklerinin hidro-metanolik ekstraktlarında sırasıyla 210.22, 132.25 ve 102.46 mg GAE/g ve hidro-etanolik ekstraktlarında ise sırasıyla 189.49, 112.33 ve 93.19 mg GAE/g toplam fenolik madde olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada DPPH radikal süpürme aktivitelerinin de toplam fenolik madde miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiği görülmektedir.

Pugna vd. (2022) *Crataegus monogyna* alıç türünün çiçek, yaprak ve ham ve olgunlaşmış meyvelerinde polifenol miktarlarını sırasıyla 253.35, 199.50, 105.10 ve 284.06 µg GAE/mg ekstrakt olarak belirlemiş olup antioksidan aktivitenin fenolik artışı ile arttığını gözlemlemişlerdir.

Keser vd. (2014) *Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq alıç türünün yapraklarında, çiçek ve olgunlaşmış meyvelerine göre daha fazla toplam fenolik madde miktarı olduğunu belirlemişlerdir.

Literatür çalışmalarında *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin sap, çekirdek ve pulp kısımlarında toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Meyvelerdeki toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite durumları literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında farklılıklar olduğu ve bu farklılıkların farklı alıç türlerine ve bölge farklılıklarına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Taleghani vd. (2024) ve Pugna vd. (2022) çalışmasında olduğu gibi araştırmamızda elde edilen bulgular toplam fenolik madde miktarı ile DPPH radikal süpürme aktivitesi arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir ( $r=0.938$ ).

### Kırmızı alıç türlerinin farklı kısımlarına ait makro- ve mikro-mineral sonuçları

*Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımlarına ait makro-mineral değerleri Çizelge 2'de sunulmuştur. Her iki türün makro-mineralleri arasında en baskın bulunan makro-mineralin potasyum olduğu görülmektedir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün kısımları incelendiğinde en yüksek potasyum değerinin bitkinin sap kısmında olduğu ve bunu pulp ve meyve izlediği görülmektedir. Meyvenin çekirdek kısmı ise en az potasyum ihtiva ettiği belirlenmiştir. *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünde ise en yüksek potasyum meyve pulpunda en düşük ise diğer türde olduğu gibi çekirdekte olduğu belirlenmiştir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünde Ca, Mg, S ve Na makro-mineralleri en yüksek miktarda bitkinin sap kısımlarında olduğu tespit edilirken *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünün incelenen bitki kısımlarında ise bu makro-mineraller sırasıyla meyve, meyve, pulp, pulp ve çekirdek kısımlarında olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Farklı kırmızı alıç (yemişen) türlerine ait bazı kısımların makro mineralleri

Table 2. Macro minerals of some parts of different red hawtorn (yemişen) species

Örnekler Samples	Makro mineraller/Macro minerals (mg/kg KM)						
	P	K	Ca	Mg	S	Na	
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Meyve/Fruit	1511±59 <sup>d</sup>	16166±1870 <sup>d</sup>	6304±40 <sup>b</sup>	1306±71 <sup>c</sup>	644±18 <sup>b</sup>	30.62±10.16 <sup>cd</sup>
	Pulp/Pulp	1643±36 <sup>cd</sup>	27731±85 <sup>b</sup>	5407±182 <sup>bc</sup>	1657±47 <sup>b</sup>	645±28 <sup>b</sup>	52.91±10.63 <sup>bc</sup>
	Çekirdek/Seed	1148±17 <sup>e</sup>	3652±592 <sup>f</sup>	5493±332 <sup>bc</sup>	727.3±33.2 <sup>d</sup>	408±81 <sup>de</sup>	13.77±0.09 <sup>d</sup>
	Sap/Stem	2001±85 <sup>b</sup>	12839±1250 <sup>e</sup>	13341±783 <sup>a</sup>	2304±82 <sup>a</sup>	862±44 <sup>a</sup>	82.18±8.68 <sup>b</sup>
<i>Crataegus laevigata</i> (Poir.) DC	Meyve/Fruit	1772±63 <sup>c</sup>	18853±321 <sup>c</sup>	5370±142 <sup>bc</sup>	1199±19.9 <sup>c</sup>	520±22 <sup>cd</sup>	33.63±4.31 <sup>cd</sup>
	Pulp/Pulp	2310±61 <sup>a</sup>	31541±515 <sup>a</sup>	5326±115 <sup>c</sup>	1740±45 <sup>b</sup>	607±19 <sup>bc</sup>	62.70±2.93 <sup>bc</sup>
	Çekirdek/Seed	893±104 <sup>f</sup>	5623±321 <sup>f</sup>	4655±51 <sup>c</sup>	552±75 <sup>e</sup>	335±43 <sup>c</sup>	135.20±26.00 <sup>a</sup>

Değerler "ortalama±standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Values are expressed as "mean±standard deviation".

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ); nd: tespit edilemedi; KM: Kuru Madde

Values shown with different letters in the same column indicate a statistically significant difference between them ( $P < 0.05$ ); nd: not detected; KM: Dry matter

Çizelge 3'te verilen *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin çeşitli kısımlarına ait mikro-mineral durumu incelendiğinde demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn), çinko (Zn) ve bor (B) olmak üzere 5 mikro-mineral tespit edilmiş olup, en bol bulunan mineralin genel olarak Fe olduğu görülmektedir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün kısımları açısından bakıldığında ise en yüksek Fe miktarının meyvenin sap kısımlarında olduğu belirlenmiş olup bunu sırası ile meyve pulp, meyve ve çekirdek izlemiştir. *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünün meyve, pulp ve çekirdek kısımları *Crataegus monogyna* Jacq. türününkilere göre daha az Fe içerdiği

görülmektedir. *Crataegus laevigata* (Poir.) DC türüne ait meyve çekirdeklerinin en fazla içerdiği mikro-mineralin Fe olduğu ve bunu sırası ile B, Zn, Cu ve Mn'in izlediği tespit edilmiştir. Aynı türün meyvesinin pulpundaki mikro-minerallere bakıldığında en yüksek değerin B mineraline ait olduğu ve bunu sırası ile Fe, Zn, Mn ve Cu olduğu görülmektedir. Bu türün meyvedeki mikro-mineral değerlerinin en yüksekten en düşüğe bulunma sırası pulptaki durum ile benzerlik göstermektedir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün meyvesindeki mikro-minerallerden Fe, Cu ve Mn miktarları *Crataegus laevigata* (Poir.) DC türünün meyvesinden yüksek, Zn ve B miktarları ise daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3. Farklı kırmızı alıç (yemişen) türlerine ait bazı kısımların mikro mineralleri

Table 3. Micro minerals of some parts of different red hawthorn (yemişen) species

Örnekler Samples		Mikro mineraller/Micro minerals (mg/kg KM)				
		Fe	Cu	Mn	Zn	B
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Meyve/Fruit	49.72±0.92 <sup>e</sup>	13.22±2.94 <sup>a</sup>	14.76±0.40 <sup>e</sup>	6.32±0.41 <sup>de</sup>	14.32±0.04 <sup>e</sup>
	Pulp/Pulp	61.24±1.12 <sup>b</sup>	6.97±5.74 <sup>ab</sup>	18.74±0.49 <sup>b</sup>	5.17±0.60 <sup>e</sup>	29.01±0.75 <sup>b</sup>
	Çekirdek/Seed	30.54±7.63 <sup>d</sup>	7.90±1.04 <sup>ab</sup>	9.86±1.05 <sup>d</sup>	7.91±1.04 <sup>cd</sup>	4.91±0.05 <sup>s</sup>
	Sap/Stem	113.00±4.90 <sup>a</sup>	10.96±0.24 <sup>ab</sup>	22.32±0.89 <sup>a</sup>	13.64±0.98 <sup>b</sup>	21.78±1.38 <sup>d</sup>
<i>Crataegus laevigata</i> (Poir.) DC	Meyve/Fruit	14.01±2.13 <sup>e</sup>	6.79±0.34 <sup>ab</sup>	8.40±0.32 <sup>e</sup>	9.98±0.31 <sup>c</sup>	25.19±0.97 <sup>c</sup>
	Pulp/Pulp	25.62±0.92 <sup>d</sup>	5.54±0.26 <sup>b</sup>	10.89±0.16 <sup>d</sup>	20.39±1.00 <sup>a</sup>	43.84±1.67 <sup>a</sup>
	Çekirdek/Seed	25.74±0.31 <sup>d</sup>	6.95±0.31 <sup>ab</sup>	6.12±0.49 <sup>f</sup>	7.65±0.97 <sup>d</sup>	9.05±0.86 <sup>f</sup>

Değerler "ortalama±standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Values are expressed as "mean±standard deviation".

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ); nd: tespit edilemedi; KM: Kuru madde

Values shown with different letters in the same column indicate a statistically significant difference between them ( $P < 0.05$ ); nd: not detected; KM: Dry matter

Kırmızı alıç türlerinin sap, yaprak, meyve, pulp ve çekirdeklerinde en çok bulunan makro-minerallerden biri potasyumdur. Potasyumdan sonra en çok bulunan makro-minerallerin Ca, Mg ve P olduğu belirtilmektedir (Boudraa vd., 2010; Özcan vd., 2005). Potasyum önemli bir besindir ve hücrelerdeki pozitif iyonların yaklaşık %70'ini oluşturur ve hücrelerdeki asit-baz ve su dengesinin düzenlenmesinde esastır (Senhaji vd., 2020). Ca, K ve Mg, yıpranmış hücrelerin onarılması, kemiklerin ve dişlerin güçlendirilmesi, kırmızı kan hücrelerinin mekanizmaları ve vücut için gerekli olan makro-mineral elementlerdir. Fe, oksijen ve elektron transferinde önemli bir role sahip olduğundan insan vücudu için oldukça

önemli bir mikro mineral elementtir (Özcan ve Akbulut, 2008). Cu ve Zn, enzimatik ve redoks sistemlerinin bileşenleri gibi çok çeşitli işlevleri yerine getirdikleri için insan beslenmesi için gerekli mikro-minerallerdir (McLaughlin vd., 1999). Diyetteki Bor, çoğu metabolik enzimin aktivitesinin yanı sıra steroid hormonlarının ve Ca, Mg ve D vitamini dahil olmak üzere çeşitli besin maddelerinin metabolizmasını etkilediği için hayvanlar ve insanlar için önemli bir mikro besin maddesi olabilir. Aynı zamanda, beyin fonksiyonlarını iyileştirmede önemli bir rol oynayabilmektedir (Devirian ve Volpe, 2003).

Boudra vd. (2010) *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq. alıç türlerinin meyvelerinde 3 makro- (Ca, K, Mg) ve 3 mikro-element (Fe, Mn, Zn) tespit etmiş olup, yüksekte düşüğe makro elementlerin miktarsal sıralamasını *Crataegus azarolus* L. türü alıç için  $K > Ca > Mg$  ve *Crataegus monogyna* Jacq. alıç türü için ise  $Ca > K > Mg$  şeklinde, mikro-elementlerin ise her iki tür için  $Fe > Mn > Zn$  şeklinde olduğunu gözlemlemişlerdir.

Radi vd. (2023) *C. laciniata* ve *C. monogyna* alıç türleri meyvelerinin sulu ekstraktlarında As, Cr, Pb, Ni, Cd ve Mg olmak üzere 6 mineral tespit etmiş oldukları çalışmalarında tespit ettikleri mineraller arasında miktarsal açıdan en yüksek Mg olduğunu ve *C. laciniata* türü alıç meyvesindeki Mg miktarın *C. monogyna* alıç türünün meyvesine göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, sap ve yaprak aksamalarının literatürdekilere göre daha geniş bir mineral dağılım gösterdiği görülmektedir. Yapısında bulunan ve insan metabolizması için gerekli olan mineraller açısından *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımları önemli bir potansiyel kaynak olabileceği düşünülmektedir.

### Organik asit ve şeker profili

Meyvelerde bulunan organik asitler ve şekerler meyvenin temel kalite özellikleri olup aralarındaki oransal denge, onların tat ve aromalarına önemli düzeyde etki etmektedirler. Bu denge hem meyvelerin olgunlaşma düzeylerini belirlemede ve hem de meyvelerden üretilecek reçel, marmelat, konserve gibi ürünlerin üretilme aşamalarına da etki etmektedir (Toker vd., 2013). Meyvelerin organik asit ve şeker dağılımı ve konsantrasyonları çeşit, hasat zamanı, ekolojik koşullar, yetiştirme yöntemleri gibi faktörlerden etkilenmektedir (Chen vd., 2008).

Meyvelerde meydana gelen metabolik değişiklikler, renk, doku ve tat gelişimini etkileyerek besinsel ve duyu kalitenin artmasını sağlar. Bu değişiklikler, tüketici kabul

edilebilirliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda meyvenin raf ömrünü de uzatır. Organik asit konsantrasyonlarındaki değişimler bu metabolik değişikliklere örnektir (Toker vd., 2013). Organik asitler, meyvenin tadı ve lezzetinin ana belirleyicilerindedir (Cao vd., 2009; Chen vd., 2009; Xu vd., 2010; Toker vd., 2013). Olgunlaşma sırasında organik asitler, solunum metabolizmasında enerji kaynağı olarak kullanıldıkları için konsantrasyonları azalır ve karbon kaynağı olarak şeker üretimine katkıda bulunurlar. Olgunlaşma sürecinde biriken başlıca şekerler glukoz, fruktoz ve sükrozdur (Hasegawa vd., 2010; Toker vd., 2013).

*Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC yemişen (kırmızı alıç) türlerinin meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımlarına ait organik asit dağılımı ve konsantrasyonları Çizelge 4'te gösterilmektedir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün meyve ve pulpunda sitrik, malik, askorbik ve süksinik asit olmak üzere 4 organik asit tespit edilmiştir. Aynı türün meyve çekirdeğinde malik, askorbik ve formik asit olmak üzere 3 organik asit tespit edilirken, sap kısımlarında formik asit dışında 5 organik asit olduğu belirlenmiştir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün tüm unsurlarında en hâkim organik asidin malik asit olduğu belirlenirken bunu sırası ile sitrik ve askorbik asit takip etmiştir. Tartarik ve süksinik asidin varlığına rastlanmış ancak cihazın tespit limitinin altında kaldığı için hesaplanamamıştır.

*Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünün meyve ve pulpunda *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünden farklı olarak formik asitte tespit edilmiştir. Aynı türün meyve çekirdekleri kısmında sitrik, tartarik, malik ve formik asit tespit edilmiş olup sitrik ve tartarik asit HPLC cihazının tespit limitinin altında kalmıştır. *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünün test edilen tüm unsurlarında da hâkim organik asidin malik asit olduğu görülmektedir. Bunu sırası ile formik asit sitrik asit ve askorbik asit izlemiştir. Her iki kırmızı alıç türünün unsurlarının tespit edilen organik asitleri arasındaki miktarsal farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Çizelge 4. Farklı kırmızı alıç (yemişen) türlerine ait bazı kısımların organik asit dağılımı  
 Table 4. Organic acid profile of some parts of different red hawtorn (yemişen) species

Örnekler Samples	Organik asitler/Organic acids (mg/kg KM)						
	Sitrik Citric	Tartarik Tartaric	Malik Malic	Askorbik Ascorbic	Formik Formic	Süksinik Succinic	
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.	Meyve/Fruit	41.60±2.55 <sup>b</sup>	nd	153.00±7.07 <sup>c</sup>	12.00±0.71 <sup>b</sup>	-	nd
	Pulp/Pulp	28.20±0.85 <sup>c</sup>	nd	109.0±11.31 <sup>cd</sup>	18.60±0.99 <sup>a</sup>	-	nd
	Çekirdek/Seed	nd	-	85.12±5.09 <sup>d</sup>	3.02±0.04 <sup>d</sup>	137.00±9.90 <sup>a</sup>	-
	Sap/Stem	78.70±3.96 <sup>a</sup>	1.390±0.156	235.40±11.31 <sup>b</sup>	5.24±0.06 <sup>c</sup>	-	nd
<i>Crataegus laevigata</i> (Poir.) DC	Meyve/Fruit	4.45±0.24 <sup>e</sup>	nd	242.9±21.2 <sup>b</sup>	0.715±0.023 <sup>e</sup>	52.91±3.00 <sup>d</sup>	nd
	Pulp/Pulp	12.00±0.26 <sup>d</sup>	nd	400.2±29.7 <sup>a</sup>	1.74±0.03 <sup>d</sup>	91.40±1.84 <sup>b</sup>	nd
	Çekirdek/Seed	nd	nd	65.14±1.84 <sup>d</sup>	-	72.60±2.77 <sup>c</sup>	nd

Değerler "ortalama standart sapma" olarak ifade edilmiştir.

Values are expressed as "mean±standard deviation".

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ); nd: tespit edilemedi; KM: Kuru madde

Values shown with different letters in the same column indicate a statistically significant difference between them ( $P < 0.05$ ); nd: not detected; KM: Dry matter

*Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerine ait meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımlarının şeker dağılımı ve konsantrasyonları Çizelge 5'te verilmektedir. Her iki kırmızı alıç türünün meyve ve meyve pulpu kısımlarında sükröz, glukoz ve fruktoz olmak üzere 3 şeker ve çekirdek ve sap kısımlarında ise sükröz ve fruktoz olmak üzere 2 şeker tespit edilmiştir. Tespit edilen şekerler açısından *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, pulp, çekirdek ve sap kısımlarında *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün çekirdek kısmı hariç (fruktoz % 32.31) fruktozun (% 80.44-85.50) baskın olduğu belirlenmiştir. *Crataegus monogyna* Jacq. kırmızı alıç türünün meyve ve meyve pulpundaki toplam şeker, fruktoz ve glukozun *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türündekine göre daha yüksek bulunmuştur. *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türünün meyve çekirdeklerindeki toplam şeker ve fruktoz miktarı *Crataegus monogyna* Jacq. türünün meyve çekirdeklerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bazı sarı-turuncu renkli alıç bitki türünün (*Crataegus* spp.) meyvelerinde ölçülen asitlerin en yaygın olanı sitrik asit olduğu (Gao vd., 1995; Liu vd., 2010) bazı çalışmalarda ise malik asit olduğu

(Chapman vd., 1991; Bignami vd., 2003) belirtilmektedir. Ayrıca bu bitki türlerinin meyveleri azımsanmayacak düzeyde askorbik asit de ihtiva etmektedir. Askorbik asit, insan vücudunda sentezlenemeyen dışarıdan alınması zorunlu temel bir besin maddesidir (Edwards vd., 2012) ve aynı zamanda bir antioksidan görevi gördüğü için kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi oksidatif strese bağlı patolojileri önleyebilmektedir (Njus vd., 2020). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularda *Crataegus monogyna* Jacq. türünün meyve ve pulplarında *Crataegus laevigata* (Poir.) DC türünün meyve ve pulplarındakine göre daha fazla olmak üzere 12.00-18.60 mg/kg KM askorbik asit tespit edilmiştir.

*Crataegus* türleri üzerine yapılan araştırmalarda çoğunlukla sükröz, glukoz ve fruktoz tespit edildiği ve hâkim olan şekerin ise bölgeye ve türe bağlı olmak üzere glukoz ve fruktoz olduğu belirtilmektedir (Yang vd., 2012; Öztürk vd., 2022; Liu vd., 2010). Fruktoz, genel olarak meyvelerde bulunan hâkim şekerdir ve meyve şekeri olarak isimlendirilmektedir (Adak vd., 2016). Fruktoz 5 doğal şeker arasında (sükröz, glukoz, fruktoz, laktoz ve maltoz) arasında tatlılık indeksi en yüksek şekerdir (Mao vd., 2019) ve meyvenin tatlılığında diğer şekerlere göre daha

fazla paya sahiptir. Çalışmamızdan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde şeker profili ve

hâkim olan şeker açısından yapılan araştırmalarla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 5. Farklı kırmızı alıç (yemişen) türlerine ait bazı kısımlarının şeker dağılımı  
Table 5. Sugar distribution of some parts of different red hawtorn (yemişen) species

Örnekler Samples	Şekerler/Sugars (g/kg KM)				F/TŞ F/TS (%)	
	Sukroz Sucrose	Glukoz Glucose	Fruktoz Fructose	Toplam Şeker Total Sugar		
<i>Crataegus monogyna</i> Jack.	Meyve/ <i>Fruit</i>	0.628±0.009 <sup>b</sup>	0.314±0.021 <sup>c</sup>	5.460±0.308 <sup>b</sup>	6.402 <sup>b</sup>	85.29
	Pulp/ <i>Pulp</i>	1.030±0.026 <sup>a</sup>	0.857±0.018 <sup>b</sup>	8.990±0.518 <sup>a</sup>	10.877 <sup>a</sup>	82.65
	Çekirdek/ <i>Seed</i>	0.308±0.024 <sup>d</sup>	-	0.147±0.007 <sup>d</sup>	0.455 <sup>d</sup>	32.31
	Sap/ <i>Stem</i>	0.660±0.017 <sup>b</sup>	-	3.740±0.085 <sup>c</sup>	4.400 <sup>c</sup>	85.00
<i>Crataegus laevigata</i> (Poir.) DC	Meyve/ <i>Fruit</i>	0.412±0.016 <sup>c</sup>	0.276±0.023 <sup>c</sup>	4.050±0.077 <sup>c</sup>	4.738 <sup>c</sup>	85.50
	Pulp/ <i>Pulp</i>	0.667±0.024 <sup>b</sup>	0.953±0.016 <sup>a</sup>	8.460±0.327 <sup>a</sup>	10.080 <sup>a</sup>	83.93
	Çekirdek/ <i>Seed</i>	0.241±0.002 <sup>d</sup>	nd	0.991±0.018 <sup>d</sup>	1.232 <sup>b</sup>	80.44

Değerler “ortalama±standart sapma” olarak ifade edilmiştir.

Values are expressed as “mean±standard deviation”.

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ); nd: tespit edilemedi; KM: Kuru madde

Values shown with different letters in the same column indicate a statistically significant difference between them ( $P < 0.05$ ); nd: not detected; KM: Dry matter

F/TŞ: Fruktoz/Toplam Şeker (%)

F/TS: Fructose/Total Sugar (%)

## SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları, *Crataegus monogyna* Jack. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC kırmızı alıç türlerinin meyve, pulp, sap ve çekirdeklerinin yüksek miktarda toplam fenolik maddeye sahip olduklarını göstermektedir. Bununla birlikte sonuçlar birçok bitki türlerine göre her iki kırmızı alıç türünün test edilen örneklerine ait DPPH radikal süpürme kapasitelerinin de oldukça yüksek olduklarını göstermiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite bakımından her iki bitkinin unsurları arasında meyve sapının en yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Kırmızı alıç türlerinin meyve ve pulplarının da meyve sapından sonra oldukça yüksek toplam fenolik madde içeriğine ve antioksidan kapasitesine sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Her iki kırmızı alıç türünün test edilen unsurlarında 6 makro element (P, K, Ca, Mg, S ve Na) ve 5 mikro element olmak üzere toplam 11 mineral tespit edilmiş olup en bol bulunan makro elementin K ve mikro elementin ise Fe olduğu anlaşılmıştır. Kırmızı alıç türlerinde 6 organik asit

tespit edilmiş ve meyve, pulp ve saplarda en baskın organik asidin malik asit olduğu çekirdekte ise formik asit olduğu görülmektedir. Tespit edilen 3 şeker arasında en baskın şeker olan fruktoz meyve, pulp ve saplarda yaklaşık %80-86 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak, her iki kırmızı alıç türünün unsurlarının da organik asit, askorbik asit, şeker, fenolik madde ve mineral bakımından zengin olduğu ve insan sağlığı ve beslenmesi açısından değerlendirilebilir nitelikte olduğu düşünülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

## KAYNAKLAR

Adak, N., Tetik, N., Güneş, E., Balkıç, R., Gübbük, H., Kulcan, A.A. (2016). Değişik yetiştirme sistemlerinin çilek (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) meyvelerinin bazı fizikokimyasal özellikleri üzerine etkileri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 29(2): 33-38.

- Akbulut, H.F., Akbulut, M. (2023). Mineral composition, the profile of phenolic compounds, organic acids, sugar and in vitro antioxidant capacity, and antimicrobial activity of organic extracts of *Juniperus drupacea* fruits. *Food Science & Nutrition*, 11(10): 6435-6446, <https://doi.org/10.1002/fsn3.3586>
- Akbulut, H. F., Almaghrebi, E., Obali, I., Vatanssev, H., Vatanssev, H., Akbulut, M. (2024). Evaluation the organic acid, tocopherol and phenolic profiles of *Dracaena cinnabari* resin extracts obtained by different solvent extraction. *Latin American Applied Research*, 54(2): 195-200, <https://doi.org/10.52292/j.laar.2024.2865>
- Bignami, C., Paolucci, M., Scossa, A., Bertazza, G. (2003). Preliminary evaluation of nutritional and medicinal components of *Crataegus azarolus* fruits. *Acta Horticulturae*, 597: 95–100, <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.597.11>
- Boudraa, S., Hambaba, L., Zidani, S., Boudraa, H. (2010). Mineral and vitamin composition of fruits of five underexploited species in Algeria: *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L. and *Zizyphus lotus* L. *Fruits (Paris)*, 65(2): 75-84, <https://doi.org/10.1051/fruits/20010003>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28: 25–30, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cao, S., Zheng, Y., Yang, Z., Wanga, K., Ruia, H. (2009). Effect of methyl jasmonate on quality and antioxidant activity of postharvest loquat fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 2064–2070, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3691>
- Chapman, G.W., Horvat, R.J., Payne, J.A. (1991). The nonvolatile acid and sugar composition of mayhaw fruits (*Crataegus aestivalis*, *C. opaca*, *C. rufula*). *Journal of Food Quality*, 14: 435–439, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1991.tb00083.x>
- Chen, F.X., Liu, X.H., Chen, L.S. (2008). Organic acid composition in the pulp of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl) and distribution in fruits. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 16: 189-196.
- Chen, F.X., Liu, X.H., Chen, L.S. (2009). Developmental changes in pulp organic acid concentration and activities of acid-metabolizing enzymes during the fruit development of two loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars differing in fruit acidity. *Food Chemistry* 114: 657-664, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.003>
- Coklar, H., Akbulut, M., Alhassan, I., Kirpiti, S., Korkmaz, E. (2018). Organic acids, sugars, phenolic compounds and antioxidant activity of *Malus floribunda coccinella* fruit, peel and flesh. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 17(5): 47-59, <https://doi.org/10.24326/asphc.2018.5.5>
- Devirian, T.A., Volpe, S.L. (2003). The physiological effects of dietary boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43: 219–231, <https://doi.org/10.1080/10408690390826491>
- Edwards, J.E., Brown, P.N., Talent, N., Dickinson, T.A., Shipley, P.R. (2012). A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, 79: 5–26, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.04.006>
- Ergezen, M.K. (1999). *Crataegus tanacetifolia* (lam.) pers. üzerinde farmakognozük araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, İstanbul, Türkiye.
- Fakhri, M., Davoodi, A., Parviz, M., Sadeghi Ghadi, Z., Mousavinasab, S. N., Farhadi, R., Azadbakht, M., Azadbakht, M. (2017). Characterization and HPLC analysis of manna from some *Cotoneaster* species. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(12): 5360-5366. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8\(12\).5360-66](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(12).5360-66)
- Gao, P.Y., Li, L.Z., Peng, Y., Li, F.F., Niu, C., Huang, X.X., Ming, M., Song, S.J. (2010). Monoterpene and lignan glycosides in the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38: 988–992, <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.09.010>
- Hasegawa, P.N., Faria, A.F., Mercadante, A.Z., Chagas, E.A., Pio, R., Lajolo, F.M., Cordenunsi,



- B.R., Purgatto, E. (2010). Chemical composition of five loquat cultivars planted in Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(2): 552-559.
- Kahve, H. I., Coklar, H., Akbulut, M. (2024). The effect of different drying techniques on some bioactive compounds and antibacterial properties of *Polygonum sivasicum*. *Latin American Applied Research*, 54(1): 39-44, <https://doi.org/10.52292/j.laar.2024.1968>
- Kalpoutzakis, E., Chatzimitakos, T., Athanasiadis, V., Mitakou, S., Aligiannis, N., Bozinou, E., Gortzi, O., Skaltsounis, L.A., Lalas, S.I. (2023). Determination of the total phenolics content and antioxidant activity of extracts from parts of plants from the Greek Island of Crete. *Plants*, 12(5): 1092, <https://doi.org/10.3390/plants12051092>
- Keser, S., Celik, S., Turkoglu, S., Yilmaz, Ö., Turkoglu, I. (2014). The investigation of some bioactive compounds and antioxidant properties of hawthorn (*Crataegus monogyna* subsp. *monogyna* Jacq). *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 3(2): 51, <https://doi.org/10.5455/jice.20140120103320>
- Liu, P., Kallio, H., Lu, D., Zhou, C., Ou, S., Yang, B. (2010). Acids, sugars, and sugar alcohols in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2): 1012-1019, <https://doi.org/10.1021/jf902773v>
- Mao, Y., Tian, S., Qin, Y., Han, J. (2019). A new sensory sweetness definition and sweetness conversion method of five natural sugars, based on the Weber-Fechner Law. *Food Chemistry*, 281: 78-84, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.049>
- McLaughlin, M.M.J., Parker, D.R., Clarke, J.M. (1999). Metals and micronutrients-food safety issues. *Field Crops Research*, 60: 143– 163, [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3)
- Nazhand, A., Lucarini, M., Durazzo, A., Zaccardelli, M., Cristarella, S., Souto, S. B., Santini, A. (2020). Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties. *Forests*, 11(5), 564, <https://doi.org/10.3390/f11050564>
- Njus, D., Kelley, P.M., Tu, Y.J., Schlegel, H.B. (2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 159: 37–43, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>
- Orhan, I.E. (2018). Phytochemical and Pharmacological Activity Profile of *Crataegus oxyacantha* L. (Hawthorn)-A Cardi tonic Herb. *Curr. Medicinal Chemistry*, 25: 4854–4865, <https://doi.org/10.2174/0929867323666160919095519>
- Özcan, M., Haciseferoğulları, H., Marakoğlu, T., Arslan, D. (2005). Hawthorn (*Crataegus* spp.) fruit: some physical and chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 69(4): 409-413, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.032>
- Özcan, M.M., Akbulut, M. (2008). Estimation of minerals, nitrate and nitrite contents of medicinal and aromatic plants used as spices, condiments and herbal tea. *Food Chemistry*, 106: 852–858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.045>
- Öztürk, F. S., Gökbulut, İ., Hayaloğlu, A. A. (2022). Evaluation of physicochemical characteristics, antioxidant activity and phenolic profile of *Crataegus* species in Malatya, Turkey. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 1: 78-85.
- Pugna, A. A., Nagy, I. N., Socaci, S. A., Hodişan, B., Biriş-Dorhoi, S. E., Tofană, M. (2022). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Crataegus monogyna*. *Hop and Medicinal Plants*, 30(1/2): 287-295.
- Radi, F. Z., Bencheikh, N., Bouhrim, M., Saleh, A., Al kamaly, O., Parvez, M. K., Elbouzidi, A., Bnouham, M., Zair, T. (2023a). Phytochemical Analysis, Antioxidant, and Antihyperglycemic Activities of *Crataegus monogyna* Jacq Aqueous Extract. *Natural Product Communications*, 18(8), 1934578X231195157, <https://doi.org/10.1177/1934578X231195157>
- Radi, F. Z., Bencheikh, N., Anarghou, H., Bouhrim, M., Alqahtani, A. S., Hawwal, M. F., Noman, O.M., Bnouham, M., Zair, T. (2023b). Quality control, phytochemical profile, and biological activities of *Crataegus monogyna* Jacq. and

- Crataegus laciniata* Ucria fruits aqueous extracts. Saudi Pharmaceutical Journal, 31(10), 101753.
- Senhaji, S., Lamchouri, F., Toufik, H. (2020). Phytochemical content, antibacterial and antioxidant potential of endemic plant anabasis aretioides coss. & moq. (Chenopodiaceae). *BioMed Research International*, 2020: 6152932, <https://doi.org/10.1155/2020/6152932>
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158, <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Skujins, S. (1998). Handbook for ICP-AES (varian-vista). *A short guide to vista series ICP-AES operation. Varian Int. AG, Zug, Version, 1-0.*
- Taleghani, A., Eghbali, S., Moghimi, R., Mokaber-Esfahani, M. (2024). *Crataegus pentagyna* willd. Fruits, leaves and roots: phytochemicals, antioxidant and antimicrobial potentials. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1): 126. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04430-4>
- Tetik, F., Civelek, S., Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1): 331-346, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.054>
- Toker, R., Gölükcü, M., Tokgöz, H., Tepe, S. (2013). Organic acids and sugar compositions of some loquat cultivars (*Eriobotrya japonica* L.) grown in Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*, 19(2): 121-128, [https://doi.org/10.1501/Tarimbil\\_0000001236](https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001236)
- Wu, J., Peng, W., Qin, R., Zhou, H. (2014). *Crataegus pinnatifida*: Chemical constituents, pharmacology, and potential applications. *Molecules*, 19: 1685–1712, <https://doi.org/10.3390/molecules19021685>
- Xu, H., Chen, J., Xie, M. (2010). Effect of different light transmittance paper bags on fruit quality and antioxidant capacity in loquat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90: 1783-1788, <https://doi.org/10.1002/jsfa.4012>
- Yang, B., Liu, P., Kallio, H. (2012). Sugars, Acids, and Phenolic Compounds in Chinese Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits of Different Origins. In *Emerging Trends in Dietary Components for Preventing and Combating Disease* (pp. 275-286). American Chemical Society.



## CONSUMER ACCEPTANCE, ATTITUDE AND KNOWLEDGE STUDIES ON ALTERNATIVE PROTEIN SOURCES: INSIGHT REVIEW

**Başak CAN\***, Fuzail MAJOO, Arda ÖZTÜRKCAN

İstanbul Gelişim Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü İstanbul, Türkiye

Received / Geliş: 27.02.2024; Accepted / Kabul: 08.07.2024; Published online / Online baskı: 23.07.2024

Can, B., Majoo, F., Öztürkcan, A. (2024). Consumer acceptance, attitude and knowledge studies on alternative protein sources: Insight review. *GIDA* (2024) 49 (4) 682-702 doi: 10.15237/ gida.GD24030

Can, B., Majoo, F., Öztürkcan, A. (2024). Alternatif protein kaynakları üzerine tüketici kabulü, tutumu ve bilgi çalışmaları: Derleme makalesi. *GIDA* (2024) 49 (4) 682-702 doi: 10.15237/ gida.GD24030

### ABSTRACT

As the world's population grows and climatic conditions worsen, the world's current resources are rapidly depleting. Human behavior exacerbates this adverse situation. One of these behaviors is traditional eating habits. A traditional diet that consists of animal-based proteins consumes more resources and pollutes the environment to a greater extent. The traditional diet, which consists of mostly animal-based proteins, may turn towards plant-based proteins. In addition to plant-based proteins, in recent years scientists have focused on exploring alternative protein sources that do not pollute the environment and require fewer resources. Plant-based proteins, algae, insect-based proteins, and cultured meat have all been identified in the literature as alternative protein sources that may be consumed alone (in dry or concentrated form) or added to foods. While alternative protein sources are still being developed, the consumer's opinion on these sources is being assessed. So, in this review, consumers' knowledge, acceptance, and attitude to alternative protein sources are discussed. Data shows that plant-based protein sources, including algae, are now widely claimed to be more accepted than traditional protein sources. It has also been established that most individuals are prejudiced toward insect-based protein and cultured meat due to lack of sufficient information.

**Keywords:** Alternative protein sources, consumer acceptance, consumer attitude, sustainability

## ALTERNATİF PROTEİN KAYNAKLARI ÜZERİNE TÜKETİCİ KABULÜ, TUTUMU VE BİLGİ ÇALIŞMALARI: DERLEME MAKALESİ

### ÖZ

Dünya nüfusu arttıkça ve iklim koşulları kötüleştiğçe, mevcut kaynaklar hızla tükenmektedir. İnsan davranışları bu olumsuz durumu daha da kötüleştirmektedir. Bu davranışlardan biri de geleneksel beslenme alışkanlıklarıdır. Hayvansal proteinlere dayalı bir geleneksel diyet, daha fazla kaynağı tüketir ve çevreyi daha fazla kirletir. Çoğunlukla hayvansal protein içeren geleneksel diyet, bitki temelli proteinlere doğru yönelebilir. Son yıllarda bilim adamları, çevreyi kirletmeyen ve daha az kaynak gerektiren alternatif protein kaynaklarını keşfetmeye odaklanmıştır. Bitki temelli proteinler, algler, böcek temelli proteinler ve kültürlenmiş et, literatürde belirtildiği gibi tek başına tüketilebilen (kuru veya konsantre formda) veya yiyeceklere eklenen alternatif protein kaynakları olarak tanımlanmıştır. Alternatif protein kaynakları hala geliştirilmekte olup tüketicilerin bu kaynaklara yönelik görüşleri

\*Corresponding author / Sorumlu yazar

✉ :dytbasakulker@gmail.com

☎ : (+90) 538 880 5936

Başak Can; ORCID ID: 0000-0002-0608-6496

Fuzail Majoo; ORCID ID: 0000-0002-4413-8795

Arda Öztürkcan; ORCID ID: 0000-0001-7982-6988

değerlendirilmektedir. Bu derlemede, tüketicilerin alternatif protein kaynaklarına yönelik bilgi, kabul ve tutumları tartışılmaktadır. Veriler, bitki temelli protein kaynaklarının, algelerin de içinde bulunduğu, geleneksel protein kaynaklarından daha fazla kabul edildiğini göstermektedir. Ayrıca, çoğu bireyin yeterli bilgiye sahip olmadığı için böcek temelli protein ve yapay et konusunda önyargılı olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Alternatif protein kaynakları, tüketici kabulü, tüketici tutumu, sürdürülebilirlik

### INTRODUCTION

The global population is projected to rapidly increase, reaching 9.7 billion by 2050 and 11 billion by 2100, according to the United Nations (United Nations, 2019). Alongside this development, the number of individuals who are malnourished is increasing daily. Undernourishment prevalence jumped from 8.0% in 2019 to around 9.3% in 2020 and continued to rise in 2021 to around 9.8%, with an estimated 828 million people facing hunger in 2021 (Food and Agriculture Organization, 2022). In contrast, 650 million individuals are considered obese, and 1.9 billion people are overweight (World Health Organization, 2020). This disparity between those who lack access to adequate and healthy food and those who are obese has been exacerbated by the COVID-19 pandemic (Workie et al., 2020).

The COVID-19 outbreak disrupted inter-country trade, causing interruptions in transportation networks, workforce shortages in food supply chains, and limitations on product movement. Each country had to rely on the resources at hand, leading many companies to go out of business and employees in various sectors to be laid off or experience financial losses (Özdin and Bayrak Özdin, 2020). This led to a realization that the world's current resources were unsustainable, and the concept of sustainability resurfaced.

Sustainability is defined as the ability to maintain a system in the long term and meet the needs of the present without compromising the needs of future generations (United Nations, 2022). To ensure the sustainability of community nutrition, decreasing underground and surface resources should be taken into account as well as increasing environmental pollution. Scientists have been working on producing alternative protein sources to ensure the long-term sustainability of public nutrition. These alternative protein sources

should be easily accessible, clean, consistent, and provide sufficient nutrients to sustain life (World Economic Forum, 2019). Plant-based proteins (de Koning et al., 2020), algae (Enzing et al., 2014), insect-based protein (La Barbera et al., 2020), and cultured meat (World Economic Forum, 2019) have all been identified as protein sources that can potentially meet these sustainability parameters.

Despite the difficulties of altering a person's traditional diet, various efforts must be taken to achieve this change for the health of both the individual and the environment. The first step is to alter the type of protein in the diet. However, most consumers are uninformed about the environmental impact and are reluctant to change (Siegrist and Hartmann, 2019; Onwezen et al., 2021). Therefore, it is essential to understand why consumers may be unwilling to consume alternative protein sources and to develop interventions to promote consumer acceptability of various protein sources (Onwezen et al., 2021).

Most consumer acceptability and knowledge research has focused on plant-based proteins, algae (Onwezen et al., 2021), insect-based proteins (de Carvalho, 2020; La Barbera et al., 2020), and cultured meat (Thavamani et al., 2020). The results of this review are important for guiding society toward more sustainable protein consumption, industry development of alternative proteins, and identifying knowledge gaps in the consumption of alternative protein sources for sustainability reasons. Therefore, this review aims to summarize consumer awareness, attitude, knowledge, and acceptability research as well as provide information on alternative protein sources in the literature.

### ALTERNATIVE PROTEIN SOURCES

In January 2016, the United Nations (UN) published the Sustainable Development Goals.

All member states have signed the goals, which include 17 titles that draw attention to concerns like poverty and hunger reduction, economic injustice, and climate change (United Nations, 2022). The second title included in the UN's goals is "Zero Hunger". According to the World Food Program, 135 million people are suffering from acute hunger, primarily as a result of human-induced conflicts, economic retrogression, and climate change. With billions of people on the brink of famine, actions are needed to deliver food and humanitarian aid to the areas most at risk. Simultaneously, a major shift in the global food and agricultural systems is required to secure enough nourishment for the more than 690 million people who are hungry now, as well as the projected 2 billion people who will be on the planet by 2050 (United Nations, 2022). Among the things that may be done to effect this radical change is the proliferation of alternative protein sources, which can avert potential hunger while creating less environmental harm than traditional protein sources. In recent years, scientists have concentrated their efforts on creating alternative protein sources in a variety of research and biotechnological studies (Can et al., 2021).

### **Plant-based Proteins**

The demand for plant-based proteins has increased in recent years due to the rise in obesity, animal-based illnesses, and antibiotic-fed animals, as well as rising meat prices, which have limited people's consumption (Mongi and Gomezulu, 2022).

Plant-based proteins refer to products mostly composed of proteins derived from vegetables, legumes, grain protein (Clark and Bogdan, 2019). They are known as storage proteins and determine the nutritional values and functional properties of plant-based protein-derived foods (Saldamli and Temiz, 2017). Most plant-based protein alternatives are currently developed from soybean due to their higher protein content, nutritional properties, and low price (Siddiqui et al., 2022).

Legumes can deliver greater quantities of protein (20-30%) without the high-fat content associated with protein-rich foods, whereas carbohydrates constitute approximately 75% of cereals, and their protein content ranges from 6 to 15% (Can et al., 2021). For example, chickpeas provide 18.56 g of protein, green lentils have 23.00 g, and peas have 19.82 g per 100 g with pulses getting 20-30% of their energy from protein and just about 3% from lipids (Ahnen et al., 2019; Can et al., 2021). This demonstrates that the protein content and quality of legumes are quite high and healthier than high-fat animal-based protein sources (Clark and Bogdan, 2019). When cereals and legumes were examined in terms of protein quality, it was observed that the protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) of cereals ranged between 63 and 95, while dry legumes ranged between 68 and 100 (Can et al., 2021). Accordingly, it can be said that plant-based proteins are a healthy alternative that can compete with animal-based proteins.

Plant-based proteins also pollute less and consume fewer resources than animal-based proteins. For example, 1 kilogram of beans requires 3.8 m<sup>2</sup> of land, 2.5 m<sup>3</sup> of water, 39 g of fertilizer, and 2.2 g of pesticides; the same amount of beef requires 52 m<sup>2</sup> of land, 20.2 m<sup>3</sup> of water, 360 g of fertilizer, and 17.2 g of pesticides (Can et al., 2021) (Figure 1). Given the significant difference, it would be more prudent to manufacture plant-based proteins rather than animal-based proteins for the sake of global health and sustainability.

Protein isolates ( $\geq 90\%$  protein content) and concentrates (48-70% protein content) derived from legumes, particularly grains, and oilseeds, are used in the industry (Can et al., 2021; Mongi and Gomezulu, 2022). However, the utilization of plant-based proteins in food compositions is currently limited. Plant-based protein sources contain non-nutritive components such as tannin, phytic acid, trypsin inhibitor, oligosaccharide, and have lower amino acid variety than animal-based proteins, in addition to being less digestible (Mongi and Gomezulu, 2022). Various studies have determined that plant-based proteins are the

most commonly preferred alternative protein source; however, there is still a need for extensive

research in this area (Onwezen 2022; Takeda et al., 2023; Wahrens et al., 2023).

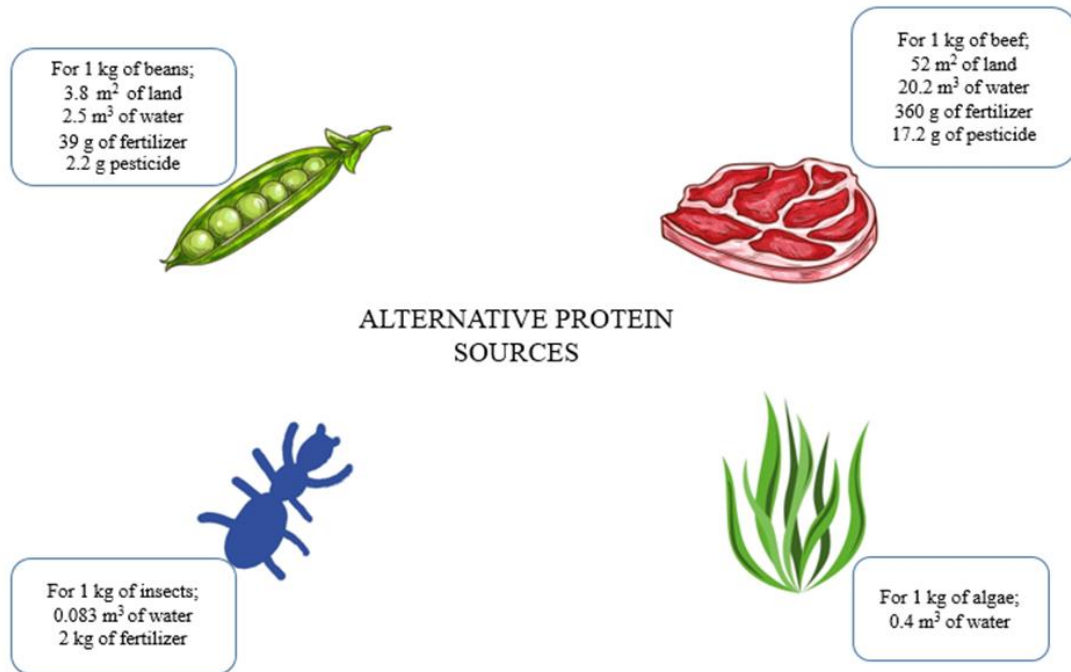


Figure 1. Current sources consumption amount of various alternative protein sources (Uribe-Wandurraga et al., 2013; Can et al., 2021)

Plant-based proteins are utilized in the production of plant-based meat analogs (PBMA) through various structuring processes (He et al., 2020). Replacing meat with plant-based proteins by 50% can reduce greenhouse gas emissions (GHGE) by 32% (Xue et al., 2019). However, traditional meat consumers often find PBMA unappealing in terms of taste and appearance (Wild et al., 2014). Improvements in the sensory and structural properties of PBMA are necessary for its widespread acceptance, and this is expected to increase as the food industry strives to enhance the quality of plant-based alternatives (Wild et al., 2014; Al-Thawadi, 2018). Consumer behavior must also be addressed to encourage the consumption of alternative protein sources with minimal environmental impact.

### Algae

Algae are small, single-celled organisms that can thrive in both marine and freshwater environments. According to the World Health

Organization, microalgae is now considered one of the world's largest superfoods, and NASA has deemed microalgae to be the best source of nourishment for astronauts in space (Stunda-Zujeva and Ruĝele 2018). For centuries, Asians have regarded algae as a miraculous source of food and medicine and have consumed them as traditional cuisine. As a result of immigration from China, Japan, and the Republic of Korea, the consumption of algae has spread around the world, and it is now consumed in many countries (Al-Thawadi, 2018).

Algae are considered to be a good source of natural and renewable bioactive compounds such as polysaccharides, peptides, vitamins, minerals, phlorotannins, fatty acids, and terpenes (Øverland et al., 2019). They are particularly rich in proteins, making them a suitable choice for filling the "protein gap" (Tiasco et al., 2018).

Research has also identified algae as one of the alternative protein sources that can be consumed in the future, with protein quality comparable to that of animal-based protein sources. *Chaetoceros* sp. (protein percentage 33%, protein quality 60%), *Dunaliella* sp. (25.7-35.7%), and *Synechococcus* sp. (63-88%) were the algae species with the highest protein percentage and quality. Additionally, their amino acid composition is similar to protein sources such as eggs or soybeans, with brown seaweeds having a high proportion of aspartic and glutamic acids (22-44% of total amino acids in some species of brown algae) (Can et al., 2021; Rawiwan et al., 2022). It is nutritious enough to fulfill growth requirements and could be used to combat hunger and malnutrition, making it one of the alternative protein sources that can be consumed in the future.

Over 28,000 new algae chemicals have been discovered since its identification (El Zokm et al., 2021). Two popular species of algae, *Spirulina* and *Chlorella*, are commercially available and generally recognized as safe (GRAS) (Can et al., 2021). *Spirulina* is commonly harvested from lakes and oceans, but due to increased demand, it is also grown in specialized ponds using photosynthetic activity at optimal temperatures of 35-38 °C (Rawiwan et al., 2022). *Spirulina* is consumed as a tea or added to different foods to substitute existing food additives. *Chlorella* and *Arthrospira platensis* are also used as ingredients in various forms like powder, paste, pellets, and flakes to produce vegetarian meat analogs, animal feeds, pasta, and beverages (Moura et al., 2023). Seaweed farming is more prominent in Asia (China, Indonesia, Philippines, Korea, and Japan) and Africa (Zanzibar and Madagascar) and serves as a socio-economic opportunity for coastal communities (Food and Agriculture Organization, 2021).

Despite the increasing popularity of algae-based products, especially *Spirulina*, it still lacks recognition and popularity among many people (Henchion et al., 2017). However, algae are considered marine vegetables in some countries like France and Italy, where they are widely

consumed (Sampels, 2014; Palmieri and Forleo, 2020). To increase acceptability, various products with added *Spirulina* have been developed, and studies have determined the appropriate amount and product type for consumer acceptance (Batista et al., 2017; Niccolai et al., 2019; Grahl et al., 2020; Letras et al., 2022). Adding microalgae to ketchup could increase its nutritional value and acceptability (Martínez-Monzó, 2021), and *Spirulina* added to pasta and cereal bars was better liked by consumers (Lucas et al., 2023).

As the research on the nutritional value of algae grows, studies should also be conducted to dispel people's misconceptions about algae consumption. Furthermore, national research on the acceptance of algae consumption and opinions that may lead to consumer bias in different countries should be conducted.

### **Cultured Meat**

Meat demand is dominated by beef, pork, sheep, and poultry globally. The demand is expected to increase by 14% by 2030, driven mainly by population and income growth (OECD/FAO, 2023). Cultured meat, also known as cell-based, clean, or lab-grown meat, has recently gained popularity as a solution to the challenging environmental issues related to livestock farming (Heinrich-Böll-Stiftung, 2021; Pakseresht et al., 2022). Cultured meat is produced from the in-vitro cultivation of animal cells, eliminating the need for large-scale farming practices (Post, 2014). However, the cost of production remains high due to developing technology (Enzing et al., 2014).

Compared to a \$1 beef hamburger that can be made in no time, the first in vitro hamburger in 2013 cost over \$300,000 and took 2 years to develop (Mateti et al., 2022). Humbird estimates the market price for premium quality in vitro meat to be a minimum of \$50/kg, whereas large-scale batch processes using low-cost media could provide meat under \$25/kg (Humbird, 2021).

However, animal agriculture and meat production are under scrutiny for their impact on the environment, public health, and animal welfare

(Bryant and Sanctorum, 2021). They generate 14.5% of greenhouse gas emissions and cause deforestation worldwide by requiring a considerable amount of land resources (Enzing et al., 2014; Garcia et al., 2017). The sector also uses the most pesticides, contaminating groundwater, and harming biodiversity. The use of antibiotics in livestock can lead to increased microbial resistance in humans, affecting human health (Enzing et al., 2014). The harmful effects of excessive meat intake on human health have also become alarming (Marinova and Bogueva, 2019; Thavamani et al., 2020). Therefore, the food industry is exploring non-animal-based proteins as meat alternatives that have similar sensory qualities to traditional meat and are appealing to consumers (He et al., 2020). The research community is investigating three forms of meat analogs: cultured meats, PBMA, and mycoprotein-based meat (Kristensen et al., 2016; World Economic Forum, 2019). Plant-based meat alternatives are derived from plant-based ingredients such as beans, legumes, lentils, and grains. They offer a sustainable protein source that closely mimics animal meat in texture, flavor, color, and nutritional profile (Zor et al., 2024). However, PBMA doesn't quite match the sensory qualities of traditional meat, and scientists are still working on producing cultured meat in laboratory settings (Clark and Bogdan, 2019; Thavamani et al., 2020; Gousset et al., 2022).

Cultured meat is produced by taking cells from a living animal, which are then grown in a cultivator to create muscle and adipose tissue that can be processed into meat products without the need for animal slaughter. Cultured meat has several advantages over PBMA, including comparable nutritional value, flavor, aroma, texture, and taste to traditionally produced meat, lower resource requirements, and reduced greenhouse gas emissions (Weinrich et al., 2020; Bryant and Sanctorum, 2021). Cultured meat production is also expected to reduce the use of pesticides and chemicals (Mancini and Antonioli, 2022a). However, cultured meat is currently the most expensive alternative protein source to produce, followed by insect-based protein sources, while protein derived from grains and beans have the

lowest costs (World Economic Forum, 2019). Despite this, meat alternatives are becoming increasingly popular in various markets worldwide (de Koning et al., 2020).

The legal status and labeling requirements for cultured meat are still being debated (Can et al., 2021; Mancini and Antonioli, 2022a). In some studies, individuals were found to be ambivalent about consuming cultured meat (Tso et al., 2020; Gousset et al., 2022) while a few studies found a high willingness to consume it (Wilks and Phillips, 2017; Weinrich et al., 2020; Mancini and Antonioli, 2022b).

If the necessary infrastructure is built, it is expected that consumers will readily accept this alternative protein source if the taste and smell of cultured meat are identical to or extremely similar to beef.

### **Insects-based Proteins**

Insects are gaining popularity as a protein source, with potential benefits for sustainability (Wendin and Nyberg, 2021). Although insects have been a part of diets in many parts of the world, European consumers are just starting to consider this food (Piha et al., 2018). Consumer beliefs and behaviors play a key role in this trend (Grasso et al., 2019).

Insects are considered a valuable resource for long-term sustainability, with the potential to directly contribute to eight of the 17 UN Sustainable Development Goals and indirectly to nine (Uribe-Wandurraga et al., 2013). With their high nutritional value, insects are particularly suited to meeting the goal of "Zero Hunger."

Insects have a high protein content, ranging from 13 to 77%, and their protein digestibility is lower than animal-based proteins but higher than most plant-based proteins, ranging from 76-98%. Additionally, insects have a varying essential amino acid profile ranging from 50-80%, making them a potential source of protein to alleviate hunger (Can et al., 2021). The fat content of edible insects ranges between 10% and 50%. As a result, even small quantities will provide high calories. For example, 100 grams of *Coleoptera* (adult,



larvae) insects supply 490 kcal to an individual; 484 kcal of *Hymenoptera* (ants, bees); 508 kcal of *Lepidoptera* (butterflies, moths); and 650 kcal of *Galleria mellonella* (waxworms) (Can et al., 2021). Insects also have a high concentration of lipids, high-quality and easily digested proteins, vitamins, minerals, and other bioactive compounds (de Carvalho et al., 2020). Due to their high content of vitamins such as B<sub>12</sub>, minerals like iron and zinc, fiber, essential amino acids, omega-3, omega-6, and antioxidants, they have positive effects on health (Özdal and Nakilcioğlu, 2024). Micronutrients such as calcium, iron, magnesium, manganese, phosphorus, selenium, and zinc are examples, as are vitamins such as riboflavin, pantothenic acid, biotin, and, in some cases, folic acid (Akande et al., 2020). With a diverse nutritional profile, insects can play an essential role in avoiding hunger and malnutrition.

When it comes to the development of insect-based protein sources, edible insects have a greater feed-to-conversion rate than typical animal-based protein sources. It also produces less GHGE and consumes fewer resources. As a result, insects are considered a sustainable and viable source of food and feed (Figure 1) (Uribe-Wandurraga et al., 2013).

Approximately 1900 insect species are consumed globally, of which 524 are consumed in developing countries (Awobusuyi et al., 2020). Socio-demographic factors like age, gender, and nationality also influence insect consumption. For example, young people are more willing to eat insect-based cuisine than older ones (Naranjo-Guevara et al., 2021), and men are more open to consuming insects than women (Sogari et al., 2019). Social norms also play a role in people's reluctance to consume insects (Jensen and Lieberoth, 2019; Lammers et al., 2019; Dagevos and Taufik, 2023). In Australia, factors such as taste, appearance, safety, and quality are crucial in increasing consumer willingness to eat insects (Wilkinson et al., 2018). As people become more aware of climate change and environmental health, insect-based protein meal consumption is projected to increase.

### Consumer Acceptance and Knowledge Studies on Alternative Protein Sources

Given the climate crisis and a rapidly increasing world population, equitable access to clean and sufficient food will be challenging (Øverland et al., 2019). As a result, demand for alternative protein sources is rising. Research on people's knowledge, attitudes, and preferences toward alternative protein sources has gained momentum in the literature over the past five years, with studies encompassing various age groups and nationalities.

For example, in a study of elderly individuals in the EU, plant-based proteins were most accepted (58%), while cultured meat and insect-based proteins had the lowest acceptability (Grasso et al., 2019). However, Mancini and Antonioli found that novel plant-based foods and edible insects were the most viable future alternatives for Italian consumers (Mancini and Antonioli, 2022b). Cultured meat was difficult to accept for most people, according to the study. Gender did not affect the likelihood of choosing protein sources in the future, but younger participants were more willing to try new protein alternatives (Clark and Bogdan, 2019). Portuguese men are more knowledgeable about sustainability and accept insect-based protein meat at a higher rate than women (Florença et al., 2021).

The COVID-19 and African Swine flu pandemics, food safety concerns, and the risk of disease from animal-sourced food have increased the demand for PBMA (Tso et al., 2020). Plant-based protein sources are the most preferred alternative protein sources (58%) (Grasso et al., 2019). It is hoped that this shift in the pandemic will change traditional dietary components. PBMA products are perceived as modern, artificial, and expensive compared to pulses (Spendrup and Hovmalm, 2022). Consumers of PBMA are generally younger, mostly female, well-educated, and concerned about health and the environment. Educating others about this issue is critical (Siegrist and Hartmann, 2019). A joint study in the UK, Germany, and France found that burgers made with seaweed and peas were less acceptable than beef burgers due to high

adherence to beef, negative attitudes towards vegetarian and vegan lifestyles, and food neophobia. Despite negative sentiments, peas, and algae emerged as viable protein alternatives due to favorable health and environmental friendliness expectations (Michel et al., 2021).

Consumer acceptance of algae as a food source is currently uncertain. Gender and country differences have been observed in attitudes toward microalgae consumption. Social events positively impact the attitudes of Dutch female consumers towards microalgae while negatively impacting Dutch and German males. Higher-income decreases French male consumers' positive attitudes toward microalgae while increasing it for Dutch male consumers (Weinrich and Elshiewy, 2023). Additionally, the type of product in which algae is consumed influences demand. Young men prefer seaweed in snack products and fast food more than women (Wendin and Undeland, 2020).

Grahl et al. studied consumer willingness to try three *Spirulina*-containing meals and found *Spirulina*-filled pasta to be the preferred product (Grahl et al., 2020). In the UK, individuals are open to accepting microalgae, but beliefs about cost, health, and sustainability have a weak influence on acceptance (Embling et al., 2022). Increasing knowledge levels may help boost the effect of these factors, but many people in Spain are still hesitant to consume microalgae due to food neophobia, despite believing it is sustainable, nutritious, and safe (Lafarga et al., 2021; Losada-Lopez et al., 2021). Familiarity with the *Spirulina* flavor has been shown to increase acceptance in some participants (Al-Thawadi, 2018; Grahl et al., 2020; Lafarga et al., 2021).

Consumer opinions on insect-based proteins vary widely. Bread made from insect flour has been found to cause "disgust and anxiety" in some individuals (Castro Delgado et al., 2020; García-Segovia et al., 2020), while 64% of Americans are reportedly willing to try insect-based meals (Ruby, et al., 2015). In Germany, 41.9% of participants were willing to consume insect burgers, but "disgust" was cited as the main reason for avoiding insect-based foods in Turkey (Yüksel and Canhilal, 2018). Hungarian participants were found to be unaware of the health benefits of insect-based protein sources, and food neophobia hindered their willingness to consume insects (Gere et al., 2017; Naranjo-Guevara et al., 2021). Differences in consumer acceptance may be related to dietary patterns, as individuals in countries where insects are not traditionally consumed may have difficulty accepting insect-based proteins. Knowledge of the protein source is a key factor in determining consumer willingness to consume insect-based foods (Naranjo-Guevara et al., 2021), and as people become more educated about alternative protein sources and environmental health, it is expected that consumer acceptability will increase.

Table 1 summarizes various studies on consumer knowledge and acceptance of alternative protein sources in numerous countries revealing diverse results. Although there are country-specific studies in the research, given each country's traditions, religious regulations, and habits, these facts cannot be applied to all of humanity. As a result, the findings of the investigations cannot be generalized.

Table 1. Consumer acceptance and knowledge studies on alternative protein sources in various countries

Country	Method	Results	Publication
Japan	The research was completed by an online questionnaire with participants from all over Japan (N=5,000).	It was determined that the highest accepted alternative protein source was PBM. More than 40.0% of respondents requested the government to regulate labeling for all alternative proteins.	(Takeda et al., 2023)

China	<p>In the study, consumers were presented with different labels, different countries of origin, and various options to purchase hamburgers made from PBM or animal meat.</p>	<p>Respondents hold overall positive attitudes toward PBM food; 85 and 82% of respondents reported experience in eating and purchasing PBM food, respectively.</p> <p>Females and those with at least a bachelor's degree, higher income, religious beliefs, and dietary restrictions are more likely to buy PBM burgers than their counterparts.</p>	(Ge et al., 2023)
	<p>The research was completed by an online questionnaire (men:772 (50.39%); women:760 (49.61%))</p>	<p>Around 44% of the participants indicated that they would be willing to try CM, and 32% would be likely to purchase it.</p>	(Li et al., 2023)
Austria, German, Belgium, Netherlands, Denmark, Sweden	<p>Sensory analysis of PB alternatives to chicken, beef, semi-hard cheese, cream cheese, yogurt, and milk was studied via (part 1) a sensory vocabulary development and, subsequently, (part 2) an online survey (n = 416–1829) in some countries using the quick sensory descriptive method Rate-All-That-Apply.</p>	<p>While PB milk and yogurt alternatives received high liking scores (7.1-7.0/9), lower liking scores (5.3/9) were reported for semi-hard cheese alternatives.</p>	(Wachrens et al., 2023)
United Kingdom	<p>Participants were grouped as meat-eaters and non-meat-eaters. Products such as beef burgers, cheese sandwiches, and blueberry muffins were presented to the participants with three different labels (e.g., 'traditional', 'plant-based', and 'cultured' for the beef burger). Each product was evaluated for elements such as fullness, satisfaction, disgust, and WTP.</p>	<p>Both groups were more accepting of traditional meat products. The meat-eaters perceived PBMA as less satisfying but healthier.</p> <p>The meat-eater group found cultured meat healthier but more disgusting.</p>	(Vural et al., 2023)
	<p>Half of the participants were given an informative briefing on IBFs. The effect of various psychological factors on WTP for IBFs was then examined by all participants.</p>	<p>After being treated with the briefing, participants rated higher against IBFs.</p> <p>In addition, individuals with food neophobia and low eco-consciousness have lower attitudes toward IBFs.</p>	(Michel and Begho, 2023)
Turkey	<p>In the study, in vitro meat perspective was assessed through an online questionnaire (n=417).</p>	<p>Although participants saw IVM as a viable alternative to traditional meat, they did not find it natural, healthy, ethical, safe, or tasty. They also reported that they do not intend to consume IVM regularly.</p>	(Baybars et al., 2023)

## Attitudes towards alternative proteins

Ghana	Ghanaian consumers' knowledge of PBB, sensory attributes driving preferences and selection, and willingness to purchase were investigated.	Most of the consumers reported that they have sufficient awareness of PBB. Taste, cost, availability, and culture were the main barriers to consumption. (Acquah et al., 2023)
Australia, India, Singapore, United States	The WTC of various food technologies has been tested in multiple countries.	Indians are more positive about all new food technologies than consumers, especially in the US and Australia. About one-fifth of consumers demonstrated high acceptance. (Giacalone and Jaeger, 2023)
Colombia, France	Their perceptions and preferences for various packaging versions and insect-based bread and chips were investigated.	The perception of health/sweetness and WTP have changed significantly in terms of both product style and visual design, as well as suitability and taste. (Marquis et al., 2023)
Australia	The research consisted of 1012 Australian food customers as a mixed-methods exploration study.	52% of consumers reported never purchasing alternative protein products, mainly due to lack of interest, sensory characteristics, lack of familiarity, and price. Three segments (30%) are willing to increase their consumption of alternative proteins. 6% of participants are against consuming all alternative protein sources. (Malek and Umberger, 2023)
United States	Untrained participants were asked open-ended questions with 4 burger patties alternatives (beef, meat-mushroom hybrid protein, pea protein, and animal-like protein). One group was given blind tasting without being informed, while the other group tasted after being informed.	Beef and animal-like protein patties had the most meat-like attributes. In the blind condition, the hybrid burger ranked as the least favorite option. Both the texture and taste of the pea protein burger were not liked. (Sogari et al., 2023)
United States	The participants, who were randomly divided into two groups, were asked to watch a hamburger advertisement for 10 s, made of 100% beef/0% PB and 80% beef/20% PB in the first group. The second group featured a hamburger ad made from 80% beef/20% PB and 80% PB/20% beef protein.	For consumers with a restrained mindset, perceptions of environmental sustainability increase with higher levels of PB protein content in hybrid meat analogs, which in turn leads to higher purchase intentions these effects are not observed for consumers with an indulgence mindset. (Smart and Pontes, 2023)

Netherlands	This research is the first exploratory study of consumers' sympathy for circularity as a distinctive feature of insects as food and feeds to their acceptance of eating insects (i.e., entomophagy)	This study finds that consumer sympathy for the entomophagy of the participants in this study increases modestly, albeit statistically significant and in a robust way, as a result of providing information about the environmental, circular benefits of entomophagy.	(Dagevos and Taufik, 2023)
Belgium, China, Italy, Mexico, United States	The motivations of the participants in the study from different countries to accept or reject whole and processed mealworms were evaluated with an online questionnaire consisting of two open-ended questions.	"Healthiness" was the most frequent driver to accept whole and processed mealworms, except in Italy. "Aversion" and "dislike" were the most important barriers that led to rejecting these products across all five countries.	(Tzompa-Sosa et al., 2023)
Italy	In this study, attitudes towards seaweed, insects, and jellyfish were compared, the role of individual variables was investigated, and a new approach focusing on their potential gastronomic uses was proposed.	The results showed a significant effect of the product on the perceived positive impact of consumption on health (seaweed > insects > jellyfish) and the environment (jellyfish > seaweed and insects) and on WTT and WTD (seaweed > jellyfish > insects).	(Palmieri et al., 2023)
United Kingdom	In the study, the participants were divided into 6 focus groups. All groups were asked a series of questions about "algae" and "algae-based foods" using the "Zoom" application. First, the participants were asked to discuss their initial ideas about the term "algae". Secondly, a presentation about "algae" and "algae-based foods" was shown to the participants. Finally, participants were asked to discuss their willingness to purchase "algae" and "algae-based foods."	It was determined that although the participants had limited knowledge about algae, they were willing to consume algae. Under the algae consumption acceptance, various characteristics are included, including innovation, edibility, health, sustainability, and affordability.	(Mellor et al., 2022)
Italy	The effects of considerations such as human safety, animal welfare, and environmental impact on the willingness to try, purchase and analogs cultured meat were investigated through the online questionnaire.	While environmental impact united respondents, human safety and animal welfare claims differed significantly between gender and age groups. However, the weak relationship between WTT and WTS may indicate that being curious may not necessarily mean changing actual behavior	(Piochi et al., 2022)

## Attitudes towards alternative proteins

United Kingdom	In an online study (N = 476), participants were presented with a general description of edible seaweeds, and descriptions of seaweed-based food products (e.g., 'seaweed burger').	Perceiving foods to be tasty and familiar mediated the negative effect of food neophobia on consumer acceptance ( $p < .05$ ).	(Embling et al., 2022)
Germany	Information on the environmental benefits or resource savings of the technology and consumer assessment was questioned in a four-part questionnaire.	The study reveals that consumers accept new foods more easily when they have a clearer idea of a food production process and its products.	(Weickert et al., 2021)
Germany	This study analyses consumer knowledge on protein sources in animal feeding and the likelihood of consumers being willing to try pork and poultry that has been produced using insects or micro algae in the feeding regime through univariate analyses as well as structural equation modeling.	Structural equation models reveal that consumers depend on the desire to purchase insect-based meat as an alternative protein source.	(Weinrich and Busch, 2021)
Spain	Participants in the young cooking workshop were asked questions measuring their views and attitudes before/after the seaweed tasting.	Food neophobia has affected algae consumption desire.	(Losada-Lopez et al., 2021)
Spain	A 5-point hedonic scale was used on 3084 Spanish consumers over the age of 18.	Spanish consumers of micro algae; think that it is sustainable and environmentally friendly, nutritious and healthy, and safe to add to food products. It has been reported that the main reasons why its consumption is not widespread are the lack of information about the products and the lack of consumption habits.	(Lafarga et al., 2021)
Belgium	A survey was directed to the participants in 2019 and 2020. Participants answered online questions about their diet, their attitudes towards PBMA, and their attitudes towards cultured meat (grown from animal cells).	The proportion of Belgian consumers who say that existing PBMA meet their needs has increased significantly, from 44% to 51% in 2020.	(Bryant and Sanctorem, 2021)
	In this study, only a portion (eg, 20% to 50%) of the meat product was replaced with PBP. The opinions of consumers about the modified meat product were investigated.	The results show that more than 50% of consumers substitute meat at least occasionally.	(Profeta et al., 2021)
Germany, France, UK	The online survey was conducted with meat-eating participants from Germany (N = 567), France (N = 605), and the United Kingdom (N = 562). The questionnaire was evaluated with pictures of burgers made from peas, algae, and beef.	Participants in all three countries expected pea and algae burgers to be less tasty, but healthier and more environmentally friendly compared to the beef burger.	(Michel et al., 2021)

China	In the questionnaire used in the study, food purchasing criteria, personal perceptions of cultured meat compared to traditional meat or PBMA, and participants' desire for cultured meat consumption.	In the study, it was determined that 87.2% of the participants were not WTC cultured meat compared to traditional meat. It is reported that one of the reasons behind this reluctance is the "perception of nonsense or disgusting".	(Liu et al., 2021)
USA, Mexico, Spain	100% whole wheat flour; chocolate chip cookies with 15% and 30% cricket powder added was presented to the individuals participating in the study.	It was determined that Mexican and Spanish consumers liked the 15% sample more than the 30% sample. Spanish consumers were also reported to like the control product more than the 30% sample. Accordingly, by adding 15% cricket powder, both the negative impact on the taste of the product can be prevented and the protein content can be improved.	(Castro Delgado et al., 2020)
Germany	Researchers focused on comparing children's and adolescents' attitudes towards foods made from insect-based protein and cultured meats and analyzing the effect of some nutritional-psychological factors on these attitudes.	The study participants showed a significantly higher WTC the cultured meat burger than the insect burger, although no difference could be shown in their attitudes toward the alternatives as food (i.e., irrespective of their form of preparation).	(Dupont and Fiebelkorn, 2020)
China, USA, France, UK, New Zealand, Netherlands, Brazil, Spain, and the Dominican Republic	Meat products derived from PB and insect-based protein were offered to 3091 participants, and behaviors such as trying, buying, and paying for these two analogs were evaluated, as well as their desire for meat.	Food neophobia was found to have a negative impact on the acceptance of two types of analogs.	(de Koning et al., 2020)
European Union countries	While using the frequency of food consumption to measure the dietary habits of elderly individuals, a questionnaire was created to investigate the consumption of various protein sources. A total of 1825 elderly individuals from 5 countries participated in the study.	The most preferred alternative protein sources are respectively; PB (58%), algae (20%), and insects (9%).	(Grasso et al., 2019)
Canada	A 24-question survey was administered to 410 adults, including various questions about the motivations behind their food choices.	It has been determined that they prefer pulses and soy products, paying attention to the fact that they are not processed in PBP sources. Perceptions of price, too much processed, and too much sodium content are seen as barriers to trying new plant-based proteins.	(Clark and Bogdan, 2019)

Germany	An online questionnaire was administered to 49,480 participants asking about their eating habits, sustainability awareness scale, food neophobia scale, familiarity with insects, insect-based food consumption, WTC to insect-based burgers and worms, and sociodemographic characteristics.	Although the sustainability awareness of the individuals participating in the study was strong, it did not have any effect on their desire to consume insect-based hamburger patties.	(Lammers et al., 2019)
Finland, Sweden, Germany, and the Czech Republic	Consumer survey data collected from 887 participants were analyzed with structural equation modeling and multi-group models.	Different types of knowledge and food neophobia cause general attitudes about insect-based foods. These effects differed significantly between Northern and Central Europe. Consumers in Northern Europe are more positive towards insect-based foods than consumers in Central Europe.	(Piha et al., 2018)
Germany, Netherlands, Italy	In the first of the stages arranged for the study, the participants were asked whether they had consumed any meat analogs before. In Stage 2, the reasons for consuming or not consuming meat analogs in their meals were investigated. In the next step, the interviewees were asked to indicate why they would not use analog meat in meals.	German participants were found to be more open-minded to trying new meat analogs than French participants. However, participants in all three countries had health concerns about meat analogs.	(Weinrich, 2018)
United Arab Emirates	A pilot study with 30 participants was conducted for the research. In this study, participants were asked to consume 7 types of algae, mango juice containing algae, and orange juice.	It was determined that 71% of the participants knew that algae were sold in the market and 73% preferred to consume algae.	(Al-Thawadi, 2018)

**CONCLUSION**

Future challenges include the growing global population, depletion of natural resources, and protein resource scarcity. Alternative protein sources with high protein and energy content are being explored as sustainable food alternatives, such as plant-based protein sources, algae, insect-based proteins, and cultured meat. Despite this, there is still prejudice against these alternative protein sources.

Plant-based protein sources and algae are the most popular alternative protein sources that people can consume. The major reason

individuals consume these alternative protein sources is that they are familiar with their flavor.

Insect-based proteins and cultured meat have low consumer acceptability due to a lack of awareness about their nutritional makeup and a feeling of disgust among consumers. Additionally, the lack of a cultural habit of consuming insects is a major obstacle to their consumption.

Misinformation and lack of knowledge also exist among people regarding cultured meat. Additionally, the sensory differences, such as color, odor, texture, and taste, between cultured



meat and traditional meat can lead to prejudice and hesitation in consuming it. However, research on improving these sensory aspects could potentially increase consumer acceptance.

Educating consumers is crucial to increase their acceptance and knowledge of alternative protein sources. With proper education, individuals can understand the need for sustainable food alternatives and take individual measures for resource continuity and environmental health.

Country-specific studies on alternative protein sources cannot be generalized due to the influence of traditions, religious regulations, and habits.

## REFERENCES

- Acquah, J. B., Amissah, J. G. N., Affrifah, N. S., Wooster, T. J., Danquah, A. O. (2023). Consumer perceptions of plant based beverages: The Ghanaian consumer's perspective. *Future Foods*, 7, 100229. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100229>
- Ahnen, R. T., Jonnalagadda, S. S., Slavin, J. L. (2019). Role of plant protein in nutrition, wellness, and health. *Nutrition Reviews*, 77(11), 735-747. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz028>
- Akande, O. A., Falade, O. O., Badejo, A. A., Adekoya, I. (2020). Assessment of Mulberry Silkworm Pupae and African Palm Weevil larvae as alternative protein sources in snack fillings. *Heliyon*, 6(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03754>
- Al-Thawadi, S. (2018). Public perception of algal consumption as an alternative food in the Kingdom of Bahrain. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 25(1), 1-12. <https://doi.org/10.1080/25765299.2018.1449344>
- Awobusuyi, T. D., Pillay, K., Siwela, M. (2020). Consumer acceptance of biscuits supplemented with a sorghum–insect meal. *Nutrients*, 12(4), 895. <https://doi.org/10.3390/nu12040895>
- Batista, A. P., Niccolai, A., Fradinho, P., Fragoso, S., Bursic, I., Rodolfi, L., ... Raymundo, A. (2017). Microalgae biomass as an alternative ingredient in cookies: Sensory, physical and chemical properties, antioxidant activity and in vitro digestibility. *Algal Research*, 26, 161-171. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.07.017>
- Baybars, M., Ventura, K., Weinrich, R. (2023). Can in vitro meat be a viable alternative for Turkish consumers?. *Meat Science*, 201, 109191. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109191>
- Bryant, C., Sanctorem, H. (2021). Alternative proteins, evolving attitudes: Comparing consumer attitudes to plant-based and cultured meat in Belgium in two consecutive years. *Appetite*, 161, 105161. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105161>
- Can, B., Bayram, H. M., Öztürkcan, S. A. (2021). Solution recommendations for environmental problems: overview of current sustainable nutrition practices. *Food*, 46(5), 1138-1157. <https://doi.org/10.15237/gida.GD21062>
- Castro Delgado, M., Chambers IV, E., Carbonell-Barrachina, A., Noguera Artiaga, L., Vidal Quintanar, R., Burgos Hernandez, A. (2020). Consumer acceptability in the USA, Mexico, and Spain of chocolate chip cookies made with partial insect powder replacement. *Journal of Food Science*, 85(6), 1621-1628. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15175>
- Clark, L. F., Bogdan, A. M. (2019). The role of plant-based foods in Canadian diets: A survey examining food choices, motivations and dietary identity. *Journal of Food Products Marketing*, 25(4), 355-377. <https://doi.org/10.1080/10454446.2019.1566806>
- Dagevos, H., Taufik, D. (2023). Eating full circle: Exploring consumers' sympathy for circularity in entomophagy acceptance. *Food Quality and Preference*, 105, 104760. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104760>
- de Carvalho, N. M., Madureira, A. R., Pintado, M. E. (2020). The potential of insects as food sources—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3642-3652. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1703170>
- de Koning, W., Dean, D., Vriesekoop, F., Aguiar, L. K., Anderson, M., Mongondry, P., Oppong-Gyamfi, M., Urbano, B., Luciano, C. A. G., Jiang,

- B., Hao, W., Eastwick, E., Jiang, Z. V., Boereboom, A. (2020). Drivers and inhibitors in the acceptance of meat alternatives: the case of plant and insect-based proteins. *Foods (Basel, Switzerland)*, 9(9), 1292. <https://doi.org/10.3390/foods9091292>
- Dupont, J., Fiebelkorn, F. (2020). Attitudes and acceptance of young people toward the consumption of insects and cultured meat in Germany. *Food Quality and Preference*, 85, 103983. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103983>
- El Zokm, G. M., Ismail, M. M., El-Said, G. F. (2021). Halogen content relative to the chemical and biochemical composition of fifteen marine macro and micro algae: nutritional value, energy supply, antioxidant potency, and health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 14893-14908. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11596-0>
- Embling, R., Neilson, L., Randall, T., Mellor, C., Lee, M. D., Wilkinson, L. L. (2022). 'Edible seaweeds' as an alternative to animal-based proteins in the UK: Identifying product beliefs and consumer traits as drivers of consumer acceptability for macroalgae. *Food Quality and Preference*, 100, 104613. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104613>
- Enzing, C., Ploeg, M., Barbosa, M., Sijtsma, L. (2014). Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. *JRC Scientific and Policy Reports*, 19-37. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/e35cfe33-3a16-46c7-8145-903c10bb430c/language-en>
- Florença, S. G., Correia, P. M., Costa, C. A., Guiné, R. P. (2021). Edible insects: Preliminary study about perceptions, attitudes, and knowledge on a sample of Portuguese citizens. *Foods*, 10(4), 709. <https://doi.org/10.3390/foods10040709>
- Food and Agriculture Organization (2022). The State of Food Security and Nutrition in the World 2022. <https://doi.org/10.4060/cc0639en>
- Food and Agriculture Organization (2021). Report of the Expert Meeting on Food Safety for Seaweed Current Status and Future Perspectives. <https://www.fao.org/3/cc0846en/cc0846en.pdf> (Accessed 25 November 2022).
- Garcia, E., Ramos Filho, F. S. V., Mallmann, G. M., Fonseca, F. (2017). Costs, benefits and challenges of sustainable livestock intensification in a major deforestation frontier in the Brazilian Amazon. *Sustainability*, 9(1), 158. <https://doi.org/10.3390/su9010158>
- García-Segovia, P., Igual, M., Martínez-Monzó, J. (2020). Physicochemical properties and consumer acceptance of bread enriched with alternative proteins. *Foods*, 9(7), 933. <https://doi.org/10.3390/foods9070933>
- Ge, W. A. N. G., T Plaster, M., Bai, Y. L., Liu, C. F. (2023). Consumers' experiences and preferences for plant-based meat food: Evidence from a choice experiment in four cities of China. *Journal of Integrative Agriculture*, 22(1), 306-319. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.09.008>
- Gere, A., Székely, G., Kovács, S., Kókai, Z., Sipos, L. (2017). Readiness to adopt insects in Hungary: A case study. *Food Quality and Preference*, 59, 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.02.005>
- Giacalone, D., Jaeger, S. R. (2023). Consumer acceptance of novel sustainable food technologies: A multi-country survey. *Journal of Cleaner Production*, 408, 137119. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137119>
- Gousset, C., Gregorio, E., Marais, B., Rusalen, A., Chriki, S., Hocquette, J. F., Ellies-Oury, M. P. (2022). Perception of cultured "meat" by French consumers according to their diet. *Livestock Science*, 260, 104909. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.104909>
- Grahl, S., Strack, M., Mensching, A., Mörlein, D. (2020). Alternative protein sources in Western diets: Food product development and consumer acceptance of spirulina-filled pasta. *Food Quality and Preference*, 84, 103933. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103933>
- Grasso, A. C., Hung, Y., Olthof, M. R., Verbeke, W., Brouwer, I. A. (2019). Older consumers' readiness to accept alternative, more sustainable protein sources in the European

- Union. *Nutrients*, 11(8), 1904. <https://doi.org/10.3390/nu11081904>
- He, J., Evans, N. M., Liu, H., Shao, S. (2020). A review of research on plant-based meat alternatives: Driving forces, history, manufacturing, and consumer attitudes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(5), 2639-2656. <https://doi.org/10.1111/15414337.12610>
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., Tiwari, B. (2017). Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*, 6(7), 53. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>
- Heinrich-Böll-Stiftung. (2021). Meat Atlas, [https://eu.boell.org/sites/default/files/202109/MeatAtlas2021\\_final\\_web.pdf?dimension1=cology](https://eu.boell.org/sites/default/files/202109/MeatAtlas2021_final_web.pdf?dimension1=cology) (Accessed 20 September 2022).
- Humbird, D. (2021). Scale-up economics for cultured meat. *Biotechnology and Bioengineering*, 118(8), 3239-3250. <https://doi.org/10.1002/bit.27848>
- Saldamlı, I., A. Temiz. (2017). Amino Acids, Peptides, Proteins, Food Chemistry, Hacettepe University Press.
- Jensen, N. H., Lieberoth, A. (2019). We will eat disgusting foods together—Evidence of the normative basis of Western entomophagy-disgust from an insect tasting. *Food Quality and Preference*, 72, 109-115. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.08.012>
- Kristensen, M. D., Bendsen, N. T., Christensen, S. M., Astrup, A., Raben, A. (2016). Meals based on vegetable protein sources (beans and peas) are more satiating than meals based on animal protein sources (veal and pork)—a randomized cross-over meal test study. *Food & Nutrition Research*, 60(1), 32634. <https://doi.org/10.3402/fnr.v60.32634>
- La Barbera, F., Verneau, F., Videbæk, P. N., Amato, M., Grunert, K. G. (2020). A self-report measure of attitudes toward the eating of insects: Construction and validation of the Entomophagy Attitude Questionnaire. *Food Quality and Preference*, 79, 103757. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.103757>
- Lafarga, T., Rodríguez-Bermúdez, R., Morillas-España, A., Villaró, S., García-Vaquero, M., Morán, L., ... Acien-Fernández, F. G. (2021). Consumer knowledge and attitudes towards microalgae as food: The case of Spain. *Algal Research*, 54, 102174. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102174>
- Lammers, P., Ullmann, L. M., Fiebelkorn, F. (2019). Acceptance of insects as food in Germany: Is it about sensation seeking, sustainability consciousness, or food disgust?. *Food Quality and Preference*, 77, 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.05.010>
- Letras, P., Oliveira, S., Varela, J., Nunes, M. C., Raymundo, A. (2022). 3D printed gluten free cereal snack with incorporation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and/or *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 68, 102863. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102863>
- Li, H., Van Loo, E. J., van Trijp, H. C., Chen, J., Bai, J. (2023). Will cultured meat be served on Chinese tables? A study of consumer attitudes and intentions about cultured meat in China. *Meat Science*, 197, 109081. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.109081>
- Liu, J., Hocquette, É., Ellies-Oury, M. P., Chriki, S., Hocquette, J. F. (2021). Chinese consumers' attitudes and potential acceptance toward artificial meat. *Foods*, 10(2), 353. <https://doi.org/10.3390/foods10020353>
- Losada-Lopez, C., Dopico, D. C., Faina-Medin, J. A. (2021). Neophobia and seaweed consumption: Effects on consumer attitude and willingness to consume seaweed. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 24, 100338. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100338>
- Lucas, B. F., Costa, J. A. V., Brunner, T. A. (2023). Attitudes of consumers toward Spirulina and açai and their use as a food ingredient. *LWT*, 178, 114600. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114600>
- Mancini, M. C., Antonioli, F. (2022a). The future of cultured meat between sustainability expectations and socio-economic challenges. In *Future Foods* (pp. 331-350). Academic Press.

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91001-9.00024-4>
- Mancini, M. C., Antonioli, F. (2022b). Italian consumers standing at the crossroads of alternative protein sources: Cultivated meat, insect-based and novel plant-based foods. *Meat Science*, *193*, 108942. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108942>
- Malek, L., Umberger, W. J. (2023). Protein source matters: Understanding consumer segments with distinct preferences for alternative proteins. *Future Foods*, *7*, 100220. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100220>
- Marinova, D., Bogueva, D. (2019). Planetary health and reduction in meat consumption. *Sustainable Earth*, *2*(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s42055-019-0010-0>
- Martínez-Monzó, J. (2021). Physicochemical and rheological characterisation of microalgae enriched ketchups and their sensory acceptability. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *26*, 100424. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100424>
- Marquis, D., Oliveira, D., Pantin-Sohier, G., Reinoso-Carvalho, F., Deliza, R., Gallen, C. (2023). The taste of cuteness: How claims and cute visuals affect consumers' perception of insect-based foods. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *32*, 100722. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100722>
- Mateti, T., Laha, A., Shenoy, P. (2022). Artificial meat industry: Production methodology, challenges, and future. *Jom*, *74*(9), 3428-3444. <https://doi.org/10.1007/s11837-022-05316-x>
- Mellor, C., Embling, R., Neilson, L., Randall, T., Wakeham, C., Lee, M. D., Wilkinson, L. L. (2022). Consumer knowledge and acceptance of "algae" as a protein alternative: A UK based qualitative study. *Foods*, *11*(12), 1703. <https://doi.org/10.3390/foods11121703>
- Michel, P., Begho, T. (2023). Paying for sustainable food choices: The role of environmental considerations in consumer valuation of insect-based foods. *Food Quality and Preference*, *106*, 104816. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2023.104816>
- Michel, F., Knaapila, A., Hartmann, C., Siegrist, M. (2021). A multi-national comparison of meat eaters' attitudes and expectations for burgers containing beef, pea or algae protein. *Food Quality and Preference*, *91*, 104195. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104195>
- Mongi, R. J., Gomezulu, A. D. (2022). Descriptive sensory analysis, consumer acceptability, and conjoint analysis of beef sausages prepared from a pigeon pea protein binder. *Heliyon*, *8*(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10703>
- Moura, M. A. F. E., Martins, B. D. A., Oliveira, G. P. D., Takahashi, J. A. (2023). Alternative protein sources of plant, algal, fungal and insect origins for dietary diversification in search of nutrition and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(31), 10691-10708. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2085657>
- Naranjo-Guevara, N., Fanter, M., Conconi, A. M., Floto-Stammen, S. (2021). Consumer acceptance among Dutch and German students of insects in feed and food. *Food Science & Nutrition*, *9*(1), 414-428. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2006>
- Niccolai, A., Venturi, M., Galli, V., Pini, N., Rodolfi, L., Biondi, N., ... Tredici, M. R. (2019). Development of new microalgae-based sourdough "crostini": Functional effects of *Arthrospira platensis* (spirulina) addition. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-01955840-1>
- Onwezen, M. C., Bouwman, E. P., Reinders, M. J., Dagevos, H. (2021). A systematic review on consumer acceptance of alternative proteins: Pulses, algae, insects, plant-based meat alternatives, and cultured meat. *Appetite*, *159*, 105058. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.105058>
- Øverland, M., Mydland, L. T., Skrede, A. (2019). Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(1), 13-24. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9143>

- OECD/FAO 2023. OECD-FAO Agricultural Outlook 2023-2032, [https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2023-2032\\_08801ab7-en](https://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook-2023-2032_08801ab7-en) (Accessed 25 December 2022).
- Özdal, H. R., Nakilcioğlu, E. (2024). Alternatif protein kaynağı olarak yenilebilir böcekler ve tüketici kabulü. *Gıda*, 49 (3), 567-579. <https://doi.org/10.15237/gida.GD24023>
- Özdin, S., Bayrak Özdin, Ş. (2020). Levels and predictors of anxiety, depression and health anxiety during COVID-19 pandemic in Turkish society: The importance of gender. *International Journal of Social Psychiatry*, 66(5), 504-511. <https://doi.org/10.1177/0020764020927051>
- Pakseresht, A., Kaliji, S.A., Canavari, M. (2022). Review of factors affecting consumer acceptance of cultured meat, *Appetite*, 170:105829. <https://www.fao.org/3/cb5332en/cb5332en.pdf>
- Palmieri, N., Forleo, M. B. (2020). The potential of edible seaweed within the western diet. A segmentation of Italian consumers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 20, 100202. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100202>
- Palmieri, N., Nervo, C., Torri, L. (2023). Consumers' attitudes towards sustainable alternative protein sources: Comparing seaweed, insects and jellyfish in Italy. *Food Quality and Preference*, 104, 104735. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104735>
- Piha, S., Pohjanheimo, T., Lähteenmäki-Uutela, A., Křečková, Z., Otterbring, T. (2018). The effects of consumer knowledge on the willingness to buy insect food: An exploratory cross regional study in Northern and Central Europe. *Food Quality and Preference*, 70, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.12.006>
- Piochi, M., Micheloni, M., Torri, L. (2022). Effect of informative claims on the attitude of Italian consumers towards cultured meat and relationship among variables used in an explicit approach. *Food Research International*, 151, 110881. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110881>
- Profeta, A., Baune, M. C., Smetana, S., Broucke, K., Van Royen, G., Weiss, J., ... Terjung, N. (2021). Consumer preferences for meat blended with plant proteins—Empirical findings from Belgium. *Future Foods*, 4, 100088. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100088>
- Post, M. J. (2014). An alternative animal protein source: cultured beef. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1328(1), 29-33. <https://doi.org/10.1111/nyas.12569>
- Rawiwan, P., Peng, Y., Paramayuda, I. G. P. B., Quek, S. Y. (2022). Red seaweed: A promising alternative protein source for global food sustainability. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 37-56. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.003>
- Ruby, M. B., Rozin, P., Chan, C. D. (2015). Determinants of willingness to eat insects in the USA and India. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(3), 215-225. <https://doi.org/10.3920/JIFF2015.0029>
- Sampels, S. (2014). Towards a more sustainable production of fish as an important protein source for human nutrition, *Journal of Fisheries & Livestock Production*, 2(2). <http://dx.doi.org/10.4172/2332-2608.1000119>
- Siddiqui, S. A., Alvi, T., Sameen, A., Khan, S., Blinov, A. V., Nagdalian, A. A., ... Onwezen, M. (2022). Consumer acceptance of alternative proteins: a systematic review of current alternative protein sources and interventions adapted to increase their acceptability. *Sustainability*, 14(22), 15370. <https://doi.org/10.3390/su142215370>
- Siegrist, M., Hartmann, C. (2019). Impact of sustainability perception on consumption of organic meat and meat substitutes. *Appetite*, 132, 196-202. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.09.016>
- Smart, M. A., Pontes, N. (2023). The role of consumer restraint versus indulgence on purchase intentions of hybrid meat analogues. *Food Quality and Preference*, 104, 104738. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104738>
- Sogari, G., Amato, M., Biasato, I., Chiesa, S., Gasco, L. (2019). The potential role of insects as

- feed: A multi-perspective review. *Animals*, 9(4), 119. <https://doi.org/10.3390/ani9040119>
- Sogari, G., Caputo, V., Petterson, A. J., Mora, C., Boukid, F. (2023). A sensory study on consumer valuation for plant-based meat alternatives: What is liked and disliked the most?. *Food Research International*, 169, 112813. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112813>
- Spendrup, S., Hovmalm, H. P. (2022). Consumer attitudes and beliefs towards plant-based food in different degrees of processing—The case of Sweden. *Food Quality and Preference*, 102, 104673. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104673>
- Stunda-Zujeva, A., Ruĝele, K. (2018). Growing and Drying Spirulina/Arthrospira for Producing Food and Nutraceuticals: A Review. *Key Engineering Materials*, 762, 134-140. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KE.M.762.134>
- Takeda, K. F., Yazawa, A., Yamaguchi, Y., Koizumi, N., Shineha, R. (2023). Comparison of public attitudes toward five alternative proteins in Japan. *Food Quality and Preference*, 105, 104787. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104787>
- Thavamani, A., Sferra, T. J., Sankararaman, S. (2020). Meet the meat alternatives: The value of alternative protein sources. *Current Nutrition Reports*, 9, 346-355. <https://doi.org/10.1007/s13668-020-00341-1>
- Tiasto, V., Mikhailova, V., Gulaia, V., Vikhareva, V., Zorin, B., Kalitnik, A., Kagansky, A. (2018). Esophageal cancer research today and tomorrow: Lessons from algae and other perspectives. *AIMS genetics*, 5(01), 075-090. <https://doi.org/10.3934/genet.2018.1.75>
- Tso, R., Lim, A. J., Forde, C. G. (2020). A critical appraisal of the evidence supporting consumer motivations for alternative proteins. *Foods*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.3390/foods10010024>
- Tzompa-Sosa, D. A., Sogari, G., Copelotti, E., Andreani, G., Schouteten, J. J., Moruzzo, R., Mancini, S. (2023). What motivates consumers to accept whole and processed mealworms in their diets? A five-country study. *Future Foods*, 7, 100225. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100225>
- United Nations 2019. World Population Prospects 2019. [https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019\\_Highlights.pdf](https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf) (Accessed 10 November 2022).
- United Nations 2022. Sustainable Development Goals. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/> (Accessed 20 November 2022)
- Uribe-Wandurraga, Z. N., Igual, M., Guallar-de Rufino, R., Savall, C., García-Segovia, P., van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security, *FAO*, <http://www.fao.org/3/i3253e/i3253e.pdf> (Accessed 15 November 2022)
- Vural, Y., Ferriday, D., Rogers, P. J. (2023). Consumers' attitudes towards alternatives to conventional meat products: Expectations about taste and satisfaction, and the role of disgust. *Appetite*, 181, 106394. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2022.106394>
- Yüksel, E., Canhilal R. (2018). A survey of public opinion about entomophagy in Erciyes University. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilim Dergisi* 2018;4(2):203-208. <https://doi.org/10.24180/ijaws.440555>
- Zor, M., Menevşeoĝlu, A., Ufuk, S. (2024). Plant-based meat: A sustainable alternative to meat. *FOOD*, 49 (3) 504-516 doi: 10.15237/gida.GD23147
- Wahrens, S. S., Faber, I., Gunn, L., Buldo, P., Frøst, M. B., Perez-Cueto, F. J. (2023). Consumers' sensory-based cognitions of currently available and ideal plant-based food alternatives: A survey in Western, Central and Northern Europe. *Food Quality and Preference*, 108, 104875. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2023.104875>
- Wendin, K., Undeland, I. (2020). Seaweed as food—Attitudes and preferences among Swedish consumers. A pilot study. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100265. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100265>

- Weickert, S., Grahl, S., Weinrich, R. (2021). Algae production technology: Effect of framing on German consumer acceptance. *Algal Research*, 58, 102401. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102401>
- Wendin, K. M., Nyberg, M. E. (2021). Factors influencing consumer perception and acceptability of insect-based foods. *Current Opinion in Food Science*, 40, 67-71. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.007>
- Weinrich, R. (2018). Cross-cultural comparison between German, French and Dutch consumer preferences for meat substitutes. *Sustainability*, 10(6), 1819. <https://doi.org/10.3390/su10061819>
- Weinrich, R., Strack, M., Neugebauer, F. (2020). Consumer acceptance of cultured meat in Germany. *Meat Science*, 162, 107924. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107924>
- Weinrich, R., Busch, G. (2021). Consumer knowledge about protein sources and consumers' openness to feeding micro-algae and insects to pigs and poultry. *Future Foods*, 4, 100100. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100100>
- Weinrich, R., Elshiewy, O. (2023). A cross-country analysis of how food-related lifestyles impact consumers' attitudes towards microalgae consumption. *Algal Research*, 70, 102999. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.102999>
- Wild, F., Czerny, M., Janssen, A. M., Kole, A. P., Zunabovic, M., Domig, K. J. (2014). The evolution of a plant-based alternative to meat. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 25(1), 45-49.
- Wilkinson, K., Muhlhausler, B., Motley, C., Crump, A., Bray, H., Ankeny, R. (2018). Australian consumers' awareness and acceptance of insects as food. *Insects*, 9(2), 44. <https://doi.org/10.3390/insects9020044>
- Wilks, M., Phillips, C. J. (2017). Attitudes to in vitro meat: A survey of potential consumers in the United States. *PLoS one*, 12(2), e0171904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171904>
- Workie, E., Mackolil, J., Nyika, J., Ramadas, S. (2020). Deciphering the impact of COVID-19 pandemic on food security, agriculture, and livelihoods: A review of the evidence from developing countries. *Current Research in Environmental Sustainability*, 2, 100014. <https://doi.org/10.1016/j.crsust.2020.100014>
- World Health Organization 2020. Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight> (Accessed 15 November 2022).
- World Economic Forum 2019. Meat: The Future Series Alternative Proteins 2019. [https://www3.weforum.org/docs/WEF\\_White\\_Paper\\_Alternative\\_Proteins.pdf](https://www3.weforum.org/docs/WEF_White_Paper_Alternative_Proteins.pdf) (Accessed 15 November 2022).
- Xue, L., Prass, N., Gollnow, S., Davis, J., Scherhauer, S., Östergren, K., ... Liu, G. (2019). Efficiency and carbon footprint of the German meat supply chain. *Environmental Science & Technology*, 53(9), 5133-5142. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06079>

## TÜRKİYE'DE SATIŞA SUNULAN ŞALGAM SULARININ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Berna ÖZTÜRK, Gülden KILIÇ, Ayşegül KIRMIZIGÜL PEKER,  
Kıvanç ATLAMA, Yunus YAŞI, İlkin YÜCEL ŞENGÜN\***  
Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 04.03.2024; Kabul / Accepted: 02.05.2024; Online baskı / Published online: 26.07.2024

Öztürk, B., Kılıç, G., Kırmızıgül Peker, A., Atlama, K., Yaşı, Y., Yücel Şengün, İ. (2024). Türkiye'de satışa sunulan şalgam sularının laktik asit bakterileri potansiyelinin değerlendirilmesi. GIDA (2024) 49 (4) 703-713 doi: 10.15237/ gida.GD24031

Öztürk, B., Kılıç, G., Kırmızıgül Peker, A., Atlama, K., Yaşı, Y., Yücel Şengün, İ. (2024). Investigation of the microbiological properties of shalgam juice exposed for sale in Turkey. GIDA (2024) 49 (4) 703-713 doi: 10.15237/ gida.GD24031

### ÖZ

Son yıllarda doğal fermantasyonla üretilen birçok fermente ürünün probiyotik potansiyelinin bulunduğu çeşitli çalışmalar kapsamında belirlenmiştir. Ülkemize özgü geleneksel sebze bazlı fermente gıdalardan olan, laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar açısından zengin bir mikrobiyotaya sahip şalgam suyunun probiyotik potansiyelinin bulunduğu ve bu ürünün tüketiminin sağlık açısından oldukça faydalı olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, bir gıdaya probiyotik denilebilmesi ve bu gıdanın sağlık üzerine olumlu etkiler gösterebilmesi için içeriğinde en az  $10^6$  KOB/mL-g düzeyinde canlı probiyotik hücre bulunması gerekmektedir. Bu çalışma, Türkiye'nin farklı illerinde satışa sunulan geleneksel ve ticari olarak üretilmiş şalgam sularının yeterli miktarda canlı hücre içerip içermediğini incelemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada örneklerin LAB sayıları 1.55-6.51 log KOB/mL aralığında belirlenirken, maya sayıları 1.13-5.32 log KOB/mL aralığında bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar, piyasada satışa sunulan birçok şalgam suyunun probiyotik özellik gösterecek seviyede canlı hücre içermediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, şalgam sularından kültüre edilen mikroorganizmaların probiyotik özellikte olup olmadıklarının belirlenmesi ayrı bir çalışma konusu olarak değerlendirilmelidir.

**Anahtar kelimeler:** Şalgam suyu, probiyotik, laktik asit bakterisi, maya

## INVESTIGATION OF THE MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF SHALGAM JUICE EXPOSED FOR SALE IN TURKEY

### ABSTRACT

In recent years, it has been determined in various studies that many fermented products produced by natural fermentation have probiotic potential. It is reported that shalgam juice, which is one of the traditional vegetable-based fermented foods unique to our country and has a microbiota rich in lactic acid bacteria (LAB) and yeasts, has probiotic potential and the consumption of this product is

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉:ilkin.sengun@ege.edu.tr

☎ (+90) 232 311 30 28

☎ (+90) 232 342 75 92

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

Gülden Kılıç; ORCID no: 0000-0001-6125-6219

Ayşegül Kırmızıgül Peker; ORCID no: 0000-0003-4723-7374

Kıvanç Atlama; ORCID no: 0000-0001-6881-8704

Yunus Yaşı; ORCID no: 0000-0002-4153-686X

İlkin Yücel Şengün; ORCID no: 0000-0001-6940-2129



beneficial for health. However, in order to call the product as “probiotic food”, and to have positive effects on health, it must contain at least  $10^6$  CFU/mL-g of viable probiotic cells. This study was carried out to examine whether traditional and commercially produced turnip juices sold in different provinces of Turkey contain sufficient amounts of viable cells. In the study, the LAB counts of the samples were determined between 1.55-6.51 log CFU/mL, while the yeast counts of the samples were found between 1.13-5.32 log CFU/mL. These results revealed that shalgam juices commonly do not contain viable cells sufficient to call the product as probiotic. In addition, there is a need for studies in which the culturable microorganisms obtained from shalgam juices should be investigated in terms of probiotic properties.

**Keywords:** Shalgam juice, probiotic, lactic acid bacteria, yeast

## GİRİŞ

Son yıllarda, insan vücudunda spesifik fonksiyonları ve sistemleri etkileyen, enerji ve besin ögesi olmasının yanı sıra önemli sağlık faydaları sağlayan gıdalara olan yönelim artış göstermiştir. Bu artış, hayat kalitesini arttıran ürünlerle ilgilenen ve sağlığına duyarlı tüketicilerin sayısının artması, teknolojik inovasyonlar ve fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi ile hız kazanmaktadır. Fonksiyonel gıdalar, insan vücudunda çeşitli fizyolojik faydalar gösteren veya kronik hastalık riskini azaltma gibi temel beslenme görevinin ötesinde etkileri bulunan, normal diyetin bir parçası olarak tüketilen ürünler olarak tanımlanabilmektedir (Martins vd., 2013). Günümüzde çeşitli fonksiyonel gıda örnekleri bulunmasına rağmen fonksiyonel gıda pazarının önemli bir kısmını probiyotik ürünler oluşturmaktadır (Erik ve Ormanci, 2022).

Probiyotikler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından “yeterli miktarda alındığında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır (WHO/FAO, 2002). Bu mikroorganizmalar bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek bağırsaklık sisteminin güçlendirilmesine katkı sağlamakta, ayrıca bakteriyosin, organik asit, hidrojen peroksit, kısa zincirli yağ asitleri ve ekzopolisakkarit gibi farklı birçok metabolit üreterek de sağlık üzerine önemli etkiler sağlamaktadır. Probiyotiklerin, antikarsinogenik, antioksidatif, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiobezite ve antidiyabetik özelliklerin yanı sıra konağın metabolizma, solunum sistemi ve beyin fonksiyonları üzerine de olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Amirani

vd., 2020; Fusco vd., 2023). Probiyotiklerin gıdanın gramında veya mililitresinde en az  $10^6$  koloni oluşturan birim (KOB) düzeyinde bulunması ve ayrıca vücuda alındığında canlı kalarak kolonize olması gerekmektedir (Angelin ve Kavitha, 2020). Diyetle ilgili konularda artan farkındalık ve probiyotiklerin sağlık yararları hakkında giderek artan bilimsel kanıtlar, tüketicilerin probiyotik gıdalara olan ilgisini arttırmıştır. Yoğurt, süt tozu, dondurulmuş fermente sütlü tatlılar, peynir ve peynir ürünleri, dondurmalar, bebek mamaları, tahıllar ve meyve suları gibi gıdaların starter kültür ilavesiyle probiyotik gıda olarak üretilmeleri son yıllarda oldukça popüler hale gelmiştir (Ghorbani vd., 2023; Kamel vd., 2023; Naseem vd., 2023). Meyve ve sebze bazı ürünler antioksidanlar, polifenoller, vitaminler, diyet lifleri gibi yararlı besin maddelerini yüksek oranda içermektedir. Bu gıdalar şeker ve besin içeriği yüksek ürünler olduğundan probiyotiklerin gelişimi için uygun ortamlar sunmaktadır. Bununla birlikte, çeşitli meyve (nar, kızılcık, ananas, portakal, domates vb.) ve sebzelerden (pancar, lahanaya, şalgam, havuç vb.) laktik asit fermantasyonu ile birçok fermente içecek üretimi gerçekleştirilebilmektedir (Granato vd., 2010; Yahşi, 2022).

Ülkemize özgü sebze bazı fermente ürünler arasında yer alan şalgam suyu, Türk Standartları Enstitüsü’ne göre “Bulgur unu (setik), ekşi hamur, içilebilir su ve yemeklik tuzun karıştırılıp laktik asit fermantasyonuna tabi tutulduktan sonra elde edilen özütün, şalgam (*Brassica rapa* L.), mor havuç (*Daucus carota* L.) ve istenirse acı toz biber ilave edilerek hazırlanan karışımın tekrar laktik asit fermantasyonuna tabi tutulması ile elde edilen ve

istendiğinde ısı işlem ile dayanıklı hale getirilen ürün” şeklinde tanımlanmaktadır (TSE, 2003). TS 11149 Şalgam Suyu Standardı’na göre şalgam suyunun pH değerinin 3.3-3.8 aralığında ve toplam asitlik miktarının en az 6 g laktik asit/L olması gerekmektedir. Şalgam suyu, koyu kırmızı renkte, ekşi ve lezzetli bir tadı olan, zengin vitamin (A, B ve C vitaminleri) ve mineral (kalsiyum, potasyum, magnezyum, iyot ve demir) içeriğine sahip, besleyici değeri yüksek bir içecek olup, Türkiye’de yaygın olarak Batı ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde üretilip tüketilmektedir. Şalgam suyu, vücuttaki toksinlerin atılması, böbrek taşının azaltılması, akciğer ve bronşların temizlenmesi, akne, egzama gibi cilt hastalıklarının tedavisine yardımcı olması gibi sağlık üzerine birçok yararlı etkiye sahiptir (Coskun, 2017). Ayrıca içerdiği laktik asitten dolayı sindirimi kolaylaştırdığı, sahip olduğu mineraller sayesinde kemik ve diş yapısını güçlendirdiği, sınırları yatıştırdığı, mide ve karaciğer fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediği bildirilmektedir (Üçok ve Tosun, 2012).

Şalgam suyu fermantasyonunda çeşitli laktik asit bakterileri (LAB) ve mayaların rol aldığı bildirilmektedir (Panghal vd., 2018). Yapılan çalışmalarda, geleneksel yöntemlerle üretilen şalgam suyunun fermantasyonunda rol alan LAB’nin *Lactocaseibacillus casei*, *L. paracasei*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *L. plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *L. reuteri*, *Lentilactobacillus buchneri*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. gasseri*, *L. sharpeae*, *Fructilactobacillus fructivorans*, *F. sanfranciscensis* ve *Pediococcus pentosaceus* olduğu, mayaların ise daha çok *Candida krusei*, *Pichia kudriavzevii*, *P. fermentans*, *P. saitoi*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Turulopsis holmii* olarak tanılandığı tespit edilmiştir (Erten vd., 2008; Tangüler, 2010; Tanguler ve Erten, 2012a, b; Samantır, 2014; Ekinci vd., 2016; Coskun, 2017; Bircan ve Erten, 2018; Kafkaskıray, 2020; Akman vd., 2021; Kahve vd., 2022; Mujdeci vd., 2023). Bununla birlikte, bu üründen izole edilip tanılanan mikroorganizma türleri içerisinde “probiyotik” özellikte türler olabileceği,

dolayısıyla şalgam suyunun probiyotik içecek olarak değerlendirilebileceği belirtilmektedir. Ancak, bir gıdaya probiyotik denilebilmesi ve sağlık üzerine olumlu etkiler gösterebilmesi için içeriğinde en az  $10^6$  KOB/ml-g düzeyinde probiyotik hücre bulunmalıdır (Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği, 2017). Bununla birlikte, günümüzde endüstriyel olarak üretilen şalgam sularının probiyotik içeriği, üretimde kullanılan hammadde, üretim yöntemi gibi faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişim göstermektedir.

Bu çalışma kapsamında, Türkiye’nin farklı illerinde satışı sunulan geleneksel ve ticari olarak üretilmiş şalgam sularının yeterli miktarda canlı hücre içerip içermediğini tespit etmek amaçlanmıştır. Bu amaçla, 15 farklı şalgam suyu örneğinin LAB ve maya sayıları tespit edilmiştir. Ayrıca, örneklerin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla pH ve toplam asitlik analizleri yapılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Şalgam Suyu Örneklerinin Temini

Çalışmada materyal olarak, geleneksel ev yapımı 4 adet (D, J, M, N) ve ticari olarak üretimi yapıлып satışı sunulan 11 adet (A, B, C, E, F, G, H, K, L, P, R) olmak üzere toplam 15 şalgam suyu örneği kullanılmıştır. Şalgam suyu örnekleri Türkiye’nin farklı illerinden temin edilmiştir (Çizelge 1). Soğuk koşullarda laboratuvara getirilen örnekler en hızlı şekilde analize alınmış ve 4°C’de muhafaza edilmiştir.

### pH Analizi

Şalgam suyu örneklerinin pH değeri, pH metre (Hanna HI2002-02, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (AOAC, 2007).

### Toplam Asitlik

Şalgam suyu örneklerinin toplam asitlik değerleri titrimetrik yöntem kullanılarak tayin edilmiş ve sonuçlar g laktik asit/L cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2007).

Çizelge 1. Şalgam suyu örnekleri  
Table 1. *Shalgam juice samples*

Örnek kodu <i>Sample code</i>	Hammadde/İçerik <i>Raw material/Content</i>	Üretim yeri <i>Production place</i>
A	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur unu, ekşi hamur, sarımsak, sodyum benzoat, acı kırmızı biber aroması (doğal), tuz, su	Kırıkhan/Hatay
B	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur unu, tuz, su	Osmaniye
C	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur, maya, sodyum benzoat, süs biberi, tuz, su	Ereğli/Konya
D	Mor havuç, şalgam turpu, pancar, bulgur, ekşi mayalı ekmek, toz şeker, limon, kaya tuzu, su	Osmaniye
E	Mor havuç, bulgur unu, tuz	Osmaniye
F	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur, acı biber, tuz, su	Turgutlu/Manisa
G	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur unu, maya, sarımsak, sodyum benzoat, süs biberi, tuz, su	Ereğli/Konya
H	Mor havuç, bulgur unu, tuz, su	Osmaniye
J	Mor havuç, şalgam turpu, pancar, ekmek, limon tuzu, tuz, su	Osmaniye
K	Mor havuç, bulgur unu, tuz, su	Osmaniye
L	Organik mor havuç, organik bulgur, sodyum klorür, su	Seyhan/Adana
M	Mor havuç, şalgam turpu, pancar, ekmek, limon tuzu, tuz, su	Osmaniye
N	Mor havuç, şalgam turpu, pancar, ekmek, limon tuzu, tuz, su	Osmaniye
P	Mor havuç, şalgam turpu, sodyum benzoat, acı biber, tuz, su	Elmadağ/Ankara
R	Mor havuç, şalgam turpu, bulgur, ekşi hamur, sarımsak, sodyum benzoat, tuz, su	Yüreğir/Adana

### Mikrobiyolojik Analizler

#### *Mikrobiyolojik analizler öncesi örnek hazırlığı*

Örneklerin 1. dilüsyonu %0.1 Peptonlu Su (PW, pH  $7.0 \pm 0.2$ , Oxoid CM0009, İngiltere) kullanılarak hazırlanmıştır. Daha sonra örneklerin diğer dilüsyonları PW (%0.1) kullanılarak hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan petrilere paralel ekimler yapılmıştır.

#### *LAB sayımı*

LAB sayımı amacıyla, uygun dilüsyonlardan 0.1 g/L sikloheksimit içeren Man Rogosa and Sharp Agar (MRS, pH  $6.2 \pm 0.2$ , Conda 202252, İspanya) ve M17 Agar (pH  $7.2 \pm 0.2$ , Merck 115108, Almanya) besiyerlerine dökme plak yöntemine göre çift katlı ekimler yapılmış, ekim yapılan petriler  $30^\circ\text{C}$ 'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (ISO 15214, 1998).

#### *Maya sayımı*

Örneklerde bulunan maya sayısını belirlemek amacıyla, uygun dilüsyonlardan %10 tartarik asit (Merck KGaA Art-802, Darmstadt, Almanya) kullanılarak asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, pH  $5.6 \pm 0.2$ , Merck 110130, Almanya) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve ekim yapılan petriler  $25^\circ\text{C}$ 'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (FDA-BAM, 2001).

### İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışma kapsamında tüm denemeler üç tekerrür ve iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları SPSS 20 paket programı ile tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma metodları kullanılarak  $P < 0.05$  önem seviyesinde değerlendirilmiştir (SPSS, 2011).

**BULGULAR VE TARTIŞMA**

**Şalgam Suyu Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri**

Şalgam suyu örneklerinin pH değerleri 3.49 ve 6.28 aralığında, toplam asitlik değerleri ise 0.30 ve 14.55 g laktik asit/L aralığında değişim

göstermiştir (Çizelge 2). En yüksek pH değerinin J kodlu şalgam suyu örneğinde olduğu, pH değerine paralel olarak en düşük toplam asitlik değerinin J kodlu örnekte ( $P<0.05$ ), en yüksek asitlik değerinin ise M kodlu örnekte bulunduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ).

Çizelge 2. Şalgam suyu örneklerinin pH ve toplam asitlik değerleri  
Table 2. pH and total acidic values of şalgam juice samples

Örnek kodu Sample code	pH	Toplam asitlik (g laktik asit/L) Total acidity (g lactic acid/L)
A	3.53±0.01 <sup>b</sup>	11.40±0.71 <sup>f</sup>
B	3.49±0.01 <sup>a</sup>	9.80±0.14 <sup>e</sup>
C	3.94±0.01 <sup>j</sup>	7.55±0.21 <sup>c</sup>
D	4.12±0.01 <sup>k</sup>	11.30±0.14 <sup>f</sup>
E	3.62±0.01 <sup>e</sup>	6.55±0.21 <sup>b</sup>
F	3.51±0.02 <sup>ab</sup>	9.00±0.14 <sup>d</sup>
G	3.86±0.00 <sup>t</sup>	8.90±0.00 <sup>d</sup>
H	3.67±0.01 <sup>g</sup>	8.80±0.14 <sup>d</sup>
J	6.28±0.04 <sup>m</sup>	0.30±0.14 <sup>a</sup>
K	3.59±0.02 <sup>d</sup>	12.25±0.07 <sup>g</sup>
L	3.71±0.02 <sup>h</sup>	7.10±0.42 <sup>bc</sup>
M	3.60±0.00 <sup>de</sup>	14.55±0.49 <sup>h</sup>
N	3.65±0.01 <sup>f</sup>	11.30±0.57 <sup>f</sup>
P	3.55±0.01 <sup>c</sup>	12.30±0.14 <sup>g</sup>
R	3.64±0.01 <sup>f</sup>	8.90±0.71 <sup>d</sup>

\* Aynı sütunda yer alan farklı harflere (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, m) sahip değerler  $P < 0.05$ 'te önemli ölçüde farklıdır.  
\* Values in the same column with different letters (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, m) are significantly different at  $P < 0.05$ .

Şalgam suyunun pH ve toplam asitlik değerleri, fermentasyon süresince üretilen laktik asit ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca, pH ve toplam asitlik değerleri son ürünün organoleptik özellikleri açısından önem arz etmektedir. TS 11149 Şalgam Suyu Standardına göre şalgam suyunun pH değerinin 3.3-3.8 aralığında ve toplam asitlik miktarının en az 6 g laktik asit/L olması gerekmektedir. Bu verilerle karşılaştırıldığında, incelemeye alınan şalgam suyu örneklerinden J kodlu geleneksel ev yapımı şalgam suyu örneğinin pH ve toplam asitlik değerlerinin standarda uygun olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, C, D

ve G kodlu örneklerin pH değerlerinin 3.8'in üzerinde olması nedeniyle standarda uygun olmadığı, toplam asitlik açısından değerlendirildiğinde ise J kodlu örnek hariç tüm örneklerin standarda uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Ağırman (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı tuzlar kullanılarak geleneksel yöntem ile üretilen şalgam sularının pH değerlerinin 3.26 ve 3.48 arasında değiştiği, toplam asitlik değerlerinin laktik asit cinsinden 7.40 ve 8.71 g/L aralığında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan başka bir

çalışmada, farklı işletmelerden satın alınan şalgam suyu örneklerinin pH değerlerinin 3.28 ve 3.48 arasında değişim gösterdiği, toplam asitlik değerlerinin ise laktik asit cinsinden 6.54 ve 7.25 g/L aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Tangüler, 2010). Tanguler vd. (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada, direkt yöntem (sadece havuç fermantasyonu içeren yöntem), geleneksel yöntem ve starter kültür (*L. fermentum*, *L. paracasei*, *L. plantarum*) ilave edilerek şalgam suyu üretimi gerçekleştirilmiş ve 25°C'de 10 günlük fermantasyon sonunda örneklerin pH değerlerinin 3.42-3.55 aralığında, toplam asitlik değerlerinin ise 6.33-9.22 g laktik asit/L aralığında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, direkt ve geleneksel yöntemlerle şalgam suyu üretimi yapılmış, fermantasyon sonunda (25°C'de 10 gün) örneklerin pH değerlerinin 3.43-3.73 aralığında, toplam asitlik değerlerinin ise 6.35-7.00 g laktik asit/L aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Tanguler vd., 2021). Çırak (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, şalgam suyu üretiminde geleneksel yöntem kullanılmış ve farklı fermantasyon sıcaklığı uygulamasının (15°C, 20°C, 25°C, 30°C ve 35°C) şalgam suyu kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte fermantasyon süresinin kısaldığı, en yüksek toplam asitlik değerinin laktik asit cinsinden 20°C ve 25°C'de fermente edilen örneklerde sırasıyla 7.96 g/L ve 8.23 g/L olduğu tespit edilmiştir. 35°C'de fermente edilen örneklerde ise toplam asitlik değeri 5.49 g/L ile en düşük değer olarak belirlenmiştir. Tarafımızca yürütülen çalışma kapsamında incelenen çoğu şalgam suyu örneğinin pH ve toplam asitlik değerlerinin literatür verileri ile paralellik gösterdiği, A, D, K, M, N ve P kodlu örneklerin toplam asitlik değerlerinin literatür verilerine göre daha yüksek, J kodlu örneğin ise toplam asitlik değerinin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Gerçekleştirdiğimiz çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar, şalgam suyu örneklerinin birçoğunun pH ve toplam asitlik değerlerinin üretim sırasında kullanılan yöntem, starter kültür ve fermantasyon koşullarına bağlı olarak farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, kontrolsüz

şartlarda geleneksel yöntemlerle üretilen şalgam sularının istenilen asitlik seviyesine ulaşamayabileceği görülmektedir.

### Şalgam Suyu Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Bu çalışmada 15 farklı şalgam suyu örneğinde bulunan LAB sayıları MRS ve M17 Agar olmak üzere iki farklı besiyeri kullanarak belirlenmiştir. MRS ve M17 Agar besiyerlerinin içerisinde yer alan bileşenlerdeki farklılıklar, bu ortamlarda gelişebilen LAB türlerinin farklılık göstermesine neden olmaktadır. *Enterococcus* ve *Streptococcus* türlerinin sayımı için genellikle M17 Agar, diğer LAB türlerinin sayımı amacıyla ise çoğunlukla MRS Agar kullanılmaktadır (Hayek ve ark., 2019). Sayım amacıyla MRS Agar besiyeri kullanıldığında, E ve P kodlu örnekler dışında diğer örneklerin LAB sayıları 3.38 ve 6.51 log KOB/mL aralığında değişirken, M17 Agar besiyeri kullanıldığında, E, K, L, M ve P kodlu örnekler haricinde diğer örneklerin LAB sayıları 1.55 ve 4.78 log KOB/mL aralığında belirlenmiştir (Çizelge 3). En yüksek LAB sayısı her iki besi ortamında da D kodlu örnekten elde edilmiştir ( $P < 0.05$ ). MRS Agar besiyerinde E ve P kodlu örneklerin, M17 Agar ortamında ise E, K, L, M ve P kodlu örneklerin LAB sayılarının tespit edilebilir limitlerin altında olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, en düşük LAB sayısının her iki ortamda da A kodlu örnekte olduğu gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Örneklerin LAB sayıları ile toplam asitlik miktarı ve benzoat içeriği arasında bir korelasyon olmadığı tespit edilmiştir. LAB sayılarındaki farklılık, örneklerde bulunan besin öğelerinin konsantrasyonlarındaki farklılıklardan kaynaklanabilir. MRS Agar besiyerinde D ve H kodlu örnekler dışında, M17 Agar besiyerinde ise tüm örneklerde LAB sayılarının 6 log KOB/mL'nin altında olduğu görülmekte ve ayrıca, bu iki besiyerinde kültüre edilen LAB'nin de probiyotik özellikte olup olmadıkları bilinmemektedir. Bu durum, piyasada satışa sunulan ve çoğunlukla probiyotik olarak değerlendirilen birçok şalgam suyunun probiyotik özellik gösterecek seviyede canlı hücre içermediğini göstermektedir.

Şalgam suyu örnekleri maya sayıları açısından değerlendirildiğinde, E ve P kodlu örnekler dışında diğer örneklerin maya sayılarının 1.13 ve 5.32 log KOB/mL arasında değişim gösterdiği (Çizelge 3), en yüksek maya sayısının ise J kodlu şalgam suyu örneğinde bulunduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu durum, J kodlu örnekte yüksek seviyede bulunan mayaların, LAB tarafından

üretilen laktik asidi parçalayarak asitliğin düşmesine (Karabıyıklı ve Erdoğan, 2019) ve son ürünün yeterli miktarda asitliğe sahip olmamasına neden olmuştur (Çizelge 2). Bununla birlikte, LAB sayısına benzer şekilde E ve P kodlu örneklerde maya sayılarının tespit limitinin altında olduğu ve en düşük maya sayısının A kodlu örnekte elde edildiği gözlemlenmiştir.

Çizelge 3. Şalgam suyu örneklerinin laktik asit bakteri ve maya sayısı  
Table 3. The counts of lactic acid bacteria and yeast of şalgam juice samples

Örnek kodu Sample code	log KOB/mL		Maya
	log CFU/mL		
	Laktik asit bakterileri Lactic acid bacteria		
	MRS	M17	
A	3.38±0.29 <sup>b</sup>	1.55±0.08 <sup>b</sup>	1.13±0.07 <sup>b</sup>
B	5.18±0.14 <sup>e</sup>	1.98±0.04 <sup>c</sup>	4.27±0.02 <sup>g</sup>
C	5.15±0.09 <sup>e</sup>	2.98±0.08 <sup>d</sup>	3.29±0.12 <sup>e</sup>
D	6.51±0.16 <sup>h</sup>	4.78±0.05 <sup>h</sup>	2.12±0.12 <sup>c</sup>
E	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
F	4.53±0.29 <sup>d</sup>	2.08±0.12 <sup>c</sup>	4.75±0.11 <sup>h</sup>
G	5.82±0.00 <sup>fg</sup>	4.30±0.16 <sup>g</sup>	3.42±0.35 <sup>e</sup>
H	6.03±0.12 <sup>g</sup>	3.62±0.31 <sup>e</sup>	4.72±0.20 <sup>h</sup>
J	5.90±0.05 <sup>fg</sup>	4.24±0.10 <sup>g</sup>	5.32±0.00 <sup>i</sup>
K	4.58±0.03 <sup>d</sup>	<1 <sup>a</sup>	4.79±0.06 <sup>h</sup>
L	3.98±0.13 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup>	2.99±0.04 <sup>d</sup>
M	4.24±0.04 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup>	4.02±0.06 <sup>g</sup>
N	5.72±0.01 <sup>f</sup>	1.92±0.18 <sup>c</sup>	3.18±0.02 <sup>de</sup>
P	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
R	5.05±0.10 <sup>e</sup>	3.97±0.15 <sup>f</sup>	3.70±0.13 <sup>f</sup>

\* Aynı sütunda yer alan farklı harflere (a, b, c, d, e, f, g, h, i) sahip değerler  $P < 0.05$ 'te önemli ölçüde farklıdır.

\* Values in the same column with different letters (a, b, c, d, e, f, g, h, i) are significantly different at  $P < 0.05$ .

Piyasada satışa sunulan şalgam sularının mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Gök (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada, Adana'da satışa sunulan 25 adet ticari şalgam suyunun Türk Gıda Kodeksi uygunlukları araştırılmış ve şalgam suyu örneklerinin LAB sayıları 2.18 ve 5.95 log KOB/mL, maya sayıları ise 1.47 ile 5.77 log KOB/mL aralığında tespit edilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada, Adana ve Mersin'de satışa sunulan 14 adet şalgam suyu örneğinin LAB

sayıları 4.38-7.93 log KOB/mL, maya sayıları ise 3.79 ve 6.26 log KOB/mL aralığında belirlenmiştir (Özer ve Çoksöyler, 2015). Bu sonuçlar tarafımızca elde edilen verilere benzer şekilde, piyasada satışa sunulan birçok şalgam suyunun LAB ve maya sayılarının 6 log KOB/mL'nin altında olduğunu ve satışa sunulan şalgam sularının probiyotik özellik gösterecek seviyede canlı hücre içermediğini ortaya koymaktadır.

Literatürde farklı üretim yöntemleri kullanılarak üretilen şalgam suyu örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği farklı çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda, direkt yöntem, geleneksel yöntem ve/veya starter kültür (*L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. lactis*, *L. fermentum*, *L. pentosus*, *L. buchneri*, *L. paracasei* ve *P. pentosaceus*) ilavesi ile, farklı konsantrasyonlarda hammadde ve farklı fermantasyon koşulları kullanılarak üretilen şalgam suyu örneklerinin LAB sayılarının 6.59-9.40 log KOB/mL ve maya sayılarının ise 6.05-7.73 log KOB/mL aralığında değişim gösterdiği bildirilmiştir (Tangüler, 2010; Tangüler ve Erten, 2013; Ağırman, 2014; Tanguler vd., 2014; Tanguler vd., 2015; Çankaya ve Tangüler, 2018; Tangüler, 2021). Elde edilen bu sonuçlar, şalgam suyu üretiminde kullanılan hammadde, üretim yöntemi, starter kültür olarak kullanılan LAB türü ve fermantasyon koşulları gibi faktörlerin, ürünün mikrobiyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini ve farklı üretim teknikleri ve özellikle starter kültür ilavesi ile şalgam suyunda bulunan LAB sayılarının 6 log KOB/mL'nin üzerine çıkarılabileceğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, elde edilen bu sonuçlar starter kültür olarak probiyotik hücrelerin ilavesi ile üretilen şalgam suyunun belirli sayıda ( $>10^6$  KOB/mL) probiyotik hücre içerebileceğini ve istenilen ürün özelliklerine sahip standart kalitede probiyotik şalgam suyu üretiminin gerçekleştirilebileceğini göstermektedir.

## SONUÇ

Son yıllarda tüketicilerin sağlık üzerine olumlu etkilere sahip olan gıdaları tüketmeye yönelik eğilimlerinin artması ile birlikte, aslında çok eski yıllardan bu yana üretilen şalgam suyunun ülke genelinde üretim ve tüketiminin daha da yaygınlaştığı, özellikle de üretimin yerel ve ufak ölçekli üreticilerden büyük ölçekli ticari üretime evrildiği görülmektedir. Şalgam suyu, genel olarak starter kültür kullanılmadan spontan fermantasyon yolu ile üretilmektedir. Dolayısıyla, ülkemizde aktif olarak şalgam suyu üretimi yapan firmaların ürünleri incelendiğinde, bu çalışmanın verilerinde de olduğu gibi her birinin çok farklı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklere sahip

olduğu görülmektedir. Bu durum, şalgam suyunun spontan fermantasyon sonucunda üretilmesinin doğal bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Burada en önemli problem, halk arasında probiyotik olarak bilinen bu ürünün çoğu zaman canlı probiyotik hücre içermemesi, içerdiği durumlarda ise bu sayının sağlık üzerine olumlu etki gösterecek seviyede ( $>10^6$  KOB/mL) olmamasıdır. Bu çalışmada, E ve P kodlu örneklerin LAB ve maya sayılarının tespit limitlerinin altında olmasının, üretim sonrası ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacı ile ısı işleme tabi tutulmuş olması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Bu sonuç, piyasada satışa sunulan şalgam sularının, kullanılan üretim yöntemine bağlı olarak canlı hücre içermeyebileceğini kanıtlar niteliktedir. Bununla birlikte, MRS Agar besiyerinde D ve H kodlu örnekler dışında, M17 Agar besiyerinde ise tüm örneklerde LAB sayılarının 6 log KOB/mL'nin altında olduğu, maya sayılarının da tüm örneklerde bu limitin altında bulunduğu görülmektedir. MRS ve M17 Agar besiyerinde kültüre edilen LAB'nin farklı türler olabileceği, bu türlerin hepsinin probiyotik özellikte olduğu ve ayrıca yapılan çalışmalarda bazı mayaların probiyotik özellikte olabileceğinin bildirilmesi nedeniyle PDA besiyerinde kültüre edilen mayaların da probiyotik özellikte olabileceği göz önüne alınırsa, ancak bu durumda bu örneklerin probiyotik özellikte olabileceği söylenebilir. Ülkemize özgü geleneksel fermente gıdalarımızdan olan şalgam suyunun probiyotik olarak adlandırılabilmesi için gerekli olan probiyotik sayısının ( $>6$  log KOB/mL) ortama adapte olabilecek probiyotik hücrelerin proses sırasında şalgam suyuna starter kültür olarak ilave edilmesi ile bu problemin çözüme kavuşabileceği düşünülmektedir. Bu kapsamda şalgam suyu örneklerinden izolasyon ve tanılama yapıldıktan sonra elde edilen izolatların probiyotik özellikte olduğunun detaylı analizlerle tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte, probiyotik olduğu belirlenen hücrelerin ilave edilmesiyle standart kalitede probiyotik şalgam suyu üretiminin gerçekleştirileceği ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

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

### YAZARLARIN KATKISI

BÖ, GK, AKP, KA, YY laboratuvar analizlerini gerçekleştirmiştir. İYŞ fikir/kavram, tasarım, denetleme/danışmanlık, yöntem, analiz ve yorum ile makalenin genel düzeni aşamasına katkı sağlamıştır. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okumuş ve onaylamışlardır. Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: FOA-2020-21427).

### KAYNAKLAR

Ağırman, B. (2014). Şalgam suyu üretiminde farklı klorür tuzları kullanılarak sodyum klorür miktarının azaltılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 99 s.

Akman, P.K., Ozulku, G., Tornuk, F., Yetim, H. (2021). Potential probiotic lactic acid bacteria isolated from fermented gilaburu and shalgam beverages. *LWT- Food Science and Technology* 149: 111705, doi: 10.1016/j.lwt.2021.111705.

Amirani, E., Milajerdi, A., Mirzaei, H., Jamilian, H., Mansournia, M.A., Hallajzadeh, J. Ghaderi, A. (2020). The effects of probiotic supplementation on mental health, biomarkers of inflammation and oxidative stress in patients with psychiatric disorders: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine* 102361, doi: 10.1016/j.ctim.2020.102361.

Angelin, J., Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules* 162: 853-865, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190.

AOAC (2007). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. 18th Edition, Washington DC, USA.

Bircan, S. Erten, H. (2018). Şalgam suyundan izole edilen bazı laktik asit bakterilerinin moleküler karakterizasyonu ve bunların starter kültür olarak kullanıma potansiyellerinin belirlenmesi. *Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 35(6): 73-81.

Çankaya, A., Tangüler, H. (2018). Şalgam suyu üretiminde gerçekleştirilen havuç fermantasyonu sırasında mikrobiyal değişim üzerine sıcaklığın etkisi. *Türk Taram-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 6(6): 749-755.

Çırak, M.A. (2016). Şalgam suyu üretiminde farklı fermantasyon sıcaklığı uygulamasının kalite üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 82s.

Coskun, F. (2017). A traditional Turkish fermented non-alcoholic grape-based beverage, "Hardaliye", *Beverages* 3(1): 2, doi: 10.3390/beverages3010002.

Ekinci, F.Y., Baser, G.M., Özcan, E., Üstündağ, Ö.G., Korachi, M., Sofu, A., Blumberg, J.B., Chen, C.Y.O. (2016). Characterization of chemical, biological, and antiproliferative properties of fermented black carrot juice, shalgam. *European Food Research and Technology* 242(8): 1355-1368, doi: 10.1007/s00217-016-2639-7.

Erik, S., Ormanci, F.S. (2022). Probiyotik kültür ile üretilen peynirler. *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi* (3): 43-54.

Erten, H., Tanguler, H., Canbaş, A. (2008). A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (Shalgam). *Food Reviews International* 24(3): 352-359, doi: 10.1080/87559120802089324.

FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual) (2001). Yeasts, molds and mycotoxins. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethod/s/ucm071435.htm>, (Accessed: 28 January 2023).



- Ghorbani, S., Shekarfroush, S.S., Niakousari, M., Gheisari, H.R., Janipour, R. (2023). Formulation and assessing characteristics of probiotic ice cream fortified with free and encapsulated iron. *Journal of Food Measurement and Characterization* 17(1): 499-507, doi: 10.1007/s11694-022-01647-0.
- Gök, S. (2017). Adana İlinde Satışa Sunulan Şalgam Sularının Kalite Özelliklerinin ve Türk Gıda Kodeksine Uygunluğunun Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, Türkiye, 60 s.
- Hayek, S.A., Gyawali, R., Aljaloud, S.O., Krastanov, A., Ibrahim, S.A. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *Journal of Dairy Research* 86(4): 490-502, doi: 10.1017/S002202991900075X.
- ISO 1998. ISO 15214:1998 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. -- Colony-count technique at 30 degrees C. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15214:ed-1:v1:en> (Accessed: 28 January 2023).
- Kafkaskıray, E.S. (2020). Şalgam suyu fermantasyon sürecinin mikrobiyal profilinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 106 s.
- Kahve, H.I., Akbulut, M., Coklar, H. (2022). Identification and technological characterization of endogenous yeast isolated from fermented black carrot juice, shalgam. *LWT- Food Science and Technology* 154: 112823, doi: 10.1016/j.lwt.2021.112823.
- Kamel, D.G., Hammam, A.R., El-Diin, M.A.N., Awasti, N., Abdel-Rahman, A.M. (2023). Nutritional, antioxidant, and antimicrobial assessment of carrot powder and its application as a functional ingredient in probiotic soft cheese. *Journal of Dairy Science* 106(3): 1672-1686, doi: 10.3168/jds.2022-22090.
- Karabıyıklı, Ş., Erdoğan, S. (2019). Peynir üretiminde mikroorganizmaların rolü ve önemli mikroorganizma grupları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, (9): 35-45.
- Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Vanzela, E.S.L., Stringheta, P.C., de Oliveira Pinto, C.L., Martins, J.M. (2013). Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International* 51(2): 764-770, doi: 10.1016/j.foodres.2013.01.047.
- Mujdeci, G.N., Tanguler, H., Macit, H., Kabak, B. (2023). Effect of three different preservatives on the microbiota of Shalgam, a traditional lactic acid fermented beverage. *Foods* 12(22), 4075, doi: 10.3390/foods12224075.
- Naseem, Z., Mir, S.A., Wani, S.M., Rouf, M.A., Bashir, I., Zehra, A. (2023). Probiotic-fortified fruit juices: Health benefits, challenges, and future perspective. *Nutrition* 115: 112154, doi: 10.1016/j.nut.2023.112154.
- Özer, N., Çoksöyler, F.N. (2015). Şalgam suyunun bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 40(1): 31-38, doi: 10.15237/gida.GD14068.
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products-A healthy approach. *Food Bioscience* 21: 80-89, doi: 10.1016/j.fbio.2017.12.003.
- Samantır, N. (2014). Şalgam suyundan izole edilen laktik asit bakterilerinin 16S rRNA ile tanımlanması ve bazı gelişme parametrelerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 85 s.
- SPSS (2011). Statistical Package, SPSS for Windows, Ver. 20.0, Chicago.
- Tangüler, H. (2010). Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

- Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 367 s.
- Tangüler, H. (2021). The effect of using different size purple carrots and *Lactobacillus plantarum* on the properties of fermented shalgam (Şalgam). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 9(10): 1759-1766, doi: 10.24925/turjaf.v9i10.1759-1766.4246.
- Tanguler, H., Cankaya, A., Agcam, E., Uslu, H. (2021). Effect of temperature and production method on some quality parameters of fermented carrot juice (Shalgam). *Food Bioscience* 41: 100973, doi: 10.1016/j.fbio.2021.100973.
- Tanguler, H., Erten, H. (2012a). Occurrence and growth of lactic acid bacteria species during the fermentation of shalgam (salgam), a traditional Turkish fermented beverage. *LWT-Food Science and Technology* 46: 36-41, doi: 10.1016/j.lwt.2011.10.026.
- Tanguler, H., Erten, H. (2012b). Chemical and microbiological characteristics of shalgam (şalgam); a traditional Turkish lactic acid fermented beverage. *Journal of Food Quality* 35: 298-306, doi: 10.1111/j.1745-4557.2012.00447.x.
- Tangüler, H., Erten, H. (2013). Selection of potential autochthonous starter cultures from shalgam, a traditional Turkish lactic acid-fermented beverage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 37(2): 212-220, doi: 10.3906/tar-1205-37.
- Tanguler, H., Gunes, G., Erten, H. (2014). Influence of addition of different amounts of black carrot (*Daucus carota*) on shalgam quality. *Journal of Food Agricultural Environmental* 12(2): 60-65.
- Tanguler, H., Saris, P. E., Erten, H. (2015). Microbial, chemical and sensory properties of shalgams made using different production methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(5): 1008-1015, doi: 10.1002/jsfa.6781.
- Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği (2017). <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/01/20170126M1-5.htm> (Erişim Tarihi: 5 Eylül 2023).
- Türk Standartları Enstitüsü (2003). TS 11149 Şalgam Suyu Standardı, Ankara.
- Üçok, E.F., Tosun, H. (2012). Şalgam suyu üretimi ve fonksiyonel özellikleri. *Celal Bayar University Journal of Science* 8(1): 17-26.
- WHO/FAO (2002). Probiotics in Food Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation.
- Yahşi, Y. (2022). Bitkisel kaynaklı protein ve probiyotik ile zenginleştirilmiş meyve ve sebze bazlı içeceklerin geliştirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye, 176 s.



## ÜÇ BOYUTLU (3D) BASKI TEKNİĞİYLE ELMA VE HAVUÇ SUYU BAZLI ÜRÜNLERİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

**Selçuk OK, Emin YILMAZ\***

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

Geliş/Received: 26.02.2024; Kabul /Accepted: 22.07.2024; Online baskı /Published online: 26.07.2024

Ok, S., Yılmaz, E. (2024). Üç boyutlu (3D) baskı tekniğiyle elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin üretimi ve karakterizasyonu. GIDA (2024) 49 (4) 714-729 doi: 10.15237/ gida.GD24029

Ok, S., Yılmaz, E. (2024). Production of apple and carrot juice based products using three-dimensional (3D) printing technique and their characterization. GIDA (2024) 49 (4) 714-729 doi: 10.15237/ gida.GD24029

### ÖZ

Bu çalışmada, 3D gıda yazıcısıyla elma ve havuç suyu bazlı sağlıklı, seçilen meyve ve sebzenin kendine has duyuşal özelliklerini taşıyan atıştırma ürünlerinin üretilmesi hedeflenmiştir. Bu atıştırma ürünlerinin, meyve ve sebzeleri doğal formlarında tüketmeyi sevmeyen ve/veya tekstürlerinden dolayı tüketemeyen insanlar (yaşlılar, yutkunma zorluğu çekenler) için bir alternatif olacağı düşünülmüştür. Elma ve havuç suyunun jelleşmesi için gereken minimum nişasta konsantrasyonu %5 olarak belirlenmiştir. Parçalanmış jellerin reolojik özellikleri belirlenmiş ve bu parçalanmış jeller 3D yazıcıda işlenmiştir. %97 oranında basılabilirlik ve %98 oranında stabilite değerlerine sahip elma ve havuç suyu bazlı 3D ürünler elde edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre her iki örneğin genel kabul skorları orta değerlerin altında kalmıştır. Ayrıca, ürünlerin fizikokimyasal ve termal özellikleri belirlenmiş, baskı hızı ve doluluk oranının baskı kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** 3D gıda yazıcısı, jel, elma suyu, havuç suyu, reoloji, duyuşal

## PRODUCTION OF APPLE AND CARROT JUICE BASED PRODUCTS USING THREE-DIMENSIONAL (3D) PRINTING TECHNIQUE AND THEIR CHARACTERIZATION

### ABSTRACT

This study aimed to produce apple and carrot juice-based healthy snacks with unique sensory properties of selected fruit and vegetable with a 3D food printer. It was thought that these snacks will be an alternative for those who do not like to consume fruits and vegetables in their natural form and/or for people who cannot consume fruits and vegetables due to their texture (elders, people with swallowing difficulty). Minimum starch concentration required for gelation of apple and carrot juice was determined as 5%. Rheological properties of disintegrated gels were determined and these disintegrated gels were processed in 3D printer. Apple and carrot juice-based 3D products with 97% printability and 98% stability were obtained. According to sensory analysis results, general acceptance scores remained below medium value. Moreover, physicochemical and thermal properties of the products were determined, and effects of printing speed and filling rate on printing quality were examined.

**Keywords:** 3D food printer, gel, apple juice, carrot juice, rheology, sensory

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: eyilmaz@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018/2148

☎: (+90) 286 218 0541

Selçuk Ok; ORCID no: 0000-0002-4257-6097

Emin Yılmaz; ORCID no: 0000-0003-1527-5042

### GİRİŞ

Üç boyutlu (3D) baskı tekniği, malzemelerin katman katman biriktirilmesiyle üç boyutlu bir yapının üretildiği, gelişmekte olan bir teknolojidir. 3D gıda yazıcıları gıda sektöründe kompleks geometride, istenilen tekstürde ve belirli bir amaca uygun besinsel içerikte, istenilen duyuşal özelliklerde (tat, aroma, ağız hissi, dış görünüş vb.), kısacası kişinin kendi tercihlerine göre, gıda yapılarının oluşturulması amacıyla kullanılmaktadır (Godoi vd., 2016). Bu yolla hazırlanan gıdaların çeşitli problemlere çözüm getirebileceği düşünülmektedir. Çocuklar için yüksek besin değerlerine sahip atıştırmalıkların hazırlandığı (Derossi vd., 2018), yutma güçlüğü çeken kişiler için uygun dokuya sahip yiyeceklerin hazırlandığı (Kouzani vd., 2017) ve öğütülmüş un kurdu gibi alternatif gıda kaynaklarının kullanıldığı (Severini vd., 2018) çalışmalar örnek olarak verilebilir.

Ekstrüzyon tekniğini baz alan 3D gıda yazıcıları ile işlenecek gıdaların kayma ile incelen akış davranış özelliği göstermesi ve önemli ölçüde kayma gerilimi ve depo modülü değerlerine sahip olması oldukça önemlidir. Kayma ile incelen akış davranış özelliği baskı işlemini (ekstrüzyon başlığından çıkış) kolaylaştırırken yeterli kayma gerilimi ve depo modülü değeri ile üretimden sonra ürün şeklini daha iyi korumaktadır (Sommer vd., 2017; Liu vd., 2019). Ekstrüzyon bazlı 3D gıda yazıcılarında işlemeye yönelik formülasyonlar geliştirilirken, genel olarak, ürünlerin formülasyonları modifiye edilmiş (Lipton vd., 2010) veya doğal olarak baskı işlemine uygun olmayan ürünler (meyve suları gibi) için çeşitli kıvam artırıcılar kullanılmıştır (Azam vd., 2018). Ayrıca, bir çalışmada, biyobaskı işleminde kullanılmak üzere mikrojel bazlı formülasyonlar geliştirilmiştir. Bahsedilen çalışmada, mikrojellerin kayma ile incelen akış davranışına ve yeterli kayma gerilimine sahip oldukları belirtilmiştir (Song vd., 2020).

Mikrojel üretiminde kullanılan yöntemlerden biri de makrojellerin küçük parçalara ayrıldığı parçalama yöntemidir (Ishii vd., 2018). Belirtilen yöntem, bu çalışmada parçalanmış jellerin üretilmesinde kullanılan yöntemle oldukça

benzerdir. Bu nedenle, parçalanmış jellerin 3D gıda yazıcılarında işlenmeye uygun olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada elma ve havuç suyu kullanılarak parçalanmış jeller üretilmiş ve elde edilen parçalanmış jellerin 3D gıda yazıcısında işlenmesiyle birlikte sağlıklı, meyve ve sebzelerin kendine has duyuşal özelliklerine sahip, katı formda atıştırmalıklar üretilmiştir. Bu atıştırmalıkların, meyve ve sebzeleri doğal formlarında tüketmeyi sevmeyenlerin yanı sıra, sert yapılarından dolayı belirtilen meyve ve sebzeleri tüketemeyen insanlar (yaşlılar ve yutkunma zorluğu çekenler) için de önemli bir alternatif olacağı düşünülmektedir. İlgi çekici bir dış görünüş ve şekilde üretilecek atıştırmalıklar ile elma ve havuç tüketmenin yeni yollarını arayan tüketiciler için alternatif ürünler geliştirilebileceği düşünülmüştür. Çalışmada meyve ve sebze suyu bazlı parçalanmış jellerin reolojik özellikleri ve baskı kalitesi belirlenmiş, bunun yanı sıra üretilen 3D gıda ürünlerinin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri de analiz edilmiştir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyaller

Elma ve havuç suları Konfrut Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş. (Denizli, Türkiye) isimli firmadan temin edilmiştir. Üretimde kullanılan mısır nişastası Alfasol (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan kimyasallar ise Sigma Chem. Co. (St. Louis, ABD) isimli firmadan satın alınmıştır.

#### Elma ve havuç sularından jel eldesi ve minimum jelleşme konsantrasyonunun belirlenmesi

Jel üretiminde %2.5, %5, %7.5 ve %10 oranlarında mısır nişastası kullanılmış ve nişasta için minimum jelleşme konsantrasyonu (C\*) belirlenmiştir. Konsantrasyonlar belirlenirken yapılan ön denemeler ve literatürdeki çalışmalar baz alınmıştır. Jel hazırlanırken Farahnaky vd. (2014) çalışması baz alınmıştır. Bu amaçla, belirtilen oranlarda nişasta ayrı ayrı elma ve havuç sularına eklenmiş, karışım manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılıp ısıtılmıştır. Karışım sıcaklığı 80 °C'ye geldiğinde 10 dakika daha karıştırılmış ve

daha sonra 1 gece 4 °C'de jel oluşumu için bekletilmiştir.

Minimum jelleşme konsantrasyonu her bir örnek için ayrı ayrı belirlenmiş ve belirlenen konsantrasyon kullanılarak parçalanmış jeller üretilmiştir. 3D baskı işlemi 25°C'de gerçekleştirildiğinden, 25°C'deki minimum jelleşme konsantrasyonu belirlenmiştir. Minimum jelleşme konsantrasyonlarının belirlenmesi için yapılan görsel değerlendirmede tüpler ters çevrilerek, akışı olmayan ve katı görünümü olan numuneler jel olarak kabul edilmiştir (Yılmaz vd., 2021).

### Parçalanmış jellerin üretimi

Yapılan ölçümler sonucunda hem elma hem de havuç suyunun jelleştirilmesinde kullanılan nişasta için minimum jelleşme konsantrasyonu %5 olarak belirlenmiş (sonuçlardan "Bulgular ve Tartışma" bölümünde detaylı bir şekilde bahsedilmiştir) ve parçalanmış elma ve havuç suyu jelleri üretilirken öncelikle yukarıda belirtildiği gibi belirtilen konsantrasyonda ayrı ayrı jeller üretilmiştir. Daha sonra, her bir jel distile su (1:1, ağırlık: hacim) ile karıştırılmış ve su içindeki jel parçaları blenderde (Russell Hobbs, RRH Small Electric Appliances Limited Company, İstanbul, Türkiye) 22000 rpm hızla 2 dk parçalanmıştır. Son olarak bu parçalanmış jeller, santrifüj (6800 xg, 20 dakika, 25 °C) (Sigma 2-16K, Postfach, Almanya) yardımıyla sulu fazdan ayrılmış ve ayrı ayrı parçalanmış elma ve havuç suyu jelleri elde edilmiştir. Uygulanan işlemlere ait parametreler yapılan ön denemeler ile belirlenmiştir.

### Jellerin ve parçalanmış jellerin reolojik analizleri

Jellerin ve parçalanmış jellerin reolojik analizlerinde depo modülü ( $G'$ ), kayıp modülü ( $G''$ ) ve kayıp faktörü ( $\tan \delta$ ) değerleri belirlenmiştir. Analizler paralel plakalı (40 mm çap ve 1000  $\mu\text{m}$  boşluk) DHR 2 Reometre (TA Instruments, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan parametreler Yılmaz vd. (2021) çalışması baz alınarak seçilmiştir. İlk olarak, her bir örnek için doğrusal viskoelastik bölgeyi belirlemek amacıyla 25 °C'de ve 1 Hz frekansta genlik taraması (strain

= %0.1–100) yapılmıştır. Daha sonra, 25 °C'de ve doğrusal viskoelastik bölgede her bir örnek için frekans taraması (0.1-100 Hz) yapılmıştır. Her numune için depo modülü ( $G'$ ), kayıp modülü ( $G''$ ) ve kayıp faktörü ( $\tan \delta$ ) değerleri belirlenmiştir.

Ek olarak, Azam vd. (2018) çalışması izlenerek, parçalanmış jeller için, viskozite ve kayma gerilimi ölçümleri de yapılmıştır. Analiz 25 °C'de 1 ile 100 1/s arasında değişen kayma hızlarında gerçekleştirilmiştir.

### 3D baskı işlemi

Parçalanmış elma ve havuç suyu jellerini işlemek için CURA 15.02 yazılımına (Ultimaker B.V., Hollanda) sahip ekstrüzyon bazlı bir 3D yazıcı olan Wüibox Sweetin (Çin) (90mm x 90mm x 70 mm baskı boyutu, 1 adet ekstrüzyon başlığı, 15-70 mm/s baskı hızı) kullanılmıştır. Silindir şeklinde (çap: 30 mm, yükseklik: 30 mm) 3 boyutlu ürünler üretilmiştir. Kullanılan baskı işlemi parametreleri şunlardır; 25 °C baskı sıcaklığı, 40 mm/s baskı hızı, %100 doluluk oranı, %100 akış hızı, 0.84 mm çapında ekstrüzyon çıkış ucu ve 2 mm alt/üst kalınlık. Bu çalışmada kullanılan baskı parametreleri ön denemeler ve daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak seçilmiştir (Derossi vd., 2018, 2020; Ok vd. 2024). Üretim akış şeması ve çalışmada kullanılan 3D gıda yazıcısı, sırasıyla, Şekil 1 ve Şekil 2'de sunulmuştur.

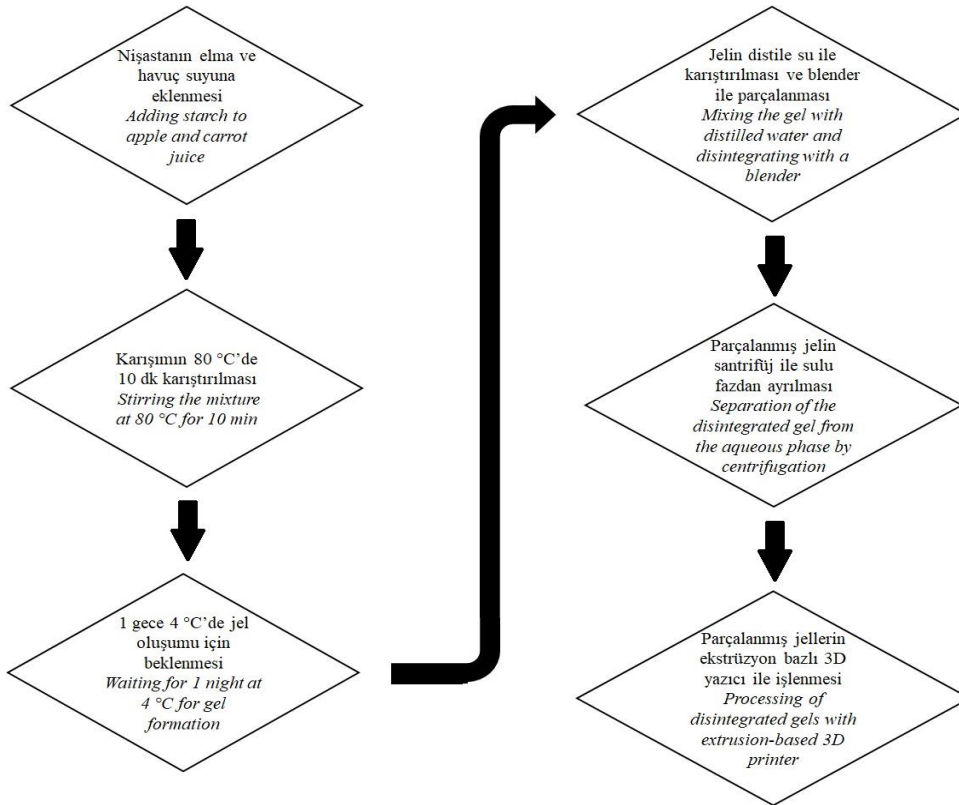
Çalışmada baskı işleminin parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla, yine silindir şeklinde (çap: 30 mm, yükseklik: 30 mm) ürünler üretilmiş ve üretim 25 °C baskı sıcaklığında, %100 akış hızında gerçekleştirilmiştir. 0.84 mm çapında ekstrüzyon çıkış ucu ve alt/üst kalınlık 2 mm olarak seçilmiştir. Düşük (15 mm/s), orta (40 mm/s) ve yüksek (70 mm/s) baskı hızları ve %50, 75 ve 100 doluluk oranları denenmiştir.

### Parçalanmış jellerin 3D yazıcıda işlenmeye uygunluğunun belirlenmesi

Parçalanmış elma ve havuç suyu jellerinin 3D yazıcıda işlenmeye uygunluğu, basılabilirlik (elde edilen ürünlerin hedef geometriye uygunluğu) ve boyutsal stabilite (ürünlerin belirli bir süredeki dayanıklılığı) terimleri ile belirlenmiştir. Bu

analizlerde Azam vd. (2018) çalışmasındaki yöntemler kullanılmıştır. Basılabilirliğin (hedef geometriye uygunluğun) belirlenmesi için, basılan ürünün yüksekliği, baskı işleminden hemen sonra dijital kumpas yardımıyla ölçülmüş ve yazılımla belirlenen yükseklik ile karşılaştırılmıştır. Boyutsal stabilitenin belirlenmesinde 3 boyutlu ürünlerin boyutlarındaki bozulma oranları incelenmiştir. Bu amaçla baskı işleminden hemen sonra ürünün

yüksekliği dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Daha sonra basılan ürün 25 °C'de 1 saat bekletilmiş ve yükseklik tekrar ölçülmüştür. Son olarak yükseklikteki değişim hesaplanmıştır. Her bir üründe yükseklik ölçümü 8 farklı noktadan yapılmıştır. Basılabilirlik ve boyutsal stabilite değerleri sırasıyla (1) ve (2) numaralı eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. Üretim akış şeması  
Figure 1. Production flow chart

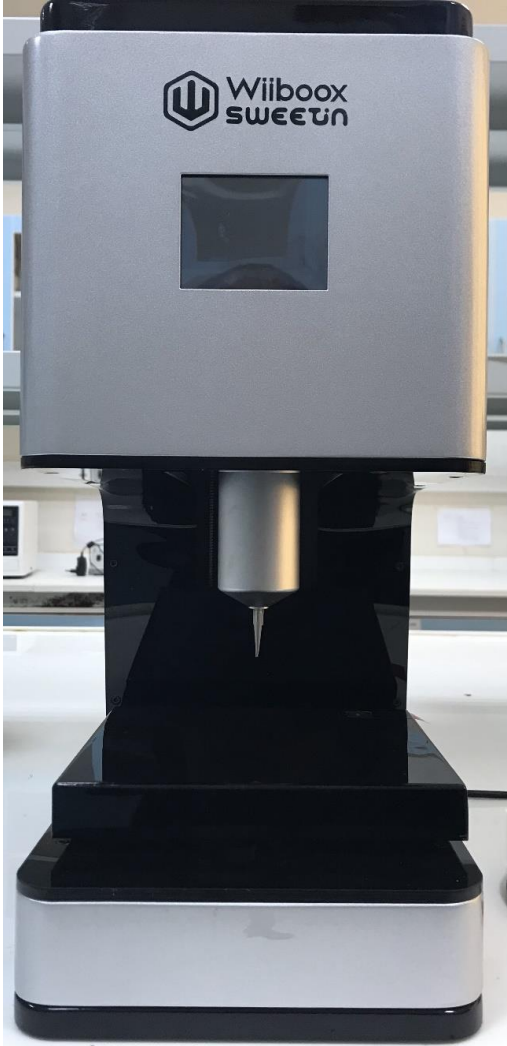
$$\text{Basılabilirlik} = \left[ \frac{\text{Ürünün yüksekliği}}{\text{Ürünün hedeflenen yüksekliği}} \right] \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Boyutsal Stabilite} = \left[ \frac{\text{Ürünün 1 saat sonraki yüksekliği}}{\text{Ürünün baskı işleminden hemen sonraki yüksekliği}} \right] \times 100 \quad (2)$$

Belirtilen ölçümler üretim parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkisi incelenirken de kullanılmıştır.

### Ürünlerin fizikokimyasal ve termal özelliklerinin belirlenmesi

Elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin nem, yağ, protein ve kül içerikleri Bchir vd. (2012) çalışmasındaki yöntemler ile belirlenmiştir. Ürünlerin renk değerleri Minolta CR 400 renk ölçer ile (Minolta Camera Co., Osaka, Japonya) ölçülmüştür. Termal özellikler Pyris 1 yazılımına sahip DSC (Perkin-Elmer DSC 4000, Waltham, MA) kullanılarak ve Yılmaz vd. (2015) çalışması baz alınarak belirlenmiştir.



Şekil 2. Çalışmada kullanılan 3D gıda yazıcısı  
*Figure 2. 3D food printer used in the study*

### Ürünlerin duyu analizi

Duyusal Tanımlama Testi (QDA) ve Tüketici Testi uygulanmıştır (Meilgaard vd., 1991). Duyusal Tanımlama Testi (QDA) için 6 erkek ve 6 kadın olmak üzere 12 panelist seçilmiş olup panelistlerin yaşı 24 ile 52 arasında değişmektedir. Panelistlere farklı gün ve oturumlarda en az 15 saat eğitim verilmiştir. Daha sonra, panel liderinin yönetiminde tanımlayıcı terimler geliştirilmiş ve bu terimler Çizelge 1'de sunulmuştur. Geliştirilen terimler belirlenen referanslar eşliğinde farklı oturumlarda 10'luk skala (1 minimum yoğunluk, 10 maksimum yoğunluk) üzerinden değerlendirilmiştir. Panelistlere numunelerin yanı

sıra su, tuzsuz kraker ve kuru kahve verilmiştir. Tüketici testi yaşları 21 ile 35 arasında değişen gönüllü katılımcılara uygulanmıştır. Değerlendirmede 5'lik hedonik skala (1= hiç beğenmedim, 5= çok beğendim) kullanılmış ve örnekler görünüş, koku/aroma, tat/lezzet, ağız hissi ve genel kabul bakımından değerlendirilmiştir. Tüketicilere numunelerin yanı sıra su, tuzsuz kraker ve kuru kahve verilmiştir.

### İstatistiksel analizler

Elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin üretimi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve tüm analizler her tekerrür için minimum iki kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edilmiştir. Karşılaştırma yapılan bölümlerde, toplanan veriler ANOVA yöntemi ile analiz edilmiş ve deneme grupları Tukey testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler için Minitab Ver. 21.4.2 (Minitab, 2023) paket programı kullanılmıştır. Bu çalışma için güven düzeyi en az %95 olarak belirlenmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Minimum jelleşme konsantrasyonları

3D baskı işlemi 25 °C'de gerçekleştirildiğinden, elma ve havuç suyu bazlı jellerin üretiminde kullanılan nişasta için minimum jelleşme konsantrasyonu (C\*) 25 °C sıcaklıkta belirlenmiştir.

Numunelerin reolojik özellikleri olan depo modülü (G'), kayıp modülü (G'') ve kayıp faktörü ( $\tan \delta$ ) Şekil 3'te sunulmuştur. Katı benzeri davranış, depo modülü (G') ile karakterize edilirken, sıvı benzeri davranış kayıp modülü (G'') değeri ile karakterize edilmektedir. Kayıp faktörü ( $\tan \delta = G''/G'$ ) değeri ise malzemenin baskın davranışını gösteren bir parametredir. Yüksek  $\tan \delta$  değeri daha akışkan benzeri davranış, düşük  $\tan \delta$  değeri ise daha katı benzeri davranış gösterir (Barnes, 2000). Şekil 3'te görüldüğü gibi hem elma hem de havuç suyu jellerinde, nişasta konsantrasyonunun artmasıyla depo modülü değerlerinin önemli ölçüde arttığı görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Ayrıca, nişasta konsantrasyonu arttıkça  $\tan \delta$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Önceki çalışmalarda, jel kuvveti ve nişasta konsantrasyonu arasındaki ilişki, nişasta granülleri tarafından daha fazla su emilimi ile

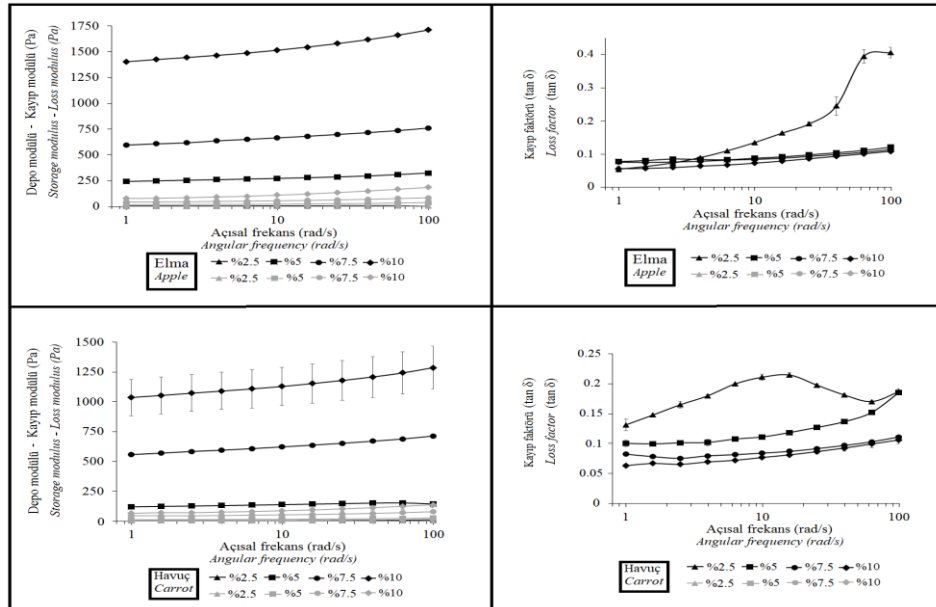


ilişkilendirilmiştir (Göksel vd., 2013). Depo modülü ve kayıp faktörü değerleri dikkate alındığında hem elma hem de havuç suyu bazlı

örneklerde %2.5'lik nişasta konsantrasyonlarında sıvı benzeri davranışın daha baskın olduğu görülmektedir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 1. 3D yazıcı ile elde edilen ürünlere ait duyu terimleri, tanımları ve referansları  
Table 1. Sensory terms, definitions and references for products obtained with 3D printer

Duyusal terim <i>Sensory term</i>	Tanım <i>Definition</i>	Referans <i>Reference</i>
Şekilsel bütünlük <i>Shape integrity</i>	Silindir şeklinin mükemmelliği <i>Perfection of cylinder shape</i>	Silindir şişe <i>Cylinder bottle</i>
Sertlik <i>Hardness</i>	İlk ısırıda dişlerde hissedilen direnç <i>The resistance felt in the teeth at the first bite</i>	Min: Yoğurt Max: Jelibon <i>Min: Yoghurt</i> <i>Max: Jelly bean</i>
Çiğnenabilirlik <i>Chewiness</i>	Ağızda dağılmadan çiğnenebilme durumu <i>Ability to chew without falling apart in the mouth</i>	Min: Yoğurt Max: Sakız <i>Min: Yoghurt</i> <i>Max: Gum</i>
Damağa yapışma <i>Adhesion to the palate,</i>	Ağız boşluğuna sıvanma ve çözünmeden kalma süresi <i>Adhesion to the oral cavity and the time it remains undissolved</i>	Min: Yoğurt Max: Sakız <i>Min: Yoghurt</i> <i>Max: Gum</i>
Tatlılık <i>Sweetness</i>	Şekerden alınan temel tat <i>Basic taste of sugar</i>	%5 sükröz çözeltisi <i>5% sucrose solution</i>
Ekşilik <i>Sourness</i>	Organik asitlerden alınan temel tat <i>Basic taste of organic acids</i>	Limon suyu <i>Lemon juice</i>
Meyve ve sebze lezzeti <i>Flavor of fruit and vegetable</i>	İlgili meyve ve sebzenin lezzeti <i>Flavor of respective fruit and vegetable</i>	Taze elma ve havuç <i>Fresh apple and carrot</i>

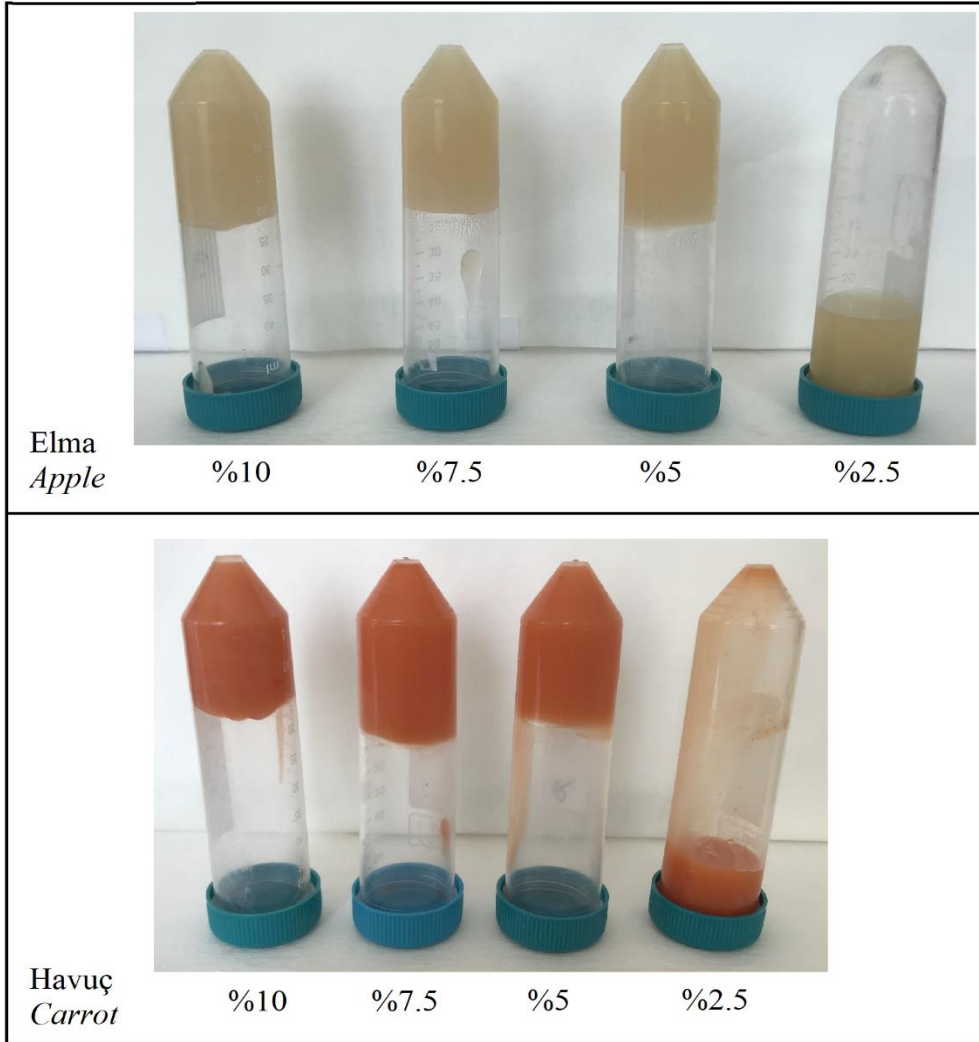


Şekil 3. Elma ve havuç suyu jellerinin reolojik özellikleri (Frekans tarama testi sonuçlarında depo modülü değerleri siyah ile, kayıp modülü değerleri ise gri ile gösterilmiştir) ( $P < 0.05$ )  
Figure 3. Rheological properties of apple and carrot juice gels (Storage modulus values are shown in black and loss modulus values are shown in gray in frequency sweep test results) ( $P < 0.05$ )



Görsel değerlendirme için ters çevrilmiş tüpler Şekil 4'te gösterilmektedir. Hem elma suyu hem de havuç suyu bazlı örneklerde %2.5'lik nişasta konsantrasyonunda aşağı yöne doğru hareket eden, katı olmayan bir yapı gözlenmiştir. Bu anlamda, görsel değerlendirme sonuçlarının reolojik ölçüm sonuçlarını desteklediği görülmektedir. Sonuç olarak elma ve havuç suyu bazlı jellerin üretiminde kullanılan nişasta için minimum jelleşme konsantrasyonu (C\*) %5 olarak belirlenmiş ve parçalanmış jellerin üretiminde bu konsantrasyon değeri kullanılmıştır. Rosalina ve Bhattacharya (2002),

nişasta modifikasyonunun ve konsantrasyonunun sudaki nişasta jellerinin reolojik özellikleri üzerine etkisini incelemiştir. Nişasta konsantrasyonunun reolojik özellikleri önemli ölçüde etkilediği, konsantrasyon arttıkça depo modülü değerinin arttığı görülmüştür. Mısır nişastasası için minimum jelleşme konsantrasyonunu %4 olarak belirlemiştir. Elma ve havuç sularının fizikokimyasal özelliklerinin (pH, bileşim vb.) jel özelliklerini etkileyebileceği düşünülmekle birlikte, çalışmamızdaki sonuçların genel anlamda literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4. Elma ve havuç suyu jelleri

Figure 4. Apple and carrot juice gels

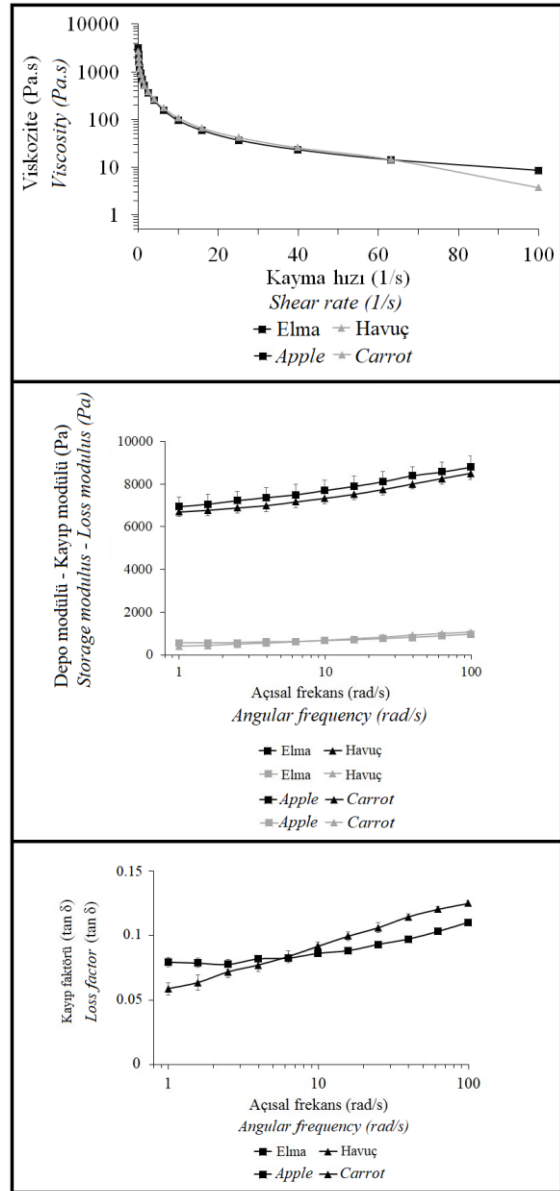
Yukarıda da belirtildiği gibi, minimum jelleşme konsantrasyonu (%5 nişasta) kullanılarak elma ve havuç suyu bazlı parçalanmış jeller üretilmiş ve elde edilen bu parçalanmış jeller 3D yazıcıda işlenmiştir. Elma ve havuç sularının temel özelliklerinin (tat, bileşim vb.) mümkün olduğu kadar korunması istenmiş, bu nedenle jelatörün mümkün olan en düşük konsantrasyonda eklenmesi gerektiği düşünülmüştür.

### Parçalanmış jellerin reolojik özellikleri

3D baskı kalitesini etkileyen ana faktörün reolojik özellikler olduğu bilinmektedir. Kayma ile incelen akış davranışı baskı işlemini kolaylaştırırken, yeterli kayma gerilimi ve depo modülü değerleri ise baskı işlemi sonrasında şeklin daha iyi korunmasını sağlamaktadır (Sommer vd., 2017; Liu vd., 2019). Bu nedenle parçalanmış elma ve havuç suyu jellerinin depo modülü, kayıp modülü ve kayıp faktörü değerleri ile akış davranışları belirlenmiştir.

Parçalanmış elma ve havuç suyu jellerinin (%5'lik nişasta ile hazırlanmış) akış davranış özellikleri belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 5'te gösterilmiştir. Kayma hızının artmasıyla birlikte her iki örnekte de görünür viskozitesinin azaldığı ve sonuç olarak her iki örneğin de kayma ile incelen akış davranışına sahip olduğu görülmüştür. Kayma ile incelen akış davranışı, kayma gerilimi sırasında üretilen hidrodinamik kuvvetler nedeniyle yapısal birimlerin parçalanmasıyla ilişkilendirilmiştir (Azam vd., 2018).

Daha önce bahsedildiği gibi, katı ve sıvı benzeri davranışlar sırasıyla depo modülü ( $G'$ ) ve kayıp modülü ( $G''$ ) ile karakterize edilmektedir. Ayrıca, yüksek kayıp faktörü ( $\tan \delta$ ) değeri daha akışkan davranışı, düşük kayıp faktörü değeri ise daha katı benzeri davranışı göstermektedir (Barnes, 2000). Parçalanmış elma ve havuç suyu jellerinin depo modülü ( $G'$ ), kayıp modülü ( $G''$ ) ve kayıp faktörü ( $\tan \delta$ ) değerleri Şekil 5'te sunulmuştur. Frekans tarama testi sonuçlarında görüldüğü gibi her iki modülün de frekansa bağlı olduğu görülmektedir.



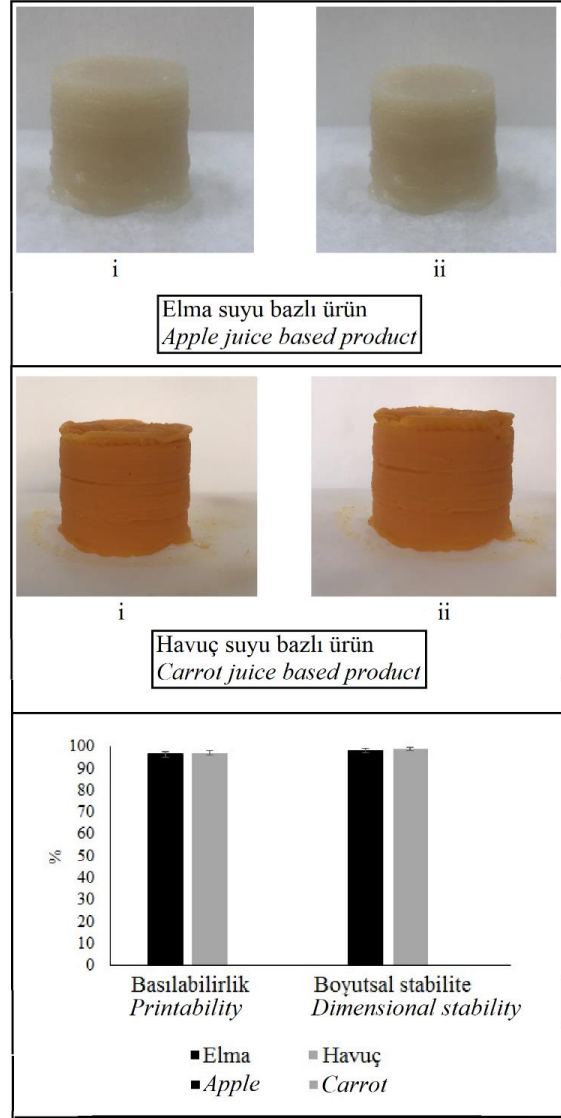
Şekil 5. Parçalanmış elma ve havuç suyu jellerinin akış davranışları (Viskoziteye karşı kayma hızı), depo modülü, kayıp modülü ve kayıp faktörü değerleri (Frekans tarama testi sonuçlarında depo modülü değerleri siyah ile, kayıp modülü değerleri ise gri ile gösterilmiştir)

Figure 5. Flow behaviors (shear rate versus viscosity), storage modulus, loss modulus and loss factor values of disintegrated apple and carrot juice gels (Storage modulus values are shown in black and loss modulus values are shown in gray in frequency sweep test results)

Bir çalışmada (Yang vd., 2018), nişasta kullanılarak limon suyu jelleri hazırlanmış ve nişasta konsantrasyonunun (%10, %12.5, %15, %17.5 ve %20) reolojik özelliklere etkisi belirlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde jellerin kayma ile incelen akış davranış özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Depo modülü ve kayıp faktörü değerlerinin nişasta konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiği görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Depo modülü değeri %10, %12.5 ve %15 konsantrasyon değerleri için sırasıyla yaklaşık 2000, 4000 ve 6000 Pa olarak ölçülmüştür. Çalışmamızda %5'lik nişasta konsantrasyonunda hazırlanan parçalanmış jeller için depo modülü değeri yaklaşık 7000 Pa olarak bulunmuştur. Sonuçların önemli ölçüde farklı olmasında jelleştirilen hammaddelerin farklı olmasının (pH, temel bileşim vs.) önemli bir etken olabileceği düşünülmüştür. Bunun yanı sıra parçalanmış jel yapısından kaynaklı olarak da böyle bir sonucun ortaya çıkmış olabileceği hem jel yapısının boyutunun küçülmesinin hem de parçalanmış jellerin üretimindeki santrifüj işlemi sırasında meyve ve sebze sularının yapısındaki serbest suyun bir kısmının da ortamdan uzaklaşmış olmasının reolojik özellikleri geliştirmiş olabileceği düşünülmüştür.

### Parçalanmış jellerin 3D yazıcı ile baskı kalitesi

Elde edilen parçalanmış jellerin 3D yazıcıda işlenebilirliğinin en önemli iki ölçütü basılabilirlik (hedef geometriye uygunluk) ve boyutsal stabildir. Basılabilirlik belirlenen modele uyumu gösteren bir parametre iken boyutsal stabilite ürünün baskı sonrası şeklini koruyup koruyamadığının bir ölçüsüdür. Daha önce de belirtildiği gibi, ekstrüzyon bazlı 3D yazıcılar için uygun reolojik özelliklere sahip olan formülasyonların işlenmesiyle elde edilen ürünler belirlenen modelle önemli ölçüde eşleşirken boyutsal stabiliteleri de oldukça yüksektir. 3D yazıcı ile elde edilen ürünler ve örneklerin basılabilirlik ve boyutsal stabilite değerleri Şekil 6'da gösterilmektedir.



Şekil 6. 3D yazıcı ile üretilen elma ve havuç suyu bazlı ürünler (i: Baskıdan hemen sonra; ii: baskıdan 1 saat sonra) ve ürünlerin basılabilirlik ve boyutsal stabilite değerleri

Figure 6. Apple and carrot juice-based products produced with 3D printer (i: immediately after printing; ii: 1 hour after printing) and printability and dimensional stability values of the products

Yukarıda bahsedildiği gibi her iki örnek de kayma ile incelen akış davranışına sahiptir ve bu sayede her iki örnek için de baskı işlemi sırasında kesintisiz bir ekstrüzyon sağlanmış ve baskı işlemi kolaylıkla gerçekleştirilmiştir. Elma suyu bazlı örnekte %96 oranında hedef geometriye uyumlu

ürünler elde edilirken, havuç suyu bazlı üründe bu oran %97 olarak belirlenmiştir. Formülasyonların nispeten düşük kayıp faktörü değerlerine sahip olduğu görülmüş ve bunun sonucunda da daha katı benzeri bir davranış gösterdikleri düşünülmüştür. Sonuç olarak, daha katı benzeri davranışa sahip olan bu formülasyonlar için depo modülü değerlerinin baskı işlemi sırasındaki deformasyonu önleyecek düzeyde olduğu ve numunelerin hedef geometriyle yüksek oranda uyumlu olduğu görülmüştür. Boyutsal stabilite değerleri incelendiğinde hem elma suyu hem de havuç suyu bazlı örnekte 1 saatin sonunda yapının yaklaşık %98 oranında korunduğu görülmüştür. Depo modülü değerinin boyutsal stabilite üzerinde büyük etkisi olduğu bilinmektedir. Her iki örnekte de depo modülü değerlerinin zamanla oluşan deformasyona karşı direnç göstermede yeterli olduğu ve bunun sonucunda da bu örneklerin yüksek boyutsal stabilite gösterdiği düşünülmüştür.

Bir çalışmada (Yang vd., 2018), nişasta kullanılarak limon suyu jelleri elde edilmiş ve bu jeller 3D yazıcıda işlenmiştir. Yüksek nişasta konsantrasyonunda daha katı benzeri bir davranış ve zayıf akışkanlık görülmüş ve bunun sonucunda ekstrüzyon doğru bir şekilde gerçekleştirilememiştir ( $P < 0.05$ ). Düşük nişasta konsantrasyonlarında ise düşük viskozite ve daha sıvı benzeri davranış sebebiyle daha akışkan bir hammadde elde edilmiş ve bunun sonucunda da ürün şeklini koruyamamıştır ( $P < 0.05$ ). En uygun nişasta konsantrasyonunun %15 olduğu görülmüş, bu konsantrasyonda hedef geometri ile daha uyumlu ve deformasyonun az olduğu ürünler elde edilmiştir. Bu konsantrasyon değerindeki formülasyonun 0.63 rad/s'deki depo modülü değeri 4924 Pa ve kayıp faktörü değeri 0.15 olarak ölçülmüştür. Bizim çalışmamızda, minimum jelleşme konsantrasyonu olan %5'lik konsantrasyonda bile yüksek basılabilirliğe ve stabiliteye sahip ürünler elde edilmiştir. Parçalanmış jellerin kullanılmasıyla uygun reolojik özelliklerin çok daha düşük konsantrasyonlarda bile elde edildiği ve böyle bir sonuca ulaşıldığı düşünülmüştür. Daha önceki bir çalışmamızda (Ok vd., 2024), nişasta kullanılarak parçalanmış kefir jelleri elde edilmiş ve 3D yazıcıda işlenmiştir.

Minimum jelleşme konsantrasyonu olan %5'lik nişasta konsantrasyonunda bile hedef geometriyle yaklaşık %98 oranında uyumlu ve %99 oranında boyutsal stabiliteye sahip ürün elde edilmiştir. Sonuç olarak jel parçalama ve fazla serbest suyun santrifüj ile uzaklaştırılmasının baskı işleminde avantaj sağladığı görülmektedir.

### 3D yazıcı ile elde edilen ürünlerin fizikokimyasal ve termal özellikleri

3D yazıcı ile elde edilen elma ve havuç suyu temelli ürünlerin renk değerleri ve temel bileşimleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. Ürünlerin yüksek nem içeriklerine (%84-%79) sahip olduğu görülmektedir. Ürünlerin eldesinde kullanılan hammadde meyve ve sebze sularından elde edilmiş parçalanmış jel yapı olduğu için yüksek nem içeriği beklenen bir sonuçtur. Kuru madde bazında bakıldığında her iki üründe de oldukça düşük miktarlarda protein (%0.18-%1.20), yağ (%0.19-%1.75) ve kül (%0.39-%0.82) içeriği saptanmış ve kuru maddede geriye kalan kısmın yüksek oranda karbonhidrat olduğu düşünülmüştür. Bilindiği üzere,  $a^*$  değeri kırmızı-yeşil ( $+a^*$  kırmızı,  $-a^*$  yeşil) ve  $b^*$  değeri ise sarı-mavi ( $+b^*$  sarı,  $-b^*$  mavi) değerini göstermektedir. Şekil 6 incelendiğinde sunulan ürün görselleri ile renk ölçüm sonuçlarının uyumlu olduğu görülmektedir.

Her iki üründe de termal analiz sırasında uygulanan ısıtma işleminde iki, soğutma işleminde bir pik görülmüş ve görülen piklere ait bilgiler Çizelge 3'te verilmiştir. Görülen piklerin parçalanmış jel yapının içerdiği suya ait erime/donma ve buharlaşma pikleri olduğu düşünülmüştür. Termal analiz sonuçlarına göre, elde edilen ürünlerin sıcaklık etkisiyle yapısal olarak bozulmadığı görülmektedir.

### 3D yazıcı ile elde edilen ürünlerin duyuşsal özellikleri

Ürünlere uygulanan duyuşsal tanımlama testi ile ürünlerin temel duyuşsal özellikleri tanımlanmış, uygulanan tüketici testi ile de ürünlerin tüketici beğenisi tespit edilmiştir. Duyuşsal tanımlama testi ve tüketici testi sonuçları Şekil 7'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 3D yazıcı ile elde edilen ürünlerin fizikokimyasal özellikleri  
 Table 2. Physicochemical properties of the products obtained with 3D printer

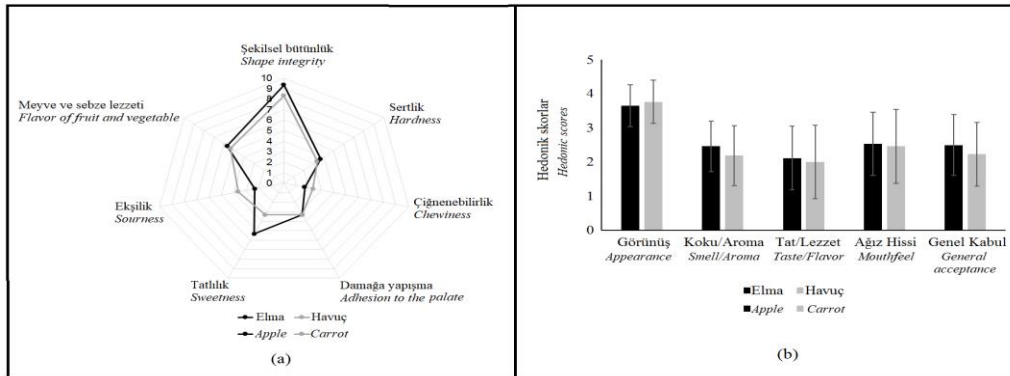
	Elma suyu bazlı ürün <i>Apple juice based product</i>	Havuç suyu bazlı ürün <i>Carrot juice based product</i>
Aletsel renk değerleri <i>Color values</i>		
L	55.53±2.21	53.95±0.03
a*	0.36±0.02	9.85±0.02
b*	10.84±0.11	31.24±0.25
Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	84.31±2.63	79.95±1.98
Ham protein (%) (kuru maddede) <i>Crude protein (%) (dry basis)</i>	0.18±0.05	1.20±0.19
Kül (%) (kuru maddede) <i>Asb (%) (dry basis)</i>	0.39±0.11	0.82±0.27
Ham yağ (%) (kuru maddede) <i>Crude oil (%) (dry basis)</i>	0.19±0.03	1.75±0.36

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir  
 Results are shown as mean±standard error

Çizelge 3. 3D yazıcı ile elde edilen ürünlerin termal özellikleri  
 Table 3. Thermal properties of the products obtained with 3D printer

	Elma suyu bazlı ürün <i>Apple juice based product</i>	Havuç suyu bazlı ürün <i>Carrot juice based product</i>
Isıtma <i>Heating</i>		
Onset <sub>1</sub> (°C)	-3.61±1.55	-5.36±1.52
Peak <sub>1</sub> (°C)	2.96±1.38	1.63±0.92
ΔH <sub>1</sub> (J/g)	219.89±8.71	178.82±5.17
Onset <sub>2</sub> (°C)	36.69±1.25	41.62±1.85
Peak <sub>2</sub> (°C)	76.64±1.97	87.49±1.93
ΔH <sub>2</sub> (J/g)	1612.26±20.18	1397.93±19.49
Soğutma <i>Cooling</i>		
Onset <sub>1</sub> (°C)	-19.31±1.49	-14.44±1.26
Peak <sub>1</sub> (°C)	-16.97±1.13	-13.30±1.63
ΔH <sub>1</sub> (J/g)	-223.82±7.04	-186.72±10.27

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak gösterilmiştir  
 Results are shown as mean±standard error



Şekil 7. a) 3D yazıcı ile üretilen elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin duyu tanımlayıcı özellikleri ve (b) tüketici hedonik puanları

Figure 7. a) Sensory descriptive characteristics and (b) consumer hedonic scores of 3D printed apple and carrot juice-based products

Duyusal tanımlama testi sonuçlarına bakıldığında, her iki ürün grubunda da şekilsel bütünlük değeri oldukça yüksek çıkmış olup, basılabilirlik/boyutsal stabilite sonuçlarını destekler niteliktedir. Sertlik, çiğnenebilirlik ve damağa yapışma sonuçlarına bakıldığında, ürünlerin yumuşak ve ağızda dağılan bir yapıda olduğu sonucuna varılabilmektedir. Bu anlamda ürünlerin yaşlılar ve yutma güçlüğü çeken kişiler için oldukça uygun olduğu söylenebilir. Her iki üründe de meyve ve sebzenin kendine has lezzeti orta seviyede algılanabilmektedir. Havuç suyu bazlı üründe tatlılık değeri nispeten düşük çıkmıştır.

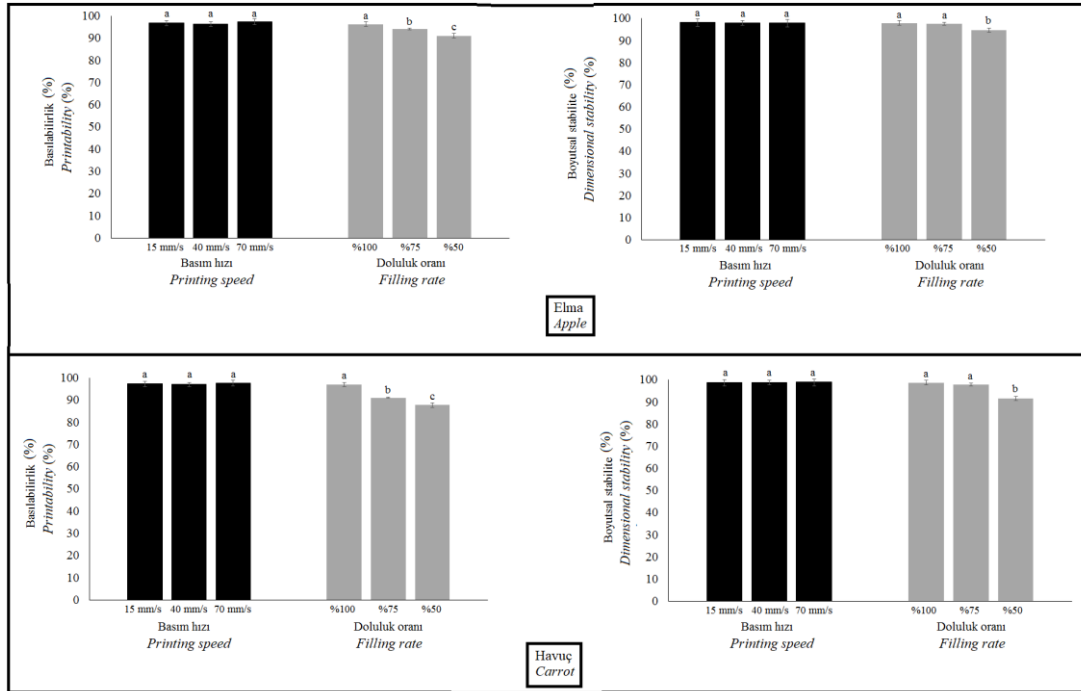
Tüketici testi sonuçları incelendiğinde, her iki üründe de görünüş özelliklerinin 5-puanlık hedonik skalanın orta değeri olan 3 puanın (nötr nokta) üzerinde olduğu görülmektedir. Tüketiciler görünüşü şekilsel bütünlük ve hedef geometriye uygunluk açısından değerlendirmişlerdir. Her iki üründe de bu özelliğe ait skorun orta değer üzerinde olması, geliştirilen formülasyonların cihazda işlenmeye uygun olduğunu göstermektedir. Koku/aroma ve tat/lezzet bakımından her iki ürün de ortalamanın altında skorlar almış bu sebeple de genel kabul skorları orta değer üzerinde kalmıştır. Jel oluşumu için kullanılan nişastanın meyve ve sebzelerin kendi lezzet ve aromalarını kısmen de olsa maskeleyiği düşünülmüştür. Her iki üründe de kullanılan meyve veya sebzenin lezzetinin daha belirgin hale getirilmesinin genel beğeniye artıracığı düşünülmektedir. Bu amaçla harici doğal aroma kullanımı mümkün olabilir.

#### **Baskı işleminin parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkisi**

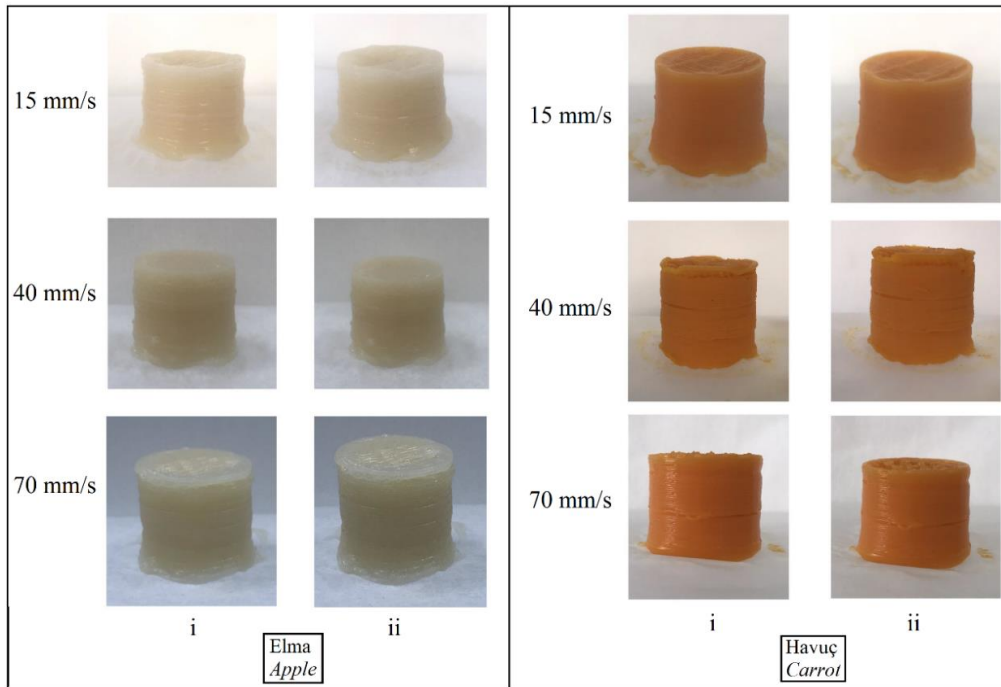
Baskı parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkisi Şekil 8'de verilmiştir. Hem elma hem de havuç suyu bazlı ürünler incelendiğinde, baskı hızlarının baskı kalitesi üzerinde bir etkisinin olmadığı, düşük, orta ve yüksek baskı hızları arasında basılabilirlik ve boyutsal stabilite bakımından önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir. Şekil 9'da farklı baskı hızları ile elde edilen ürünlere ait görseller sunulmuştur. Görsellerde de görüleceği üzere, her iki üründe de baskı hızına bağlı olarak yapıda çökme vb. deformasyonlar görülmemiş,

baskı işleminden 1 saat sonra elde edilen görsellerde de yapının korunduğu görülmüştür. Şekil 8'de görüleceği üzere, her iki üründe de ürünlerin iç doluluk oranlarının basılabilirliği önemli ölçüde etkilediği, doluluk oranı azaldıkça üründe deformasyonlar olduğu ve hedef geometriye uyumun önemli ölçüde azaldığı görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Cihazda üretim katmanlar halinde gerçekleşmekte ve her bir katman altındaki katmanlara baskı uygulamaktadır. Doluluk oranı azaldıkça katmanlar üzerindeki baskıya dayanamamış, yapı çökmeye başlamış ve hedef geometriye daha az uyumlu olan ürünler elde edilmiştir. Elma suyu bazlı üründe doluluk oranının azalmasıyla basılabilirlik değeri %90 civarlarına kadar gerilemiştir. Havuç suyu bazlı üründe de benzer şekilde doluluk oranı azaldıkça hedef geometri ile uyum azalmış, %50 doluluk oranında bu değer yaklaşık %87 olarak hesaplanmıştır. Örneklerin boyutsal stabilitesi de önemli ölçüde azalmış, %50 doluluk oranında elma suyu bazlı örnekte bu değer %94 olarak hesaplanırken, havuç suyu bazlı üründe %91 olarak bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Şekil 10'da farklı doluluk oranlarına sahip ürünlere ait görseller yer almakta, görsellerin yapılan ölçümleri destekler nitelikte olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, üretim hızının şekilsel bütünlüğü etkilemediği ancak doluluk oranı azaldıkça deformasyonların arttığı görülmüştür.

Derossi vd. (2020) buğday unu ile hazırladıkları bir hamuru 3D yazıcı ile işlemişler ve farklı baskı hızlarının (30 mm/s, 115 mm/s, 200 mm/s) baskı kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. 100 mm/s'den yüksek baskı hızlarında, basılan nesnelerin kalitesinin oldukça düşük olduğu ve istenen yapının elde edilemediği görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Bu çalışmada kullanılan 3D yazıcının maksimum baskı hızı 70 mm/s'dir. Bu baskı hızı değeri belirtilen çalışmada kalite düşüşünün başladığı değerden (100 mm/s) daha düşük olduğundan baskı hızının baskı kalitesi üzerindeki etkisinin tam olarak belirlenememiş olabileceği düşünülmüştür.



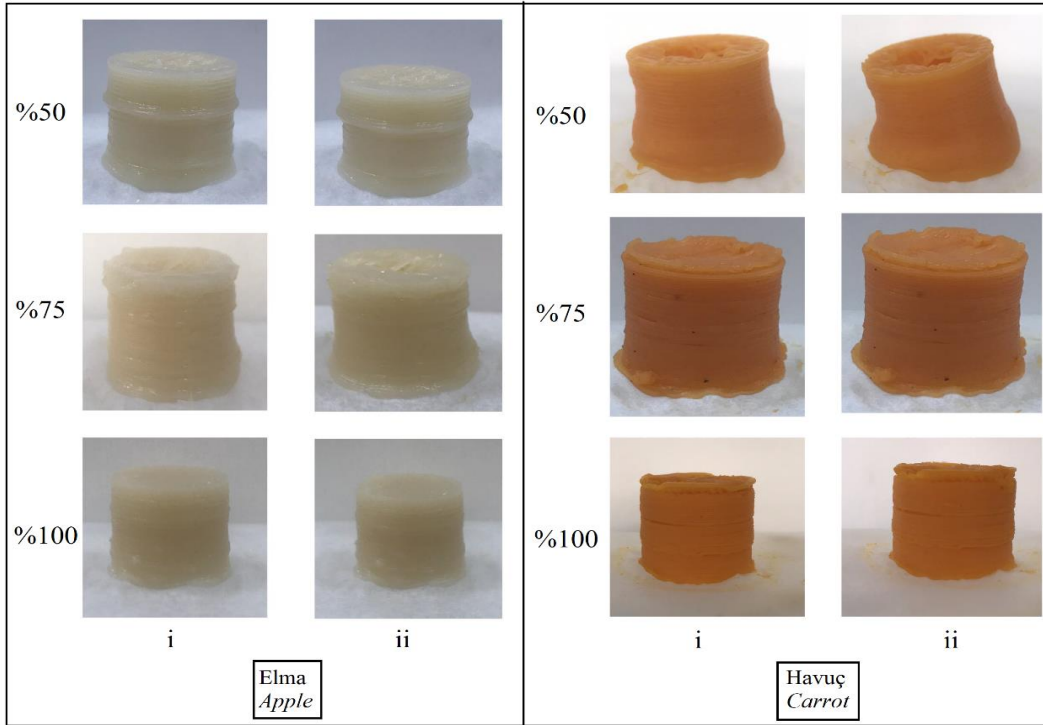
Şekil 8. Baskı parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkisi ( $P < 0.05$ )  
 Figure 8. Effect of printing parameters on printing quality ( $P < 0.05$ )



Şekil 9. Farklı baskı hızları ile üretilen elma ve havuç suyu bazlı ürünler (i: Baskıdan hemen sonra; ii: baskıdan 1 saat sonra)

Figure 9. Apple and carrot juice based products produced with different printing speeds (i: immediately after printing; ii: 1 hour after printing)





Şekil 10. Farklı doluluk oranları ile üretilen elma ve havuç suyu bazlı ürünler (i: Baskıdan hemen sonra; ii: baskıdan 1 saat sonra)

Figure 10. Apple and carrot juice based products produced with different filling rates (i: immediately after printing; ii: 1 hour after printing)

## SONUÇ

Bu çalışmada, 3D gıda yazıcısı ile parçalanmış jeller kullanılarak elma ve havuç suyu bazlı sağlıklı atıştırma ürünleri üretilmiştir. Hem elma hem de havuç suyu jellerinde nişasta için %5 konsantrasyon değeri minimum jelleşme konsantrasyonu (C\*) olarak belirlenmiş ve belirlenen bu konsantrasyon üzerinden parçalanmış jeller üretilmiştir. Elde edilen bu parçalanmış jeller 3D yazıcıda işlenmiştir. 3D yazıcıda elde edilen elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin basılabilirlik değerleri, sırasıyla, %96 ve %97 olarak hesaplanmıştır. Her iki örneğin de yaklaşık %98 oranında boyutsal stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre, her iki örnekte de meyve ve sebzenin kendine has lezzetinin orta seviyede algılandığı görülmüş, tat/lezzet ve koku/aroma bakımından her iki ürün de ortalamanın altında skorlar almıştır. Bunun sonucunda, genel kabul skorları orta değerinin altında kalmıştır. Her iki üründe de meyve veya sebzenin lezzetinin daha

belirgin hale getirilmesinin genel beğeniyi artıracakları düşünülmektedir. Ayrıca, 3D yazıcının üretim parametrelerinin baskı kalitesi üzerine etkileri de incelenmiş ve baskı hızının baskı kalitesi üzerine bir etkisinin olmadığı ancak, doluluk oranının baskı kalitesini önemli ölçüde etkilediği görülmüştür. Sonuç olarak, 3D tekniği kullanılarak meyve ve sebze sularından oda sıcaklığında katı ama yumuşak konsistensde, kolay çiğnenebilir özellikle, farklı şekil ve görsellerde, tüketici isteklerine göre ayarlanabilir yeni gıda ürünlerinin başarıyla hazırlanabileceği ortaya konulmuştur. Farklı jelleşme ajanları ve jelleştirme teknikleri ve diğer katkı maddeleri kullanılarak, kolay tüketilebilir, besin değeri artırılmış, görsel değeri yüksek müşteri odaklı yeni 3D ürünlerin hazırlanmasına yönelik yeni araştırma çalışmalarına ihtiyaç belirlenmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, bu makale ile ilgili çıkar çatışması olmadığını beyan eder.



## YAZARLARIN KATKISI

Yazarlar çalışma boyunca eşit düzeyde katkı sağlamıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FBA-2022-3971) tarafından desteklenmiştir. Sağlanan destek için yazarlar teşekkürlerini bildirmiştir.

## KAYNAKÇA

Azam, R.S.M., Zhang, M., Bhandari, B., Yang, C. (2018). Effect of different gums on features of 3D printed object based on vitamin-D enriched orange concentrate. *Food Biophysics*, 13: 250-262, doi: 10.1007/s11483-018-9531-x.

Barnes, H.A. (2000). *A handbook of elementary rheology*. University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics., UK, 200 p.

Bchir, B., Besbes, S., Karoui, R., Paquot, M., Attia, H., Blecker, C. (2012). Osmotic dehydration kinetics of pomegranate seeds using date juice as an immersion solution base. *Food and Bioprocess Technology*, 5: 999-1009, doi: 10.1007/s11947-010-0442-1.

Derossi, A., Caporizzi, R., Azzollini, D., Severini, C. (2018). Application of 3D printing for customized food. A case on the development of a fruit-based snack for children. *Journal of Food Engineering*, 220: 65-75, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.05.015.

Derossi, A., Paolilo, M., Caporizzi, R., Severini, C. (2020). Extending the 3D food printing tests at high speed. Material deposition and effect of non-printing movements on the final quality of printed structures. *Journal of Food Engineering*, 275: Article 109865, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109865.

Farahnaky, A., Alishahi, A., Majzoobi, M., Al-Hakkak, J. (2014). Effect of mixing speed and time on some textural and physicochemical properties of wheat starch gels. *Journal of Food Engineering*, 142: 138-145, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.06.009.

Godoi, F.C., Prakash, S., Bhandari, B.R. (2016). 3D printing technologies applied for food design:

Status and prospects. *Journal of Food Engineering*, 179: 44-54, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.01.025.

Goksel, M., Dogan, M., Toker, O.S., Ozgen, S., Sarioglu, K., Oral, R.A. (2013). The effect of starch concentration and temperature on grape molasses: rheological and textural properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 259-271, doi: 10.1007/s11947-011-0705-5.

Ishii, T., Matsumiya, K., Aoshima, M., Matsumura, Y. (2018). Microgelation imparts emulsifying ability to surface-inactive polysaccharides-bottom-up vs top-down approaches. *npj Science of Food*, 2: Article 15, doi:10.1038/s41538-018-0023-7.

Kouzani, A.Z., Adams, S., Whyte, D.J., Oliver, R., Hemsley, B., Palmer, S., Balandin, S. (2017). 3D printing of food for people with swallowing difficulties. DesTech Conference Proceedings, The International Conference on Design and Technology, February 2017, Australia. doi: 10.18502/keg.v2i2.591.

Lipton, J., Arnold, D., Nigl, F., Lopez, N., Cohen, D., Noren, N., Lipson, H. (2010). Multimaterial food printing with complex internal structure suitable for conventional post-processing. 21st Annual International Solid Freeform Fabrication Symposium - an Additive Manufacturing Conference, January 2010, USA.

Liu, L., Meng, Y., Bhandari, B., Dai, X., Chen, K., Zhu, Y., Prakash, S. (2019). 3D printing complex egg white protein objects: Properties and optimization. *Food and Bioprocess Technology*, 12: 267-279, doi: 10.1007/s11947-018-2209-z.

Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T. (1991). *Sensory evaluation techniques*. CRC Press, USA, 416 p.

Minitab (2023). Minitab Statistical Software. Minitab, Inc., USA.

Ok, S., Yılmaz, E., Demirel Zorba, N.N. (2024). Preparation and characterization of 3D printed objects based on different kefir gels. *Food Biophysics*, doi: 10.1007/s11483-024-09839-5.

Rosalina, I., Bhattacharya, M. (2002). Dynamic rheological measurements and analysis of starch

- gels. *Carbohydrate Polymers*, 48: 191-202, doi: 10.1016/S0144-8617(01)00235-1.
- Severini, C., Azzollini, D., Albenzio, M., Derossi, A. (2018). On printability, quality and nutritional properties of 3D printed cereal based snacks enriched with edible insects. *Food Research International*, 106: 666-676, doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.034.
- Sommer, M.R., Alison, L., Minas, C., Tervoort, E., Rühls, P.A., Studart, A.R. (2017). 3D printing of concentrated emulsions into multiphase biocompatible soft materials. *Soft Matter*, 13: 1794-1803, doi: 10.1039/C6SM02682F.
- Song, K., Compaan, A.M., Chai, W., Huang, Y. (2020). Injectable gelatin microgel-based composite ink for 3D bioprinting in air. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12: 22453-22466, doi: 10.1021/acsaami.0c01497.
- Yang, F., Zhang, M., Bhandari, B., Liu, Y. (2018). Investigation on lemon juice gel as food material for 3D printing and optimization of printing parameters. *LWT – Food Science and Technology*, 87: 67-76, doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.054.
- Yılmaz, E., Arsunar, E.S., Aydeniz, B., Güneşer, O. (2015). Cold pressed capia pepperseed (*capsicum annum* l.) oils: composition, aroma and sensory properties. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117: 1016–1026, doi: 10.1002/ejlt.201400276.
- Yılmaz, E., Keskin Uslu, E., Öz, C. (2021). Oleogels of some plant waxes: characterization and comparison with sunflower wax oleogel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98: 643-655, doi: 10.1002/aocs.12490.

**SIĞIR KARKASLARINDAN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARININ BİYOFİLM OLUŞTURMA ÖZELLİKLERİ İLE QUORUM SENSİNG VE MAJOR KARBAPENEMAZ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tolga UYANIK<sup>1\*</sup>, Ayşegül BÖLÜKBAŞ<sup>1</sup>, Ali GÜCÜKOĞLU<sup>1</sup>,  
Özgür ÇADIRCI<sup>1</sup>, Merve Gizem SEZENER KABAY<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,  
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

Geliş/Received: 08.04.2024; Kabul /Accepted: 23.07.2024; Online baskı /Published online: 27.07.2024

Uyanık, T., Bölükbaş, A., Gücükoğlu, A., Çadircı, Ö., Sezener Kabay, M. G. (2024). Sığır karkaslarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşturma özellikleri ile quorum sensing ve major karbapenemaz genlerinin araştırılması. GIDA (2024) 49 (4) 730-740 doi: 10.15237/gida.GD24043

Uyanık, T., Bölükbaş, A., Gücükoğlu, A., Çadircı, Ö., Sezener Kabay, M. G. (2024). Assessment of biofilm formation, quorum sensing and major carbapenemase genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cattle carcasses. GIDA (2024) 49 (4) 730-740 doi: 10.15237/gida.GD24043

## ÖZ

Bu çalışma mezbahalardaki sığır karkaslarından izole edilen ve fenotipik olarak karbapenem direnci gösteren *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitelerini kalitatif ve kantitatif yöntemlerle araştırmak, karbapenem direncinden sorumlu major karbapenemaz ve ayrıca quorum sensing (*lasI*, *lasR*, *rhII* ve *rhIR*) genlerinin varlığı belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada her biri farklı bir sığır karkas yüzeyinden izole edilen ve moleküler yöntemlerle doğrulanmış 13 *P. aeruginosa* suşu materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada tüm *P. aeruginosa* suşlarının test edilen karbapenemlerden en az birine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Karbapenemaz genleri (*bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ve *bla<sub>IMP</sub>*) hiçbir izolatta tespit edilememiştir. Karbapenem direnci gösteren tüm izolatların kantitatif olarak güçlü biyofilm üreticisi olduğu saptanmıştır. PCR analizleri doğrultusunda analiz edilen 13 izolattan 12'sinin (%92.3) *lasI*, *lasR*, *rhII* ve *rhIR* genlerinin tümünü içerdiği tespit edilmiştir. Bir izolatanın (%7.69) sadece *lasR* ve *rhIR* genlerini içerdiği belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile hayvansal orijinli *P. aeruginosa* suşlarında karbapenem direncinin ve biyofilm üretiminin birbirleriyle ilişki içerisinde olduğu belirlenmiştir. Halk sağlığının korunması açısından çiğ etlerden kaynaklanabilecek kontaminasyona karşı dikkatli olunması tavsiye edilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*, quorum sensing, biyofilm, karbapenem, karkas, mezbaha

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: tolga.uyanik@omu.edu.tr

☎: (+90) 362 312 1919-3541

☎: (+90) 362 457 6622

Tolga Uyanık; ORCID no: 0000-0002-3181-3878

Ayşegül Bölükbaş; ORCID no: 0000-0002-5516-3689

Ali Gücükoğlu; ORCID no: 0000-0002-8465-7768

Özgür Çadircı; ORCID no: 0000-0003-2018-2545

Merve Gizem Sezener Kabay; ORCID no: 0000-0003-0487-7515

## ASSESSMENT OF BIOFILM FORMATION, QUORUM SENSING AND MAJOR CARBAPENEMASE GENES OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS ISOLATED FROM CATTLE CARCASSES

### ABSTRACT

This study was carried out to investigate the biofilm formation capacity of carbapenem resistant *P. aeruginosa* strains isolated from cattle carcasses by using qualitative and quantitative methods, and also to determine the presence of major carbapenemase and quorum sensing genes. In the study, 13 *P. aeruginosa* strains, each isolated from a different cattle carcass surface and confirmed by molecular methods, were used as materials. Determination of carbapenem resistance was carried out by disk diffusion method. The presence of *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, and *bla*<sub>IMP</sub> genes was investigated by PCR. Biofilm production was determined by qualitative and quantitative methods. In order to detect quorum sensing systems, the presence of *lasI*, *lasR*, *rbII*, and *rbIR* genes was investigated by PCR. In the study, all *P. aeruginosa* strains were found to be resistant to at least one of the carbapenems tested. Carbapenemase genes could not be detected in any isolate. All isolates showing carbapenem resistance were found to be quantitatively strong biofilm producers. According to PCR analyses, 12 of the 13 isolates analyzed (92.3%) were found to contain all *lasI*, *lasR*, *rbII* and *rbIR* genes. It was determined that one isolate (7.69%) contained only *lasR* and *rbIR* genes. With this study, it was determined that carbapenem resistance and biofilm production in *P. aeruginosa* strains of animal origin are related.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, quorum sensing, biofilm, carbapenem, carcass, slaughterhouse

### GİRİŞ

İnsanoğlunun varoluşundan bu yana beslenmede kritik öneme sahip olan kırmızı et, yüksek kaliteli protein kaynağı olmasının yanında içerdiği esansiyel aminoasit, yağ asitleri, vitamin ve mineraller dolayısıyla beslenmede önemli rol oynamaktadır (Wyness, 2016). Dünya çapında kırmızı ete karşı artan talep ile beraber, Amerika Birleşik Devletleri'nde 2023 yılında kişi başı kırmızı et tüketimi 25,5 kg olarak bildirilmiştir (USDA, 2023). Ülkemiz verilerine göre 2022 yılında kişi başı kırmızı et tüketimi 18,44 kg iken, 2023 yılı için bu miktarın 19,64 kg olacağı öngörülmektedir (TEPGE, 2023). Kırmızı etin dengeli diyetin bir parçası olarak yeterli miktarlarda tüketilmesi esansiyel besin maddelerinin vücuda alınmasına katkı sağlamaktadır (McAfee vd., 2010). Beslenme açısından üstün özelliklerinin yanı sıra kırmızı et, aynı zamanda gerek patojen gerekse bozulmaya neden mikroorganizmaların gelişimi için oldukça elverişli bir ortam olarak ön plana çıkmaktadır.

Sığır karkasları mikrobiyotasında bulunan başlıca bakteri familyaları *Pseudomonaceae*, *Burkholderiaceae*, *Moraxellaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* ve *Listeriaceae* olarak bildirilmektedir (Botta vd., 2023). Bununla beraber karkasta

bozulmaya sebep olan başlıca bakterilerin ise *Enterobacteriaceae* familyası, laktik asit bakterileri, *Brochothrix thermosphacta* ve *Pseudomonas* spp. olduğu ortaya konmuştur. Bu bakteriler arasında özellikle *Pseudomonas*'lar oksijene olan affiniteleri, hızlı çoğalabilmeleri ve düşük sıcaklıklarda üreyebilmelerinden dolayı aerobik koşullarda depolanan etlerin bozulmasından sorumlu tutulmaktadır (McSharry vd., 2021). *Pseudomonas* cinsi içerisindeki bakteriler, gıdalarda bozulmaya sebep olmalarının yanında nozokomiyal pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları, cerrahi alan enfeksiyonları ve kistik fibrozis gibi vakalarda fırsatçı patojenler olarak görülmektedir (Reynolds ve Kollef, 2021). *Pseudomonas aeruginosa*, bu cins içerisinde yer alan çeşitli virülans faktörlere sahip, biyofilm oluşturabilen ve çoklu antibiyotik direnci gösteren en önemli tür olarak ön plana çıkmaktadır (Li vd., 2023). Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri'nin (CDC) 2022 yılı raporuna göre en önemli antimikrobiyal direncine sahip mikroorganizmalardan biri olarak kabul edilen *P. aeruginosa* tarafından oluşturulan enfeksiyonlar, 2020 yılında bir önceki yıla göre %32 artış göstermiştir (CDC, 2022).

*P. aeruginosa*, virülans faktörlerinin ekspresyonunda ve biyofilm oluşumunda

Quorum Sensing (QS) sistemini kullanan en yaygın bakterilerden biridir. ‘Çoğunluk algılama’ olarak da adlandırılan ‘Quorum Sensing’, otoindüktörler olarak bilinen hücre dışı sinyal moleküllerinin üretimini, tespitini ve bu moleküllere karşı oluşturulan yanıtı içeren bir bakteriyel hücre-hücre iletişim sistemidir (Miller ve Bassler, 2001). Bakteri popülasyonundaki yoğunluk arttıkça otoindüktörler çevrede birikmekte ve bakteriler kolonizasyonlarını kontrol etmek ve toplu olarak gen ifadelerini değiştirmek için bu iletişim yolundan yararlanmaktadır (Ng ve Bassler, 2009). QS ve biyofilm oluşumu arasındaki bağlantıyı incelemek için *P. aeruginosa* model bir mikroorganizma olarak kabul edilmektedir. Günümüzde *P. aeruginosa*’da *las*, *rhl*, PQS ve IQS olmak üzere dört farklı QS sistemi bildirilmiştir (Lee ve Zhang, 2015). Biyofilm formasyonu ile beraber aralarında elastaz, proteazlar, piyosiyenin, lektin, ekzotoksin A ve rhamnolipidlerin de bulunduğu pek çok virülans faktörün QS sistemi ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Rutherford ve Bassler, 2012). Literatürde klinik *P. aeruginosa* suşlarında görülen karbapenem direnci ve biyofilm oluşturma özelliği arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli araştırmalara (Gonçalves vd., 2017; Viducic vd., 2017; El-Mahdy ve El-Kannishy, 2019; El Askary, 2020) rastlanılmasına rağmen, hayvansal kökenli *P. aeruginosa* suşlarının karbapenem direnci ve biyofilm oluşturma yeteneği ile bilgilerin sınırlı olduğu görülmüştür.

Bu bilgilerin ışığında, bu çalışmada Samsun ilindeki mezbahalardaki sığır karkaslarından izole edilen ve fenotipik olarak karbapenem direnci gösteren *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri kalitatif ve kantitatif yöntemlerle, karbapenem direncinden sorumlu major karbapenemaz (*bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ve *bla<sub>IMP</sub>*) ve ayrıca quorum sensing (*las* ve *rhl*) genlerinin varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmanın ilk etabında her biri farklı bir sığır karkas yüzeyinden (tüm numuneler kesim işlemi takiben derinin yüzülmesi aşamasının hemen ardından toplanmıştır) izole edilmiş, biyokimyasal

ve moleküler yöntemlerle (*oprI* geninin PCR ile tespiti ile) (De Vos vd., 1997) doğrulanmış 70 *Pseudomonas* spp. suşunun tür bazında identifikasyonu gerçekleştirildi. *P. aeruginosa* identifikasyonu De Vos vd. (1997) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Bu amaçla *oprI* geninin tespitine yönelik PCR çalışmaları gerçekleştirildi. PCR çalışmalarında kullanılan primerler Çizelge 1’de gösterildi. PCR çalışmaları doğrultusunda her biri farklı bir sığır karkas yüzeyinden izole edilen 70 *Pseudomonas* spp. suşunun 13’ü *P. aeruginosa* olarak belirlenerek çalışmada materyal olarak kullanıldı.

## Karbapenem direncinin belirlenmesi

Fenotipik karbapenem direncinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanıldı. İzolatların meropenem (10 µg, CT0774B, Oxoid), imipenem (10 µg, CT0455B, Oxoid), ve doripenem (10 µg, CT1880B, Oxoid) karşı olan duyarlılıkları EUCAST (2024) talimatları doğrultusunda Mueller-Hinton Agar (CM0337B, Oxoid) kullanılarak tespit edildi. Antibiyotik disklerinin etrafında oluşan zon çapları ölçüldü ve elde edilen sonuçlar EUCAST (2024) dökümanına göre yorumlandı ve izolatların direnç (R) ve duyarlılık (S) durumları belirlendi.

## Major karbapenemaz genlerinin PCR ile belirlenmesi

Literatürde büyük beşli olarak adlandırılan ve karbapenem direncinden sorumlu tutulan KPC, OXA-48, NDM, VIM ve IMP karbapenemazlarının belirlenmesi amacıyla *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ve *bla<sub>IMP</sub>* genlerinin tespitine yönelik PCR çalışmaları her bir gen için tekli olarak gerçekleştirildi. PCR çalışmalarında kullanılan primerler Çizelge 1’de gösterildi. Her bir gen için ayrı olarak hazırlanan toplam 25 µL hacimdeki PCR miks içeriği belirtildiği şekilde hazırlandı: 12,5 µL PCR Master Mix (2×) (Thermo Scientific, K0171), 0,4 mM her bir primer ve 1 µL kalıp DNA. Amplifikasyon koşulları 95 °C’de 5 dakika ilk denatürasyon; 35 siklus boyunca 95 °C’de 30 saniye denatürasyon, 55 °C’de 30 saniye primer bağlanması (*bla<sub>KPC</sub>* için 58 °C, *bla<sub>VIM</sub>* için 52 °C ve *bla<sub>IMP</sub>* için 49 °C), 72 °C’de 30 saniye primer uzaması ve son olarak 72 °C’de 8 dakika son uzama olarak uygulandı.

*P. aeruginosa* suşlarında karbapenem direnci ve biyofilm üretimi

Çizelge 1. PCR çalışmalarında kullanılan primer dizileri  
Table 1. Primer sequences used in PCR assays

Primer / Primer	Sekans (5' - 3') / Sequence (5' - 3')	Gen / Gene	Ürün / Product	Kaynak / Reference
oprI-F	ATGAACAACGTTCTGAAATTCCTCTGCT	<i>oprI</i>	249 bp	(De Vos vd., 1997)
oprI-R	CTTGCGGCTGGCTTTTTCCAG			
oprL-F	ATGGAAATGCTGAAATTCGGC	<i>oprL</i>	504 bp	(De Vos vd., 1997)
oprL-R	CTTCTTCAGCTCGACGCGACG			
lasI-F	GTGTTCAAGGAGCGCAAAGG	<i>lasI</i>	238 bp	(Hemati vd., 2014)
lasI-R	AACGGCTGAGTTCCCAGATG			
lasR-F	TCGAACATCCGGTCAGCAAA	<i>lasR</i>	128 bp	(Hemati vd., 2014)
lasR-R	GTTACATTGGCTTCCGAGC			
rhII-F	CCGTTGCGAACGAAATAGCG	<i>rhII</i>	308 bp	(Hemati vd., 2014)
rhII-R	CAGTTCGACCATCCGCAAAC			
rhIR-F	TCGCTCCAGACCACCATTTTC	<i>rhIR</i>	284 bp	(Hemati vd., 2014)
rhIR-R	GACGGAGGCTTTTTGCTGTG			
KPC-F	ATGTCACTGTATCGCCGTC	<i>bla<sub>KPC</sub></i>	902 bp	(Endimiani vd., 2008)
KPC-R	TTACTGCCCGTTGACGCC			
OXA-48-F	TTGGTGGCATCGATTATCGG	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	743 bp	(Poirel vd., 2012)
OXA-48-R	GAGCACTTCTTTTGTGATGGC			
NDM-F	GGTTTGCGGATCTGGTTTTC	<i>bla<sub>NDM</sub></i>	621 bp	(Poirel vd., 2011)
NDM-R	CGGAATGGCTCATCACGATC			
VIM-F	AGTGGTGAGTATCCGACAG	<i>bla<sub>VIM</sub></i>	261 bp	(Gröbner vd., 2009)
VIM-R	ATGAAAGTGCGTGGAGAC			
IMP-F	GTTTATGTTTCATACWTCG	<i>bla<sub>IMP</sub></i>	432 bp	(Hujer vd., 2006)
IMP-R	GGTTTAAAYAAAACAACCAC			

**Biyofilm oluşturma yeteneğinin belirlenmesi**

Karbapenem direnci gösteren izolatların biyofilm oluşturma yeteneklerinin tespiti amacıyla Kongo kırmızısı agar (KKA) yöntemi, modifiye tüp aderans yöntemi (Christensen yöntemi) ve mikropalak yöntemi olmak üzere üç farklı metot kullanıldı. Bu şekilde izolatların biyofilm oluşturma yetenekleri hem kalitatif hem de kantitatif olarak tespit edildi. KKA yönteminde Kongo kırmızısı agara pasajlanan izolatlar 37

°C'de 24 saat inkübe edildi. Siyah koloni oluşumu biyofilm pozitif, kırmızı-pembe kolonilerin oluşması biyofilm negatif olarak değerlendirildi (Freeman vd., 1989). Modifiye tüp aderans yönteminde izolatlar %3 glikoz içeren Tryptone Soy Broth (TSB, NCM0019A, Neogen) içerisinde 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Inkübasyonun ardından tüpler boşaltılarak fosfat tamponlu tuzlu su ile yıkandı ve %0.1'lik kristal viyole ile 30 dakika muamele edildi. Tüplerdeki aderasın

dercesine göre biyofilm oluşumu negatif (-), zayıf (+), orta (++) ve güçlü (+++) olarak değerlendirildi (Christensen vd., 1982). Kantitatif olarak biyofilm oluşumu belirlemek amacıyla 96 kuyucuklu polisteren plakalarda mikropalak yöntemi uygulandı (Stepanović vd., 2007). Negatif kontrol olarak sadece TSB içeren kuyucuklar baz alındı. Cutoff OD değeri (OD<sub>c</sub>), negatif kontrolün ortalama değeri olarak belirlendi (OD ≤ OD<sub>c</sub> = biyofilm negatif, OD<sub>c</sub> < OD ≤ 2 × OD<sub>c</sub> = zayıf biyofilm, 2 × OD<sub>c</sub> < OD ≤ 4 × OD<sub>c</sub> = orta düzey biyofilm, OD > 4 × OD<sub>c</sub> = güçlü biyofilm üreticisi olarak belirlendi). Testler iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

### Quorum Sensing genlerinin PCR ile belirlenmesi

Las ve rhl QS sistemlerinin araştırılması amacıyla *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerinin tespitine yönelik PCR çalışmaları gerçekleştirildi. Bu amaçla kullanılan primer dizileri Çizelge 1’de gösterildi. Her bir gen için ayrı olarak hazırlanan toplam 25

µL hacimdeki PCR miks final konsantrasyonları: 1X Taq buffer, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP miks, 0.2 µM her bir primer, 0.5 U Taq polimeraz ve 1 µL kalıp DNA olarak hazırlandı. Amplifikasyon koşulları 95 °C’de 5 dakika ilk denatürasyon; 33 siklus boyunca 94 °C’de 1 dakika denatürasyon, 61 °C’de 45 saniye primer bağlanması, 72 °C’de 1 dakika primer uzaması ve son olarak 72 °C’de 10 dakika son uzama olarak uygulandı.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmada analiz edilen 13 *P. aeruginosa* suşunun tümünün analiz edilen karbapenemlerden en az birine karşı dirençli olduğu tespit edildi. En yüksek direncin meropenem (%100) karşı olduğu belirlenirken bunu imipenem (%38.4) takip ettiği görüldü. En düşük direnç doripenem (%23) karşı belirlendi. İki izolatanın analiz edilen üç farklı karbapenem karşı dirençli olduğu tespit edildi. İzolatların karbapenemlere karşı duyarlılıklarına ilişkin veriler Çizelge 2’de gösterildi.

Çizelge 2. *P. aeruginosa* izolatlarının fenotipik ve genotipik özellikleri  
Table 2. Phenotypic and genotypic characteristics of *P. aeruginosa* isolates

Tür / Species	Antibiyotik direnci / Antibiotic resistance			Quorum sensing / Quorum sensing				Biyofilm / Biofilm			Karbapenemaz genleri / Carbapenemase genes
	M	İ	D	<i>lasI</i>	<i>lasR</i>	<i>rhlI</i>	<i>rhlR</i>	KKA	MTA	MY	
1 <i>P. aeruginosa</i>	R	R	S	+	+	+	+	+	+++	1,073	*
2 <i>P. aeruginosa</i>	R	R	S	+	+	+	+	+	+++	0,524	*
3 <i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	-	+	-	+	+	+++	1,092	*
4 <i>P. aeruginosa</i>	R	R	S	+	+	+	+	+	+++	1,002	*
5 <i>P. aeruginosa</i>	R	R	R	+	+	+	+	+	+++	0,838	*
6 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	1,081	*
7 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	R	+	+	+	+	+	+++	0,802	*
8 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	1,069	*
9 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	1,077	*
10 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	1,045	*
11 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	0,834	*
12 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	1,071	*
13 <i>P. aeruginosa</i>	R	S	S	+	+	+	+	+	+++	0,930	*

M: Meropenem, İ: İmipenem, D: Doripenem, KKA: Kongo kırmızısı agar, MTA: Modifiye tüp aderans, MY: Mikroplak yöntemi (OD<sub>500</sub> değerleri), Negatif kontrol OD<sub>c</sub> = 0.08, R: Dirençli, S: Duyarlı, +: pozitif, -: negatif, +++: Modifiye tüp aderans yöntemine göre güçlü biyofilm üreticisi, \*: major karbapenemaz genleri hiçbir izolatta tespit edilemedi

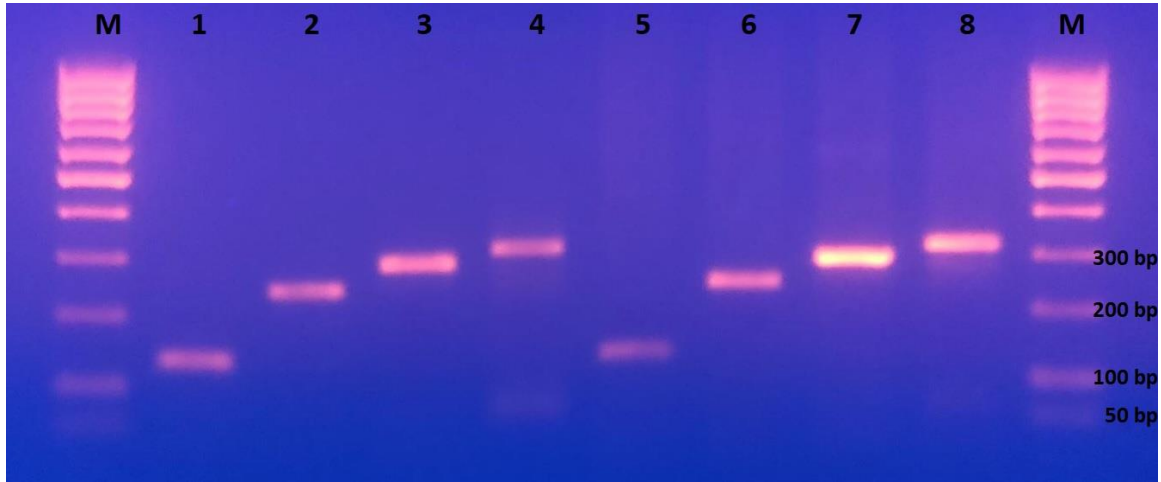
M: Meropenem, İ: Imipenem, D: Doripenem, KKA: Congo red agar, MTA: Modified tube adherence, MY: Microplate method (OD<sub>500</sub> values), Negative control OD<sub>c</sub> = 0.08, R: Resistant, S: Susceptible, +: positive, -: negative, +++: strong biofilm producer according to the modified tube adherence method, \*: major carbapenemase genes could not be detected in any isolates

En az bir karbapeneme karşı dirençli olduğu tespit edilen 13 *P. aeruginosa* izolatu major karbapenemaz genlerinin tespiti amacıyla *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ve *bla<sub>MIP</sub>* genlerinin tespitine yönelik PCR çalışmalarına tabi tutuldu. Yapılan analizler doğrultusunda izolatların hiçbirinde *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* ya da *bla<sub>MIP</sub>* genleri tespit edilemedi.

Çalışmada 13 *P. aeruginosa* suşu kalitatif biyofilm üretimi açısından iki farklı yöntemle değerlendirildi. Analiz sonuçlarına göre tüm izolatların hem Kongo red agarda hem de modifiye tüp aderans yöntemiyle biyofilm üreticisi olduğu tespit edildi. Kalitatif olarak biyofilm üreticisi olan tüm suşlar kantitatif olarak analiz

edildi. Mikroplak yöntemine göre kalitatif olarak biyofilm ürettiği tespit edilen izolatların OD<sub>500</sub> değerleri hesaplandı ve bu suşlar güçlü biyofilm üretici olarak tespit edilerek biyofilm üretimi kantitatif olarak doğrulandı. İzolatların kantitatif ve kalitatif biyofilm üretimine ilişkin veriler Çizelge 2’de gösterildi.

Çalışmada kalitatif ve/veya kantitatif olarak biyofilm ürettiği tespit edilen tüm izolatlarda *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerinin varlığı araştırıldı. PCR analizleri doğrultusunda analiz edilen 13 izolatın 12’sinin (%92.3) *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerinin tümünü içerdiği tespit edildi (Şekil 1). Bir izolatu (%7.69) sadece *lasR* ve *rhlR* genlerini içerdiği belirlendi (Çizelge 2).



Şekil 1. *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerinin UV-transilluminatör altındaki görüntüsü M: 50 bp DNA ladder, Lane 1: *lasR* (128 bp) pozitif kontrol, Lane 2: *lasI* (238 bp) pozitif kontrol, Lane 3: *rhlR* (284 bp) pozitif kontrol, Lane 4: *rhlI* (308 bp) pozitif kontrol, Lane 5-8: Çalışmada *lasR*, *lasI*, *rhlR* ve *rhlI* pozitif olarak tespit edilen bir izolata ait bantlar

Figure 1. Image of *lasI*, *lasR*, *rhlI* and *rhlR* genes under UV-transilluminator M: 50 bp DNA ladder, Lane 1: *lasR* (128 bp) positive control, Lane 2: *lasI* (238 bp) positive control, Lane 3: *rhlR* (284 bp) positive control, Lane 4: *rhlI* (308 bp) positive control, Lane 5-8: Bands belonging to a *lasR*, *lasI*, *rhlR* and *rhlI* positive isolate

*P. aeruginosa* las ve rhl olmak üzere iki temel QS sistemini içermektedir. Her sistem otoindüktör sentaz *lasI* [N-(3-oksododekanoyl)-L-homoserin lakton] ve *rhlI* (N-bütiril-L-homoserin lakton) ve aynı kökenli transkripsiyonel düzenleyiciler (*lasR* ve *rhlR*) olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır (Lee ve Zhang, 2015). *P. aeruginosa* suşlarında farklılaşmış ve güçlü biyofilm yapısının oluşmasında las ve rhl QS sistemlerinin etkili olduğu bildirilmiştir (De Kievit, 2009). Bu

çalışmada *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerini içeren tüm suşların (%92.3) güçlü biyofilm üreticisi olduğu saptanmıştır. Yalnızca analiz edilen bir izolatu *lasR/rhlR* genlerini içerirken *lasI/rhlI* genlerini içermediği belirlenmiş ve bu izolatu güçlü biyofilm üreticisi olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Yapılan literatür taramalarında çalışma bulgularına benzer şekilde *P. aeruginosa* suşlarında *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* genlerinin birlikte bulunma oranları Perez vd. (2013) tarafından yapılan



çalışmada %90.1, Faisal vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada %85, Uzunbayır Akel vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada %68.4, Karatuna ve Yagci (2010) tarafından yapılan çalışmada %62.5 olarak bildirilmiştir.

Çalışmada tüm *P. aeruginosa* suşlarının analiz edilen karbapenemlerden en az birine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın suşların hiçbirinde major karbapenemaz genleri tespit edilememiştir. Karbapenem direnç mekanizmaları arasında major karbapenemazların üretimi, bu enzimlerin üretiminden sorumlu genlerin plazmitler ve integronlar gibi mobil genetik elemanlar vasıtasıyla taşınmasından ve bakteri türleri arasında aktarılmasından dolayı belirgin bir öneme sahiptir (Halat ve Moubareck, 2020). Ancak *P. aeruginosa* suşlarında gözlenen karbapenem direnci daha yaygın olarak intrinsik faktörlere bağlıdır. Bu faktörlerin MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN gibi efluks pompalarının aşırı ekspresyonu, OprD porininin kaybı ya da ekspresyonunda azalma, veya artmış kromozomal sefalosporinaz aktivitesi olduğu bildirilmiştir (Meletis vd., 2012). Bununla beraber GES (Guiana extended spectrum), GIM (German imipenemase), SIM (Seoul imipenemase) ve SPM (Sao Paulo metallo- $\beta$ -lactamase) enzimleri de *P. aeruginosa* suşlarında karbapenemleri hidrolize edici aktivite göstermektedir (Cayci vd., 2022). Bu nedenle bu çalışmada KPC, OXA-48, NDM, IMP ve VIM enzimlerinden bağımsız olarak gözlenen karbapenem direncinin yukarıda bahsedilen faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Biyofilmler gıda üretim tesislerinde bir veya birden fazla tür mikroorganizma tarafından oluşturulan karmaşık mikrobiyal ekosistemlerdir. Gıda işletmelerinde oluşan biyofilmler; artan temizlik maliyetleri, artan enerji tüketimi, yüzey korozyon hızını artırması, gıdaların raf ömrünü azaltması gibi ekonomik etkilerin yanı sıra, gıda kaynaklı enfeksiyonların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (Gürlük vd., 2022). Konu ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalarda mezbaha ortamlarından izole edilen *Listeria* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *E. faecalis* gibi patojen bakterilerin çeşitli düzeylerde (%53-%87.5) biyofilm üreticisi olduğu tespit edilmiştir (Gündoğ

vd., 2023; Güngör vd., 2023). Bunun yanı sıra Akyol vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada kasap ve şarküteri ortamlarından izole edilen *S. aureus* suşlarının tamamının biyofilm üretme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Buna karşın yapılan literatür taramalarında mezbaha ortamlarında *P. aeruginosa*'nın biyofilm üretimine ilişkin verilerin sınırlı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada mezbahalardaki sığır karkas yüzeylerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının tamamının (%100) mikropalak yöntemiyle güçlü biyofilm üreticisi olduğu ortaya konmuştur. *Pseudomonas* spp. suşlarında biyofilm üretiminin diğer gıda kaynaklı patojenlere göre daha yaygın olmasının bu sonucun ortaya çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

Analiz sonuçlarına göre bu çalışmada karbapenem direnci gösteren tüm *P. aeruginosa* izolatlarının aynı zamanda güçlü biyofilm üreticisi olduğu tespit edilmiştir. *Pseudomonas* suşları tarafından oluşturulan biyofilmlerin, antibakteriyel duyarlılığın azalmasına yol açarak enfeksiyonların tedavisinde daha yüksek konsantrasyonda antibiyotik kullanılmasına yol açtığı bildirilmektedir (Karami vd., 2020). Yapılan literatür taramalarında enfeksiyonlardan izole edilen karbapenemlere dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının biyofilm üretmeye daha yatkın olduğu ve bu izolatlarda güçlü biyofilm formasyonunun daha yaygın olduğu gözlemlenmiştir (Ochoa vd., 2013; Gonçalves vd., 2017; Cho vd., 2018; Heidari vd., 2022). Günümüzde, *P. aeruginosa* izolatlarında gözlenen karbapenem direnci ve biyofilm oluşumu ilişkisi mekanizmaları tam olarak açıklığa kavuşturulmamasına da, direnç ve biyofilm oluşumu arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmektedir (Wang vd., 2023). Biyofilm oluşturma kapasitesi, virülans faktörü ekspresyonu ve çoklu antibiyotik direnci fenotipi birbirleriyle bağlantılı unsurlar olarak kabul edilmektedir (Choy vd., 2008; Abidi vd., 2013). Literatürdeki bilgilere paralel olarak, bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda hayvansal gıdalardan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında da karbapenem direnci ve biyofilm oluşturma yeteneğinin birbiriyle bağlantılı olduğu gözlemlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada sığır karkaslarının *P. aeruginosa* ile kontaminasyonunun mezbaha ortamında kesimi takiben derinin yüzülmesi aşamasından itibaren gerçekleştiği ortaya konmuştur. Hayvansal orjinli *P. aeruginosa* suşlarında karbapenem direncinin ve biyofilm üretiminin birbirleriyle ilişki içerisinde olduğu belirlenmiştir. İzole edilen *P. aeruginosa* suşlarının hem karbapenemlere karşı dirençli olması hem de biyofilm üretmesi halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike olarak değerlendirilmiştir. Biyofilm üretiminde las ve rhl QS sistemlerinin etkili olduğu belirlenirken, karbapenem direncinin major karbapenemazlardan bağımsız olarak oluştuğu gözlemlenmiştir. İleride yapılacak olan çalışmalarla izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının karbapenem direnç mekanizmalarının ortaya konması planlanmaktadır.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu araştırma makalesinde herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

#### YAZAR KATKILARI

Tolga UYANIK çalışma dizaynı, laboratuvar analizleri, bulguların değerlendirilmesi ve makale yazımı; Ayşegül BÖLÜKBAŞ laboratuvar analizleri; Ali GÜCÜKOĞLU bulguların değerlendirilmesi ve süreç yönetimi; Özgür ÇADIRCI metodoloji ve makalenin yazımı; Merve Gizem SEZENER KABAY laboratuvar analizleri konularında katkı sağlamıştır.

#### KAYNAKLAR

Abidi, S.H., Sherwani, S.K., Siddiqui, T.R., Bashir, A., Kazmi, S.U. (2013). Drug resistance profile and biofilm forming potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from contact lenses in Karachi-Pakistan. *BMC Ophthalmology*, 13: 1-6.

Akyol, N., Gündoğ, D.A., Özkaya, Y., Güngör, C., Onmaz, N.E. (2023). Kasap dükkanları ve şarküterilerde gıda ile temas eden yüzeylerden elde edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında biyofilm üretiminin fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(3): 198-205.

Botta, C., Franciosa, I., Coisson, J., Ferrocino, I., Colasanto, A., Arlorio, M., Cocolin, L., Rantsiou, K. (2023). Beef carcass microbiota after slaughtering and primary cooling: A metataxonomic assessment to infer contamination drivers. *Food Research International*, 174: 113466.

Cayci, Y.T., Biyik, I., Birinci, A. (2022). VIM, NDM, IMP, GES, SPM, GIM, SIM metalloβ-lactamases in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a Turkish university hospital. *Journal of Archives in Military Medicine*, 10(1): e118712.

CDC 2022. COVID-19: U.S. impact on antimicrobial resistance, special report 2022. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/covid-19-impact-report-508.pdf> (Erişim tarihi: 23.04.2024)

Cho, H.H., Kwon, K.C., Kim, S., Park, Y., Koo, S.H. (2018). Association between biofilm formation and antimicrobial resistance in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 48(3): 363-368.

Choy, M.H., Stapleton, F., Willcox, M.D., Zhu, H. (2008). Comparison of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from contact lens-and non-contact lens-related keratitis. *Journal of Medical Microbiology*, 57(12): 1539-1546.

Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L., Beachey, E.H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and Immunity*, 37(1): 318-326.

De Kievit, T. (2009). Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environmental Microbiology*, 11(2), 279-288.

De Vos, D., Lim Jr, A., Pirnay, J.P., Struelens, M., Vandenvelde, C., Duinslaeger, L., Vanderkelen, A., Cornelis, P. (1997). Direct detection and identification of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples such as skin biopsy specimens and expectorations by multiplex PCR based on two outer membrane lipoprotein genes, oprI and oprL. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6): 1295-1299.

- El-Mahdy, R., El-Kannishy, G. (2019). Virulence factors of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in hospital-acquired infections in Mansoura, Egypt. *Infection and Drug Resistance*, 12: 3455-3461.
- El Askary, S.A. (2020). Relation between biofilm formation, quorum sensing genes (RhII-LasI) and carbapenem resistance among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 29(2): 1-9.
- Endimiani, A., Carias, L.L., Hujer, A.M., Bethel, C.R., Hujer, K.M., Perez, F., Hutton, R.A., Fox, W.R., Hall, G.S., Jacobs, M.R. (2008). Presence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolates possessing blaKPC in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(7): 2680-2682.
- EUCAST (2024). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. <http://www.eucast.org> (Erişim tarihi: 23.04.2024)
- Faisal, A.J., Ali, M.R., Said, L.A. (2020). Co-existence of lasI, rhI, and *Pseudomonas aeruginosa* signal quorum-sensing genes in clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 10: 338-343.
- Freeman, D., Falkiner, F., Keane, C. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8): 872-874.
- Gonçalves, I.R., Dantas, R.C.C., Ferreira, M.L., Batistão, D.W.D.F., Gontijo-Filho, P.P., Ribas, R.M. (2017). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48: 211-217.
- Gröbner, S., Linke, D., Schütz, W., Fladerer, C., Madlung, J., Autenrieth, I.B., Witte, W., Pfeifer, Y. (2009). Emergence of carbapenem-non-susceptible extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates at the university hospital of Tübingen, Germany. *Journal of Medical Microbiology*, 58(7): 912-922.
- Gündoğ, D.A., Güngör, G., Güngör, C., Onmaz, N.E., Gönülalan, Z. (2023). Çeşitli gıda kaynaklı patojenik bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneklerinin tespitinde kongo kırmızısı agar'ın etkinliğinin değerlendirilmesi. *Bozok Veterinary Sciences*, 4(1): 18-26.
- Güngör, C., Gündoğ, D.A., Onmaz, N.E. (2023). Mezbahta ortamından izole edilen *Enterococcus faecalis* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitesi ve biyofilm ile ilişkili virülans genlerin varlığı. *Bozok Veterinary Sciences*, 4(1): 12-17.
- Gürlük, N., Koluman, A., Kahraman, T. (2022). Gıda işletmelerinde biyofilm sorunu ve gümüş nanopartikül uygulamaları. *Aydın Gastronomy*, 6(1): 51-63.
- Halat, D.H., Moubareck, C.A. (2020). The current burden of carbapenemases: review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 9(4): 186.
- Heidari, R., Sheikh, F.A., Hashemzadeh, M., Farshadzadeh, Z., Salmanzadeh, S., Saki, M. (2022). Antibiotic resistance, biofilm production ability and genetic diversity of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections in southwestern Iran. *Molecular Biology Reports*, 49(5): 3811-3822.
- Hemati, S., Azizi-Jalilian, F., Pakzad, I., Taherikalani, M., Maleki, A., Karimi, S., Monjezei, A., Mahdavi, Z., Fadavi, M.R., Sayehmiri, K. (2014). The correlation between the presence of quorum sensing, toxin-antitoxin system genes and MIC values with ability of biofilm formation in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(3): 133.
- Hujer, K.M., Hujer, A.M., Hulten, E.A., Bajaksouzian, S., Adams, J.M., Donskey, C.J., Ecker, D.J., Massire, C., Eshoo, M.W., Sampath, R. (2006). Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Acinetobacter* sp. isolates from military and civilian patients treated at the Walter Reed Army Medical Center. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(12): 4114-4123.
- Karami, P., Khaledi, A., Mashoof, R.Y., Yaghoobi, M.H., Karami, M., Dastan, D., Alikhani, M.Y. (2020). The correlation between biofilm formation capability and antibiotic resistance pattern in *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene Reports*, 18: 100561.

- Karatuna, O., Yagci, A. (2010). Analysis of quorum sensing-dependent virulence factor production and its relationship with antimicrobial susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa* respiratory isolates. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(12): 1770-1775.
- Lee, J., Zhang, L. (2015). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell*, 6(1): 26-41.
- Li, X., Gu, N., Huang, T.Y., Zhong, F., Peng, G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: a typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1114199.
- McAfee, A.J., McSorley, E.M., Cuskelly, G.J., Moss, B.W., Wallace, J.M., Bonham, M.P., Fearon, A.M. (2010). Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84(1), 1-13.
- McSharry, S., Koolman, L., Whyte, P., Bolton, D. (2021). The microbiology of beef from carcass chilling through primal storage to retail steaks. *Current Research in Food Science*, 4: 150-162.
- Meletis, G., Exindari, M., Vavatsi, N., Sofianou, D., & Diza, E. (2012). Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Hippokratia*, 16(4), 303.
- Miller, M.B., & Bassler, B.L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1): 165-199.
- Ng, W.L., Bassler, B.L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43: 197-222.
- Ochoa, S.A., López-Montiel, F., Escalona, G., Cruz-Córdova, A., Dávila, L.B., López-Martínez, B., Jiménez-Tapia, Y., Giono, S., Eslava, C., Hernández-Castro, R. (2013). Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 70(2): 136-150.
- Perez, L.R.R., Machado, A.B.M.P., Barth, A.L. (2013). The presence of quorum-sensing genes in *Pseudomonas* isolates infecting cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients. *Current Microbiology*, 66: 418-420.
- Poirel, L., Potron, A., Nordmann, P. (2012). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7): 1597-1606.
- Poirel, L., Walsh, T.R., Cuvillier, V., Nordmann, P. (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 70(1): 119-123.
- Reynolds, D., Kollef, M. (2021). The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. *Drugs*, 81(18): 2117-2131.
- Rutherford, S.T., Bassler, B.L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11): a012427.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G.D., Djukić, S., Ćirković, I., Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8): 891-899.
- TEPGE (2023). Durum ve tahmin kırmızı et 2023. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/> (Erişim tarihi: 23.04.2024)
- USDA (2023). 2023 U.S. livestock and poultry outlook. <https://www.usda.gov/sites/default/files/documents/2023aof-Choe.pdf> (Erişim tarihi: 23.04.2024)
- Uzunbayır-Akel, N., Tekintaş, Y., Yılmaz, F.F., Öztürk, İ., Okeer, M., Aydemir, S.Ş., Çilli, F. F., Hoşgör-Limoncu, M. (2019). Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının virülans özellikleri ve epidemiyolojik ilişkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 76(4): 395-404.
- Viducic, D., Murakami, K., Amoh, T., Ono, T., Miyake, Y. (2017). Role of the interplay between quorum sensing regulator VqsR and the *Pseudomonas* quinolone signal in mediating carbapenem tolerance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Research in Microbiology*, 168(5): 450-460.

Wang, X., Gao, K., Chen, C., Zhang, C., Zhou, C., Song, Y., Guo, W. (2023). Prevalence of the virulence genes and their correlation with carbapenem resistance amongst the *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a tertiary hospital in China. *Antonie van Leeuwenhoek*, 116(12): 1395-1406.

Wyness, L. (2016). The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3): 227-232.



## THE IMPACT OF RAISIN CONSUMPTION ON QUERCETIN BIOAVAILABILITY: AN IN VIVO APPROACH IN VIVO

Ebru AYDIN\*

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Natural Sciences,  
Suleyman Demirel University, Isparta, Türkiye

Received / Geliş: 02.05.2024; Accepted / Kabul: 23.07.2024; Published online / Online baskı: 27.07.2024

Aydın, E. (2024). The impact of raisin consumption on quercetin bioavailability: An in vivo approach. GIDA (2024) 49 (4) 741-750 doi: 10.15237/gida.GD24049

Aydın, E. (2024). Kuru üzüm tüketiminin kuersetin biyoyararlanımı üzerindeki etkisi: In vivo yaklaşım. GIDA (2024) 49 (4) 741-750 doi: 10.15237/gida.GD24049

### ABSTRACT

Raisins are a nutrient-dense food known for their high content of dietary fiber, antioxidants, and bioactive compounds, including quercetin, which exists predominantly in the form of quercetin glycosides, enhancing their potential health benefits. This study investigates the impact of dietary matrix on quercetin bioavailability by analyzing urinary excretion following consumption of raisins. Employing advanced LC/MS techniques, the study quantified quercetin and its metabolites to evaluate how whole foods influence the absorption and metabolic processing of dietary polyphenols. Initial results indicated a significant increase in urinary quercetin excretion, with concentrations ranging from 21.8 µg/ml to 238.8 µg/ml among participants after consuming raisins. The study showed the role of the food matrix in enhancing quercetin bioavailability, suggesting that the complex interactions within whole foods like raisins could significantly influence the solubility, stability, and absorption of quercetin.

**Keywords:** Raisins, quercetin, bioavailability, excretion, food matrix

## KURU ÜZÜM TÜKETİMİNİN KUERSETİN BİYOYARARLANIMI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ: IN VIVO YAKLAŞIM

### ÖZ

Kuru üzüm yüksek oranda diyet lifi, antioksidan ve ağırlıklı olarak kuersetin glikozitleri formunda bulunan kuersetin de dahil olmak üzere farklı biyoaktif bileşikler içermektedir. İçerdiği bu bileşiklerden dolayı sağlık üzerine yararlı etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, kuru üzüm tüketimini takiben idrardaki kuersetin atılımı analiz edilerek diyet matrisinin kuersetinin biyoyararlanımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada gelişmiş LC/MS teknikleri kullanılarak, diyetteki gıdaların, polifenol emilimine ve metabolizmasına etki derecesini tespit etmek için idrardaki kuersetin ve metabolitlerinin miktarları belirlenmiştir. Kuru üzüm tükettikten sonra idrarla kuersetin atılımında önemli bir artış olduğunu ve konsantrasyonların 21.8 µg/ml ile 238.8 µg/ml arasında değiştiğini göstermiştir. Çalışma, kuersetinin biyoyararlanımını arttırmada gıda matrisinin rolünün önemini belirterek, kuru üzüm gibi işlenmemiş gıdalardaki karmaşık etkileşimlerin, kuersetinin çözünürlüğünü, stabilitesini ve emilimini önemli ölçüde etkileyebileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kuru üzüm, kuersetin, biyoyararlanım, atılım, besin matrisi

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉: ebruaydin@sdu.edu.tr

☎: (+90) 530 099 44 62

Ebru Aydın; ORCID no: 0000-0002-5625-040X

## INTRODUCTION

Quercetin, a flavonoid abundantly found in a variety of fruits and vegetables, has been extensively studied for its potential health benefits, including anti-inflammatory and antioxidant effects (Tomou et al., 2023; Nazari-Khanamiri and Ghasemnejad-Berenji, 2023). Recent research has increasingly focused on the bioavailability of quercetin and how it is affected by the form in which it is consumed. Notably, the matrix in which quercetin is ingested plays a crucial role in its solubility, stability, and subsequent absorption and metabolism in the human body.

Dietary polyphenols like quercetin are often consumed in whole foods, yet the majority of the studies have traditionally concentrated on these compounds in their isolated forms. This oversight in research overlooks the intricate interactions within whole foods, which may modify the bioavailability and physiological impacts of polyphenols (Chen et al., 2022). Raisins, as a whole food, consist of a unique matrix including fibers, sugars, and other polyphenolic compounds, which can interact synergistically with quercetin. This interaction is posited to protect quercetin from rapid degradation in the digestive tract, enhance its solubility and stability, and facilitate a more sustained release and absorption in the gut (Di Pede et al., 2020).

Furthermore, the protective interactions between quercetin and the raisin matrix may enhance the permeability of quercetin across intestinal barriers, modify its metabolism by liver enzymes, and improve the systemic availability of its metabolites, crucial for its biological activities (Riva et al., 2019). Dabeek and Marra., (2019) reported that whole foods like raisins could provide a synergistic matrix that supports enhanced absorption and metabolism of quercetin compared to isolated supplements. This study seeks to address the gap in existing literature by examining these complex interactions within raisins and assessing their impact on the bioavailability of quercetin.

Additionally, this study aims to investigate the excretion patterns of quercetin and its conjugates in the urine following the consumption of raisins. By quantifying the urinary excretion of these metabolites, we seek to provide direct evidence of the bioavailability and metabolic processing of quercetin when consumed within the complex food matrix of raisins. This aspect of our research is critical, as it allows for an assessment of how effectively quercetin is absorbed and utilized in the body after being ingested in a whole food form. Understanding these excretions patterns is essential for evaluating the efficacy of dietary interventions involving quercetin-rich foods in health maintenance and disease prevention strategies. This could pave the way for new dietary recommendations and interventions in chronic disease prevention and management, thereby enriching the existing paradigms of nutritional science.

## MATERIAL AND METHODS

To ascertain the comprehensive quantification of quercetin within biological specimens, multiple analytical methodologies are employed. These techniques are primarily utilized subsequent to the enzymatic cleavage of conjugated quercetin derivatives, facilitating the meticulous assessment of quercetin and its metabolites. Among the spectrum of analytical approaches are liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS), LC/MS/MS, high-performance liquid chromatography (HPLC) paired with ultraviolet (UV) detection, fluorescent detection, electrochemical detection, as well as HPLC coupled with radiocounting and tandem mass spectrometry. Notably, the LC/MS technique has been demonstrated to measure reliably minimal quantities of native quercetin in urinary samples, ensuring commendable reproducibility in the analytical outcomes (Ishii et al., 2003).

### Chemicals and reagents

Quercetin and rutin were procured from Sigma-Aldrich Inc. (St Louis, MO). To prepare stock solutions, these compounds were initially dissolved in ethanol and subsequently diluted with an aqueous solution to achieve a 50% ethanol concentration. In contrast, taxifolin was

solubilized directly in distilled water.  $\beta$ -Glucuronidase of type IX-A, derived from *E. coli*, along with sulfatase of type VI, sourced from *Aerobacter aerogenes*, were also obtained from Sigma-Aldrich Inc. (St Louis, MO). Methanol, ethanol, acetonitrile, and sodium azide were HPLC grade (Fisher Scientific, Loughborough, UK).

### Raisins extraction

Raisins were provided from Sun-Maid (California, USA). Raisin extraction was conducted utilizing the methodology developed by Zhao and Hall (2008). To enhance the efficiency of extraction from 3 g of finely chopped raisins, 15 ml of solvents (ethanol [EtOH], methanol [MeOH], and acetonitrile [ACN]) were employed. These solvents were subsequently diluted with varying proportions of distilled water to achieve concentrations ranging from 0 to 95%. The resulting mixture was subjected to vortex mixing for two minutes and then homogenized at increasing speeds for five minutes to achieve particle size reduction. This homogenate was then centrifuged for 25 minutes at 20 °C and 3000 rpm, and the resultant pellet underwent a second extraction with the original solvent volume, followed by the same centrifugation protocol. The extracts from these sequential processes were combined and stored at -20°C for future analysis. All the extraction steps were replicated three times. The final aqueous extracts were filtered through a 0.2  $\mu$ m polytetrafluoroethylene filter before being analyzed via HPLC for polyphenol content.

### Identification of raisin phenolic composition by HPLC

The HPLC system had an Agilent Eclipse XDB-C18 RRHT threaded column, interfaced with a Merck Hitachi D-7000 Lachrom system, inclusive of a Merck Hitachi L-7200 autosampler, L-7300 column oven, L-7450 diode array detector, and L-7100 pump. Mobile phase A was formulated with 95% acetonitrile, 5% distilled water, and 0.1% formic acid, whereas mobile phase B consisted of 95% distilled water, 5% acetonitrile, and 0.1% formic acid. The chromatographic separation proceeded with a flow rate of 1.0 ml/min,

utilizing a linear gradient that transitioned from 100% to 10% of phase A and from 0% to 90% of phase B. The conditions were maintained within a pressure range of 0 to 400 bar and at a controlled temperature of 35 °C. The quantification of total quercetin glycosides, expressed as rutin equivalents, was based on absorbance at 370 nm, with all chromatographic peaks resolving within 30 minutes.

### Participants

This research involved the recruitment of 18 healthy smoke-free individuals without any significant medical history. The participants included 10 males and 8 females, aged between 20 and 40 years. Selection criteria were based on health status, dietary habits, and absence of chronic diseases to ensure a homogeneous study group. Participants were provided with a concise health survey, an overview of the research, a disclaimer of liability, and information on their rights to withdraw from the study at any point. The protocol received ethical approval from the University of Leeds, MEEC Faculty Research Ethics Committee reference number MEEC 09-019. Prior to the experimental phase, subjects were asked to complete detailed food diaries during a 3-day washout period. Additionally, they were instructed to abstain from consuming polyphenol-rich foods for two days preceding the test day. On the morning of the third day, before the intake of raisins, control urine samples were collected as control samples. Subsequently, participants consumed a standardized meal consisting of a slice of bread, butter, a banana, and 100 grams of Sun-Maid raisins. Following this meal, they were required to collect their urine over the next 24 hours. Participant identities were in an anonymous format and data were recorded anonymously to maintain confidentiality. This methodology enabled the assessment and quantification of dietary components' absorption and subsequent urinary excretion over a 24-hour period, facilitating the evaluation of quercetin and other compounds' bioavailability from raisins.



### Protocols for enzymatic hydrolysis and LC-MS analysis of urinary flavonoids

The protocol for processing urine samples encompasses four primary stages. Stage 1 was collection; urine samples were accumulated over a 24-hour period into 3000 ml plastic containers, each containing 3 g of ascorbic acid to prevent oxidative degradation. Stage 2 was preparation for storage; volumes of the collected urine were measured, and aliquots of 10 ml were transferred into 15 ml falcon tubes containing 1 ml of 0.1% sodium azide, serving as a biocide to inhibit sample degradation. These samples were subsequently stored at -20°C pending analysis. Stage 3 was enzymatic hydrolysis to facilitate the breakdown of conjugated flavonoids into free aglycones, enzymatic hydrolysis was performed. Each 1 ml urine aliquot was treated with an enzyme solution enriched in sodium phosphate buffer (0.2 M, pH 7), comprising 50 units of  $\beta$ -glucuronidase from *E. coli* and 0.3 units of sulfatase from *Aerobacter aerogenes*. The mixture was incubated at 37°C for 2 hours with constant agitation. Post-incubation, the enzymatic reaction was stopped by adding 275  $\mu$ l of 2% HCl, adjusting the pH to favor the selective extraction of non-polar analytes with ethyl acetate. Stage 4 was reconstitution and filtration; following enzymatic hydrolysis, three rounds of ethyl acetate extractions were conducted. The collected supernatants were then concentrated using a centrifugal evaporator at 40°C. The dried residues were reconstituted in a mixture of 50  $\mu$ l acetonitrile and 200  $\mu$ l of 0.125% ascorbic acid, sonicated to ensure complete dissolution and then centrifuged to clarify the solution before LC-MS analysis.

LC-MS quantification targeted several flavonoids, including quercetin, catechin, epicatechin, ferulic acid, caffeic acid, and caftaric acid. Taxifolin, at a 0.01% concentration, was incorporated as an internal standard into each sample. This process was uniformly applied to both experimental and control urine samples, with all procedures conducted in duplicate to ensure analytical precision. The bioavailability of quercetin was calculated based on the following equation:

$$\text{The total urinary excretion of quercetin (\%)} = \left( \frac{\text{Total excreted quercetin}}{\text{Total ingested quercetin}} \right) \times 100.$$

### LC/MS analyses

The desiccated specimen was resuspended in 50  $\mu$ l of acetonitrile and 200  $\mu$ l of a 0.125% solution of ascorbic acid. This mixture was then subjected to vortex mixing followed by centrifugation at 1700 rpm for 10 minutes. Subsequent filtration through a 0.2  $\mu$ m polytetrafluoroethylene filter prepared the samples for liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) analysis. Each specimen underwent extraction and was analyzed in duplicate using an Agilent Technologies 6410 Triple Quad LC/MS system. Chromatographic isolation of the target analytes was performed on a C18 column (3.1-micron particle size, 150 mm  $\times$  2.1 mm, Phenomenex Kinetix) with a mobile phase composed of acetonitrile and water, each containing 0.1% formic acid. The volume injected for analysis was set at 5  $\mu$ l. According to Wang et al. (2005), employing a mobile phase acidified with formic acid enhances the separation and accurate quantification of quercetin. Therefore, solvent A was comprised of water with 0.1% formic acid, while solvent B contained acetonitrile with 0.1% formic acid. Identification of aromatic and phenolic compounds within the samples was achieved through comparisons of retention times and relative retention times.

### Statistical analysis

To assess the efficacy of raisin consumption on quercetin bioavailability, we employed t-tests to analyze the quercetin levels in urine samples before and after dietary intervention. Data analysis was performed using Microsoft Excel. Paired t-test was applied to compare the pre- and post-consumption quercetin levels within the same individuals. The objective was to determine the influence of raisin consumption on the absorption and metabolism of quercetin, as indicated by its urinary excretion. All statistical tests were conducted at a significance level of  $\alpha = 0.05$ . Findings were considered statistically significant if *P*-values were less than 0.05, suggesting notable differences in quercetin bioavailability due to raisin consumption.

## RESULTS AND DISCUSSION

Recent studies have affirmed the bioavailability and health benefits of dietary polyphenols, underscoring the role of the food matrix and gut microbiota in their absorption and metabolism. A recent review by Ed Nignpense et al. (2021) highlights the significant impact of the food matrix on polyphenol bioavailability, suggesting that whole foods like raisins may offer enhanced health benefits due to the synergistic effects of dietary fibers and polyphenols. This corroborates our findings on the increased urinary excretion of quercetin post-raisin consumption, emphasizing the importance of consuming whole foods to optimize polyphenol bioavailability.

### Phenolic content of raisins

The analysis of phenolic content in raisins involved three different extraction methods, with the Zhao and Halls (2008) method demonstrating the highest efficiency. Solvent concentration played a critical role in the yield of rutin. Specifically, 25% ethanol showed significantly higher rutin yields compared to 100% and 50% ethanol, which yielded the lowest rutin content (Table 1). Methanol and acetonitrile extracts produced lower levels of rutin compared to

ethanol, although methanol exhibited better extraction efficiency than acetonitrile. Notably, extracts with 5% and 100% methanol showed undetectable levels of rutin, with 5% methanol yielding significantly less rutin than 5% ethanol.

Recent advancements in extraction technologies emphasize the importance of selecting optimal methods to maximize the recovery of bioactive compounds. Alara et al. (2021) and Aydin (2023) discuss various modern extraction techniques that have enhanced the efficiency and specificity of phenolic compound recovery. Shi et al. (2022) further validate the role of advanced extraction technologies in improving the characterization and potential antioxidant activities of extracted phenolics. Additionally, Gil-Martín et al. (2022) provide insights into sustainable extraction methods that preserve the quality and enhance the recovery rate of phenolic compounds from plant materials. Chanioti et al. (2021) explore novel processes including encapsulation to protect the integrity of phenolic extracts, which could have implications for maintaining the bioactivity of raisin extracts.

Table 1. The rutin content ( $\mu\text{g/g}$ ) in raisins was obtained from ethanol extraction.

Solvent Concentration (%)	Ethanol ( $\mu\text{g/g}$ )	Methanol ( $\mu\text{g/g}$ )	Acetonitrile ( $\mu\text{g/g}$ )
5	63.2	None	None
25	82.2	62.2	61.8
50	None	64.6	None
75	62.2	62.7	60.6
100	None	None	None

These findings underline the importance of selecting an appropriate extraction method to maximize the recovery of phenolic compounds from raisins. Future research could provide further insights into optimizing polyphenol analysis in food matrices, potentially incorporating innovative extraction techniques such as those discussed by García-Villalba et al. (2019) and Vardakas et al. (2021), which have shown promise in enhancing the yield and bioavailability of polyphenols from various plant sources.

### Urinary excretion of quercetin

This study demonstrated a significant increase in urinary quercetin excretion following raisin consumption, underscoring the enhanced bioavailability of polyphenols from whole foods. The methodology, including a washout period and controlled diet, minimized background interference, ensuring that increases in urinary quercetin were attributable to raisin consumption. Hollman et al. (1999) indicated that the elimination half-life of quercetin is nearly 24 hours, hence a 48-hour washout period should be sufficient to clear pre-existing quercetin from the

urine. Recent advances in analytical techniques, such as LC/MS, have enabled more precise quantification and identification of quercetin and its metabolites in biological samples. This enhanced sensitivity allows for a more comprehensive assessment of quercetin absorption kinetics and metabolite profiles, providing valuable insights into individual variability and metabolism (Praticò et al., 2018). Therefore in the current study use of advanced LC/MS techniques provided precise quantification of quercetin and its metabolites, revealing subtle differences in retention times that reflect metabolic processing. The control urine (BU) of participants were collected the consumption of raisin. After that participants were asked to consume a standardized breakfast consisting of a slice of bread, butter, a banana, and 100 grams of Sun-Maid raisins. Following this meal, they were required to collect their urine over the next 24 hours (U24). Each participant received 9500 µg/100g of rutin via raisins, suggesting that total urinary quercetin excretion (UQ) should be less than 142.5 µg if excretion is below 1.5%. The difference between BU and U24 was significant ( $P < 0.05$ ). Standardized conditions were maintained for all participants during raisin consumption to minimize variability, as absorption of quercetin is known to be influenced by diet. Previous research by Hollman et al. (1995) indicated that quercetin absorption can be enhanced by conjugation with sugar. Volunteers were initially provided with a standardized meal before consuming 100 g of raisins, resulting in varied amounts of quercetin excreted in each participant's 24-hour urine samples ranged from 21.8 µg/ml to 238.8 µg/ml. The total urinary excretion of quercetin ranged from 2.4% to 0.17%, reflecting individual differences in absorption and metabolism (Table 2). The study's findings on the variability in quercetin levels in control urine samples resonate with recent literature, which has further elucidated the factors influencing quercetin absorption and metabolism. García-Villalba et al. (2019) demonstrated that individual variations in gut microbiota composition can significantly impact the bioavailability of dietary polyphenols like quercetin. This aligns with the observed variability

in quercetin levels in control urine samples, suggesting that differences in gut microbiota among participants may contribute to the disparate excretion patterns (Elizalde-Romero et al., 2021). These findings contribute to understanding polyphenol bioavailability and suggest that individual dietary backgrounds may significantly influence the metabolism of dietary polyphenols. The study verified the presence of quercetin in human urine samples and raisin extracts through two criteria: spiking urine samples and raisin extracts to increase expected peak heights and adding taxifolin as an internal standard to determine relative retention time. The verification of quercetin presence in urine samples and raisin extracts using established criteria, as described by Gómez-Mejía et al. (2020), ensures the reliability of the study's findings. Furthermore, the identification of losses during the extraction process, attributed to factors such as homogenization, echoes similar challenges reported in the literature (Gómez-Mejía et al., 2020). In the current study, losses during the extraction process were identified by calculating the lost taxifolin amount, with a total loss of 13.4% observed, potentially attributable to the homogenization process. Overall, the study's results contribute to the body of literature on quercetin absorption and metabolism, highlighting the importance of considering individual variability and methodological factors in such investigations.

In this study, the accuracy of our quercetin measurements by adding a known quantity (100 µg) of quercetin to 1.0 ml aliquots of urine from subject 101 in duplicate. In our experimental design, each participant consumed 100 grams of raisins, containing 95 µg/g of rutin, totaling 9500 µg of rutin per individual. According to Scalbert and Williamson (2000), the excretion rates of quercetin in urine typically do not exceed 1.5%, with specific excretion rates reported as 1.39% for onions and 0.44% for apples. The enzymatic hydrolysis of rutin to quercetin is facilitated by intestinal microflora through  $\alpha$ -rhamnosidase and  $\beta$ -glucosidase, leading to its subsequent absorption and excretion in bile and urine (Hai et al., 2020). Expected quercetin concentrations in

urine should be below 142.5 µg/ml yet in the current study's observations, quercetin concentrations ranged from 16.2 µg/ml to an atypical high of 229.3 µg/ml as displayed in Table 2. This variability highlights the influence of individual dietary habits and gut microbiota composition on quercetin metabolism, a factor

increasingly recognized in personalized nutrition science (Rudrapal et al., 2024). For instance, participant variability in quercetin excretion could reflect differences in gut microbiota or enzyme activity, affecting the hydrolysis and subsequent absorption of quercetin (Aghababaei and Hadidi, 2023).

Table 2. The amount of total excreted quercetin (µg/ml) in different participants for control urine (BU), 24-hour collected urine (U24) and the difference between BU and U24 (QU).

Subject code	103	105	107	111	113	116	118
BU	238.87	113.76	216.18	29.79	110.60	21.80	83.44
U24	9.55	17.34	12.13	2.28	1.56	5.58	3.73
UQ	229.31	96.41	204.04	27.51	109.04	16.21	79.71
*The total urinary excretion of quercetin (%)	2.41	1.01	2.15	0.29	1.15	0.17	0.84

\*The total urinary excretion of quercetin was calculated assuming all ingested rutin could potentially convert to quercetin.

Participant variability was notable: the highest excretion rate was observed in a participant who consumed chocolate on the third day, which might have influenced results due to its polyphenol content. The lowest excretion rate was recorded for participant 116, whose 24-hour urine sample contained only 21.8 µg/ml despite consistent raisin consumption across the study cohort. This variation could reflect individual metabolic differences or adherence to the dietary restrictions during the study period. For instance, participant 105, who consumed dried plums and pineapple, showed elevated control quercetin levels likely due to these foods' high polyphenolic content. Similarly, participant 107's diet included mayonnaise, which contains additional polyphenols from ingredients such as olive oil and herbs, potentially contributing to higher control and post-intervention quercetin levels.

Participants 111 and 113, who most strictly adhered to the exclusion diet, demonstrated the expected quercetin levels post-raisin consumption, with participant 113 exhibiting slightly higher levels than 111, possibly due to metabolic variations. This observation suggests differential absorption capacities among individuals, which could be critical for personalized nutritional advice. The excretion profiles of other polyphenols catechin,

epicatechin, caffeic acid, caftaric acid, and ferulic acid were consistently lower than quercetin. The distinctive absorption mechanics, which are heavily influenced by the glycosidic form of quercetin in foods and subsequent microbial hydrolysis in the gut, underscore the complexity of polyphenol metabolism (Day et al., 2000; Catalkaya et al., 2020; Makarewicz, et al., 2021; Li et al., 2023).

Participants who strictly adhered to the exclusion diet demonstrated more consistent and expected quercetin levels post-raisin consumption, emphasizing the impact of dietary background on polyphenol metabolism. The lower excretion profiles of other polyphenols such as catechin and epicatechin compared to quercetin underscore the specificity of microbial enzymatic activity on different polyphenolic structures, as noted in recent studies (Dabeek and Marra., 2019).

Furthermore, emerging research has emphasized the importance of considering the synergistic effects of polyphenols and other bioactive compounds present in food matrices, such as raisins, on quercetin absorption and bioavailability. Studies have shown that the matrix composition and food processing methods can influence the release and accessibility of quercetin, impacting its absorption and subsequent

excretion in urine (Arfaoui et al., 2021). Recent studies have highlighted that the consumption of other foods can significantly influence the absorption and metabolism of quercetin. The complex interactions within whole foods can modify the bioavailability and physiological impacts of polyphenols. For example, dietary fibers, sugars, and other polyphenolic compounds present in foods like raisins can interact synergistically with quercetin (Ulusoy and Sanlier., 2020; Dhanya., 2022). These interactions protect quercetin from rapid degradation in the digestive tract, enhance its solubility and stability, and facilitate a more sustained release and absorption in the gut (Michala and Pritsa., 2022; Aghababaei and Hadidi., 2023). Furthermore, the protective interactions between quercetin and the food matrix may enhance the permeability of quercetin across intestinal barriers, modify its metabolism by liver enzymes, and improve the systemic availability of its metabolites crucial for its biological activities (Ulusoy and Sanlier., 2020; Muñoz-Reyes et al., 2021). Therefore, future investigations should aim to elucidate the complex interactions between quercetin and other dietary components to better understand its overall bioactivity and health implications.

## CONCLUSION

The study conclusively demonstrated that raisin consumption significantly enhances the bioavailability of quercetin, as evidenced by increased urinary excretion rates. Specifically, participants exhibited a broad range of quercetin excretion rates, from 0.17% to 2.4%, which correlated with an intake of 9500 µg of rutin. These findings are indicative of the beneficial role of the raisin matrix in promoting quercetin absorption and stability, enhancing its systemic availability and metabolic utilization. Notably, individual differences in gut microbiota and dietary patterns were significant determinants of quercetin bioavailability, emphasizing the potential for personalized dietary recommendations to optimize the health benefits of polyphenols. Future research should focus on delineating the specific mechanisms within food matrices that affect polyphenol bioavailability and exploring the synergistic effects of other bioactive

compounds on quercetin absorption. This study enriches the current understanding of dietary polyphenols' bioavailability and sets the stage for further investigations into the complex interactions within whole foods that influence nutrient utilization.

## DECLARATIONS OF INTEREST STATEMENT

I declare that no conflicts of interest are associated with this manuscript.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This publication is part of the MSc thesis of Ebru Aydın, conducted under the supervision of Professor Gary Williamson at the University of Leeds. The author of this paper acknowledges Professor Williamson for granting permission to publish this article without his name as an author. A consent letter has been provided and submitted to the journal, indicating that this article is published with his consent. The author would like to express gratitude to Professor Williamson and his team for their invaluable support and the resources they provided, which significantly contributed to this research. This work is supported by the Ministry of Turkish Education.

## REFERENCES

- Aghababaei, F., Hadidi, M. (2023). Recent advances in potential health benefits of quercetin. *Pharmaceuticals*, 16(7), 1020. <https://doi.org/10.3390/ph16071020>.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, 4, 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>.
- Aydın, E. (2023) Phytochemicals from *Phillyrea latifolia* L. leaves and fruit extracted with various solvents: Their identification and quantification by LC-MS and antihyperglycemic effects. *Folia Horticulturae*, 35(1), 233-242. <https://doi.org/10.2478/fhort-2023-0018>.
- Chanioti, S., Katsouli, M., Tzia, C. (2021). Novel processes for the extraction of phenolic compounds from olive pomace and their protection by encapsulation. *Molecules*, 26(6),

1781. <https://doi.org/10.3390/molecules26061781>.
- Chen, L., Cao, H., Huang, Q., Xiao, J., Teng, H. (2022). Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(28), 7730-7742. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1917508>.
- Dabeek, W. M., Marra, M. V. (2019). Dietary quercetin and kaempferol: Bioavailability and potential cardiovascular-related bioactivity in humans. *Nutrients*, 11(10), 2288. <https://doi.org/10.3390/nu11102288>.
- Dhanya, R. (2022). Quercetin for managing type 2 diabetes and its complications, an insight into multitarget therapy. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 146, 112560. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112560>.
- Di Pede, G., Bresciani, L., Calani, L., Petrangolini, G., Riva, A., Allegrini, P., Mena, P. (2020). The human microbial metabolism of quercetin in different formulations: An *in vitro* evaluation. *Foods*, 9(8), 1121. <https://doi.org/10.3390/foods9081121>.
- Ed Nignpense, B., Francis, N., Blanchard, C., Santhakumar, A. B. (2021). Bioaccessibility and bioactivity of cereal polyphenols: A review. *Foods*, 10(7), 1595. <https://doi.org/10.3390/foods10071595>
- Elizalde-Romero, C. A., Montoya-Inzunza, L. A., Contreras-Angulo, L. A., Heredia, J. B., Gutiérrez-Grijalva, E. P. (2021). *Solanum* fruits: phytochemicals, bioaccessibility and bioavailability, and their relationship with their health-promoting effects. *Frontiers in nutrition*, 8, 790582. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.790582>.
- García-Villalba, R., Selma, M. V., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A. (2019). Identification of novel urolithin metabolites in human feces and urine after the intake of a pomegranate extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(40), 11099-11107. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04435>.
- Gil-Martín, E., Forbes-Hernández, T., Romero, A., Cianciosi, D., Giampieri, F., Battino, M. (2022). Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. *Food Chemistry*, 378, 131918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>.
- Hollman, P. C. H. Katan, M. B. (1999). Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 937-42. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(99\)00079-4](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(99)00079-4).
- Ishii, K., Furuta, T. Kasuya, Y. (2003). High-performance liquid chromatographic determination of quercetin in human plasma and urine utilizing solid-phase extraction and ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, 794, 49-56. [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(03\)00398-2](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00398-2).
- Michala, A. S., Pritsa, A. (2022). Quercetin: a molecule of great biochemical and clinical value and its beneficial effect on diabetes and cancer. *Diseases*, 10(3), 37. <https://doi.org/10.3390/diseases10030037>.
- Muñoz-Reyes, D., Morales, A. I., Prieto, M. (2021). Transit and metabolic pathways of quercetin in tubular cells: involvement of its antioxidant properties in the kidney. *Antioxidants*, 10(6), 909. <https://doi.org/10.3390/antiox10060909>.
- Nazari-Khanamiri, F., Ghasemnejad-Berenji, M. (2023). Quercetin and Heart Health: From Molecular Pathways to Clinical Findings. *Journal of Food Biochemistry*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/8459095>.
- Praticò, G., Gao, Q., Manach, C., Dragsted, L. O. (2018). Biomarkers of food intake for Allium vegetables. *Genes nutrition*, 13, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12263-018-0624-4>.
- Riva, A., Ronchi, M., Petrangolini, G., Bosisio, S., Allegrini, P. (2019). Improved oral absorption of quercetin from quercetin phytosome®, a new delivery system based on food grade lecithin. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 44, 169-177. <https://doi.org/10.1007/s13318-018-0517-3>.

- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., Suleria, H. A. R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81112-81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>.
- Tomou, E. M., Papakyriakopoulou, P., Saitani, E. M., Valsami, G., Pippa, N., Skaltsa, H. (2023). Recent advances in nanoformulations for quercetin delivery. *Pharmaceutics*, 15(6), 1656. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061656>.
- Ulusoy, H. G., Sanlier, N. (2020). A minireview of quercetin: From its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(19), 3290-3303. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1683810>.
- Vardakas, A. T., Shikov, V. T., Dinkova, R. H., Mihalev, K. M. (2021). Optimisation of the enzyme-assisted extraction of polyphenols from saffron (*Crocus sativus* L.) tepals. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 20(3). <https://doi.org/10.17306/J.AFS.0954>.
- Zhao, B. and Hall III, C. A. (2008). Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. *Food Chemistry*, 108, 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.003>.



## FİLAMENTLİ FUNGUSLARIN (KÜFLERİN) ALTERNATİF BESİN KAYNAĞI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

**Burcu KAYA, Yonca KARAGÜL YÜCEER\***

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

Geliş /Received 14.02.2024; Kabul /Accepted: 23.07.2024; Online baskı /Published online: 03.08.2024

Kaya, B., Karagül Yüceer, Y. (2024). Filamentli fungusların (küflerin) alternatif besin kaynağı olarak değerlendirilmesi. GIDA (2024) 49 (4) 751-765 doi: 10.15237/gida.GD24027

Kaya, B., Karagül Yüceer, Y. (2024). Evaluating filamentous fungi (molds) as a food source. GIDA (2024) 49 (4) 751-765 doi: 10.15237/gida.GD24027

### ÖZ

İnsan nüfusu ile artan besin ihtiyacı, gelecekte yeterli besin maddelerini içeren bir diyet erişimi giderek zorlaştıracaktır. Mevcut bitkisel ve hayvansal kaynaklı besinlerin varlığı iklime bağlıdır ve uzun vadede çevreye olumsuz etkileri olmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, sürdürülebilir diyet geçişi kolaylaştırmak ve teşvik etmek amacıyla alternatif kaynak arayışındadırlar. Filamentli funguslar karmaşık substratları parçalayarak değerli ürünlere dönüştürebilmektedir. Fermantasyon yoluyla elde edilen fungus biyokütlesi, protein, enzim, antioksidan madde, vitaminler, mineraller, çoklu doymamış yağ asitleri, organik asit ve lif gibi önemli esasiyel bileşiklerin kaynağıdır. Filamentli bir fungus olan *Fusarium venenatum* biyokütlesinden üretilen et benzeri dokuya sahip alternatif besin kaynağının en çok bilinen ticari örneği Quorn'dur. Son dönemde yapılan çalışmalar filamentli fungusları kullanarak gıda endüstrisi atık ve yan ürünlerinden katma değeri yüksek ürünler geliştirilmesi ve sürdürülebilirliğin sağlanmasına odaklanmıştır. Bu derleme filamentli funguslar kullanılarak gıda atık veya yan ürünlerinden biyokütle üretimi, bileşimi ve sağlık üzerine etkileri konularında yapılan çalışmalarını kapsamaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Biyokütle, gıda atık ve yan ürünü, filamentli fungus, mikoprotein, sürdürülebilir diyet

### EVALUATING FILAMENTOUS FUNGI (MOLDS) AS A FOOD SOURCE

#### ABSTRACT

The increasing human population and the consequent rise in food demand will make it progressively difficult to access a diet containing sufficient nutrients in the future. The availability of current plant and animal-based foods depends on climate and has negative effects on the environment in long-term. Therefore, researchers are looking for alternative sources to facilitate, and promote the transition to a sustainable diet. Filamentous fungi can break down complex substrates and convert them into valuable products. Fungal biomass obtained through fermentation is a source of important essential compounds such as proteins, enzymes, antioxidants, vitamins, minerals, polyunsaturated fatty acids, organic acids, and fibers. The most well-known commercial example of an alternative food source with meat-like texture produced from the biomass of a filamentous fungus, *Fusarium venenatum*, is Quorn. Recent studies have focused on the development of high-value-added products, and the achievement of sustainability by utilizing filamentous fungi to process food industry waste

\* Sorumlu yazar / Corresponding author

✉: yoncayuceer@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 0018/20051

☎: (+90) 286 218 0541

Burcu Kaya; ORCID no: 0000-0003-1755-7705

Yonca Karagül Yüceer; ORCID no: 0000-0002-9028-2923



and by-products. This review covers studies on biomass production from food waste or by-products using filamentous fungi, its composition, and its effects on health.

**Keywords:** Biomass, food waste and by-products, filamentous fungi, mycoprotein, sustainable diet

## GİRİŞ

Dünya nüfusunun, 2050 yılında yaklaşık 10 milyar kişiye ulaşacağı tahmin edilmektedir. Buna göre doğal kaynakların tükenmesi, artan insan nüfusu ile artan besin ihtiyacı, çeşitli salgın hastalıklar ve hayvancılığın sera gazına katkısı, günümüzün evrensel sorunları arasında yer almaktadır (Giavasis vd., 2019; Gastaldello vd., 2022; Ahmad vd., 2022). Tüm bu sorunlar daha sürdürülebilir diyetle geçişi kolaylaştırmak ve teşvik etmek için alternatif kaynak arayışı çalışmalarını hızlandırmıştır (Gastaldello vd., 2022). Sürdürülebilir diyet “gıda ve beslenme güvenliğine, şimdiki ve gelecek nesiller için sağlıklı yaşama katkısında bulunan düşük çevresel etkiye sahip beslenme” olarak tanımlanmaktadır (Atta-Delgado vd., 2023). Bundan dolayı son yıllarda araştırmacıların, küresel gıda sürdürülebilirliği için filamentli funguslardan elde edilen ve önemli besin içeriğine sahip olan mikoproteinlere odaklandığı görülmektedir (Derbyshire vd., 2023). Upcraft vd. (2021), pirinç samanını *Fusarium venenatum* ile mikoproteine dönüştürerek, elde edilen ürünün hayvansal ve bitkisel kaynaklı proteinlere alternatif bir besin olabileceğini rapor etmiştir. Tong vd. (2023), *Fusarium venenatum* suşundan elde edilen mikoprotein sentez oranının ve protein miktarının metabolik mühendislik çalışmaları ile artırılabilirliğini bildirmiştir. Braho vd. (2023), *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oligosporus* ve *Neurospora intermedia* filamentli funguslarından mikoprotein üretmek amacıyla, nar işleme endüstrisi yan ürünlerinin ve nar suyunun kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Ayrıca, araştırmacılar, nar kabuğu substratına maya ekstraktı eklenmesiyle biyokütle verimini 0.49 (g biyokütle/g kabuk) olarak belirlerken, aynı zamanda protein içeriğinin de önemli ölçüde (198.63 g/kg'a) yükseltilebileceğini tespit etmişlerdir.

Filamentli funguslar, karmaşık substratlardaki polimerleri parçalamakta ve bu polimerleri daha fazla ürüne metabolize ederek değerli ürünlere dönüştürebilmektedir. Organik asit, polisakarit, enzim, bitki büyüme düzenleyicisi, alkaloid,

pigment, mikotoksin ve antibiyotik funguslar tarafından üretilmektedir (El-Enshasy, 2007). Funguslar selüloz, ksilanaz, lignin peroksidaz, manganez peroksidaz, proteaz,  $\alpha$ -amilaz,  $\beta$ -ksilosidaz, amiloglukosidaz ve glukoamilaz gibi çeşitli enzimleri üretebilmektedir. Gelişmiş enzim sistemlerine sahip funguslar selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi kompleks polimerleri parçalayarak, monomerlerine dönüştürmektedir. Bu monomerlerin ileri derecede metabolize edilmesiyle organik asitler ve etanol gibi çeşitli ürün grupları üretilmektedir (Mahboubi vd., 2017a; Wikandari vd., 2022). Bu özellikleri nedeniyle filamentli funguslar organik asit, enzim, antibiyotik, steroid, yakıt gibi bazı ürünlerin üretimi için gıda, ilaç ve kimya endüstrisi gibi farklı sektörlerde kullanılmaktadır (Thunuguntla vd., 2018; Dzurendová vd., 2021). Bununla birlikte fermantasyon yoluyla elde edilen fungus biyokütlesi, protein, enzim, antioksidan madde, vitaminler, mineraller, çoklu doymamış yağ asitleri, organik asit ve sağlığa olumlu etkileri bulunan lif (glukan, kitin) gibi önemli biyoaktif bileşiklerin kaynağıdır (Vonsangnak vd., 2013; Rousta vd., 2022). Filamentli funguslar ürettikleri biyoaktif bileşikler (küçük moleküllü birleşikler ve enzimler) nedeniyle önemli mikrobiyal hücre fabrikaları olarak nitelendirilmektedir (Vonsangnak vd., 2013; Wösten, 2019). Bu faktörler göz önüne alındığında, filamentli funguslar, biyoatıkların değerli ürünlere dönüştürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Özellikle bazı filamentli fungusların yenilebilir ve Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen (GRAS) statüsünde yer alması, elde edilecek ürünlerin ticarileşme potansiyelinin yüksek olduğunu göstermektedir (Wikandari vd., 2022). *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Umbelopsis* ve *Rhizopus* endüstriyel öneme sahip en önemli filamentli fungus cinsleri arasında yer almaktadır (Dzurendová vd., 2021; Wikandari vd., 2022).

Bu derlemenin amacı filamentli fungusların alternatif besin kaynağı olarak değerlendirilmesi konusunda yapılan çalışmaları ortaya koyarak önemini vurgulamaktır.

## FİLAMENTLİ FUNGUSLAR

Funguslar bitki, protist, hayvan ve bakterilerden ayrı olarak sınıflandırılan en büyük ökaryot gruplarından biridir. Yenilebilir mantarların meyve veren gövdelerinin yanı sıra küfler ve mayalar gibi çok çeşitli mikromantar türlerini içeren bir gruptur (Schweiggert-Weisz vd., 2020). Yaklaşık 2-4 milyon fungus türü olduğu tahmin edilse de bunlardan yalnızca 120 bin tanesi tanımlanmıştır (Karimi vd., 2018). Funguslar *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Zygomycetes*, *Oomycetes* ve *Deuteromycetes* olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. *Actinomucor*, *Anylomyces*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Monascus*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Endomyces*, *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Trichosporon* ve *Zygosaccharomyces* gibi cinslerin ise gıda biyoteknolojisi uygulamalarında yer aldığı bildirilmektedir (Amara ve El-Baky, 2023; Hyde vd., 2019). Birçok fungus saprofit olup organik maddelerin ayrıştırıcıları olarak çevrede önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle organik maddenin dönüşümü ve mineralizasyonu için çok önemlidirler (Lübeck ve Lübeck, 2022). Funguslar ortamdaki organik maddeleri hücre dışında sindirerek absorbe etmekte ve karbon ihtiyaçlarını karşılamaktadır (Amara ve El-Baky, 2023). Bununla birlikte birçok fungus, gelişimleri ve metabolizmaları için azotu ve diğer besinleri tamamen absorbe etme kapasitesine sahiptir. Azottan ihtiyaç duyulan tüm farklı amino asitleri sentezleyebilmektedirler (Lübeck ve Lübeck, 2022).

### Fungal gelişim

Fungal gelişimin gerçekleşmesi için substratın inhibe edici bileşikleri içermemesi, karbon ve azot elementlerini içermesi gerekmektedir. Bununla birlikte besiyeri içerisinde yüksek miktarda glukoz (30-450 g/L) bulunması önerilmektedir. Genellikle 10-35 °C sıcaklık değerleri arasında gelişim gösterse de bazı türler bu değerlerin üzerinde veya düşük sıcaklıklarda gelişebilmektedir. Funguslar sıcaklık toleranslarına göre psikrotolerant, psikrofilik, mezofilik, termotolerant ve termofilik olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca funguslar genellikle geniş pH aralığında (2.6-9.0) gelişim göstermekte

olup, optimum gelişim pH'sı 4.0 ve 5.0 arasında değişmektedir (Awasthi vd., 2022).

Fungal gelişimin tek hücreli (maya) ve hifli olmak üzere iki ana formu vardır. Dimorfik (iki gelişim formunu gösteren) yapı sergileyen bazı funguslar besin, oksijen veya sıcaklık gibi çevresel koşullardaki değişikliklere göre maya benzeri veya misel form arasında geçiş yaparak gelişim gösterebilmektedir. Genellikle filamentli fungusun yaşam döngüsü tek bir sporun çimlenmesiyle başlamaktadır. Ardından germ tüpü uzayarak, hif olarak adlandırılan boru şeklindeki filamentler oluşur. Hif, fungusların çevreden besinleri alan ana yapı taşıdır. Hif büyümeye ve dallanmaya devam ettikçe miselyum adı verilen çapraz bağlı hif topluluğu oluşmaktadır (Barzee vd., 2021).

### BIYOKÜTLE ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Katı hal fermantasyonu ve derin kültür fermantasyonu teknikleri filamentli funguslardan biyokütle üretiminde kullanılmaktadır. Katı hal fermantasyonu, filamentli fungusun, nemli ve çözünmeyen katı substratı (susuz veya az miktarda serbest su içeren ortam) besin kaynağı olarak kullanılması sonucu gerçekleşen bir fermantasyon sürecidir (Yafetto, 2022). Özellikle Asya ülkelerinde, *Rhizopus oligosporus* ile üretilen tempeh ve *Neurospora intermedia* ile üretilen oncom gibi fermente gıdaların üretimi için katı hal fermantasyonu kullanılmaktadır (de Lima vd., 2021). Son dönemde katı hal fermantasyonu ile yapılmış çalışmalar kahve posası ve kabuğu, şeker kamışı, agav küspesi, meyve posaları ve kabukları, mısır koçanı gibi substratları kullanarak biyoaktif fenolik bileşikler üretmeyi amaçlamıştır (Meini vd., 2021). Ancak düşük su ve enerji tüketimi ile ilişkilendirilse de katı hal fermantasyonundaki ölçek büyütmede karşılaşılan sorunlar, bu fermantasyonu küçük ölçekli fermente gıda üretimi ile sınırlandırmaktadır. Günümüzde filamentli funguslardan enzim, organik asit ve çeşitli biyoaktif bileşenleri üretmek için genellikle derin kültür fermantasyonu kullanılmaktadır (Rousta vd., 2022).

Funguslar 3 aşamada gelişim göstermektedir. İlk olarak spor şişmesi, spor çimlenmesi, hif uzaması

ve dallanma işlemlerini içeren mikromorfolojik büyüme gerçekleşmektedir. Ardından hif ağının veya fungus peletinin gelişimini kapsayan makromorfolojik büyüme meydana gelmektedir. Son olarak ise fungus hücresi otoliz olmaktadır (El-Enshasy, 2007). Miselyum morfolojisi fungal biyokütle ve metabolitlerinin üretimi üzerine önemli etkiye sahiptir. Derin kültür fermantasyonu ile gelişen bir fungus, geliştiği substratın viskozitesinin artmasına, besin, oksijen ve ısı transferinin azalmasına yol açmaktadır. Substratın Newton tipi olmayan akış modeli sergilemesine neden olan bu durum, verimli karıştırmayı sağlamak için üretim maliyetlerini arttıran daha fazla enerji kullanımını gerektirmektedir (Barzee vd., 2021). Ancak derin kültür fermantasyonu, farklı tipte reaktör tasarımı seçeneği, ölçeklenebilir üretim sağlaması ve endüstriyel uygulamalar ile onaylanmış

araştırmaların bulunması nedeniyle daha avantajlıdır. Katı hal ve derin kültür fermantasyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları karşılaştırmalı olarak Çizelge 1’de gösterilmiştir. Derin kültür fermantasyon tekniği kullanılarak daha yüksek konsantrasyonda biyoaktif bileşenin üretimi gerçekleştirilmektedir. Örneğin yapılan bir araştırmada filamentli funguslar tarafından üretilen biyoaktif bileşen olan L-karnitin üretimi araştırılmıştır. Sonuç olarak yarı sentetik bir ortamda *Aspergillus oryzae* türünün derin kültür fermantasyonu ile ürettiği L-karnitin konsantrasyonu, katı hal fermantasyonunda üretilenden daha yüksek bulunmuştur (Rousta vd., 2021). Bununla birlikte derin kültür fermantasyonu ile fungus biyokütlesinden (*Fusarium venenatum*) üretilen, Quorn gibi bazı ticari gıda ürünleri örnek verilebilmektedir (Rousta vd., 2022).

Çizelge 1. Katı hal ve derin kültür fermantasyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajları  
(Strong vd., 2022)

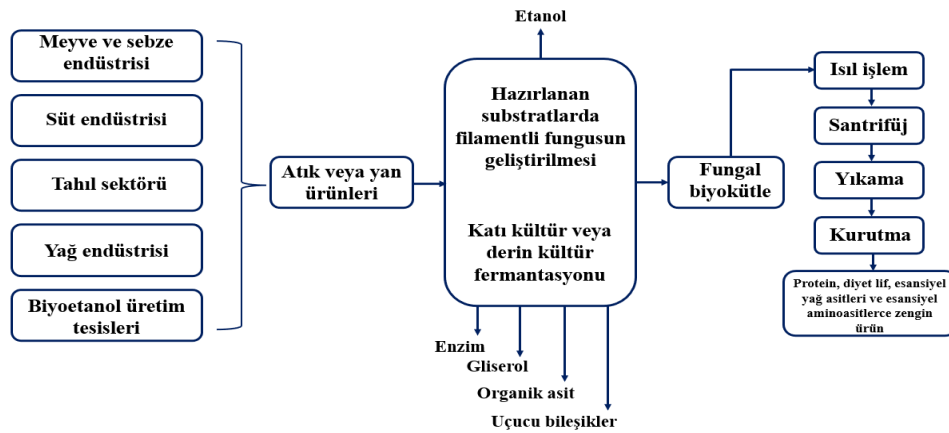
	Avantaj	Dezavantaj
Katı hal fermantasyonu	-Ucuz ve yüksek oranda substrat varlığı -Düşük su tüketimi ve atık -Substrata dayalı/optimize hücre dışı enzim üretimi -Doğal habitatları taklit etmesi	-Derin kültür fermantasyonundan daha yavaş gelişme -Ölçek büyütme zorlukları -Proses kontrol zorlukları (havalandırma, nem, pH ve ısı transferi) -Fermantasyon sonrası biyokütlenin toplanması
Derin kültür fermantasyonu	-Uygun tasarımlı reaktör seçeneği -Daha hızlı misel gelişmesi -Üstün proses kontrolü (Sıcaklık, havalandırma ve pH) -Ürün ayırma kolaylığı (Biyokütle ve çözünür ürünler)	-Yüksek su kullanımı ve atık -Misel üzerinde kayma gerilimi -Doğal koşullara kıyasla farklı beslenme/biyoaktif maddeler -Yüksek sermaye ve işletme maliyetleri

Katı hal ve derin kültür fermantasyon teknikleri, fungal biyokütlenin gelişimi için gerekli olan besin ortamını sağlamaktadır. Ancak her iki üretim stratejisinde de besiyeri içeriğindeki herhangi bir değişiklik filamentli fungustan üretilen metabolit ve biyokütle verimini etkilemektedir (Karimi vd., 2018). Örneğin derin kültür yönteminde misel yapısının oluşumuna pH, havalandırma, karbon kaynağı, substrat konsantrasyonu, inokulum konsantrasyonu ve elemental bileşim gibi faktörler etki etmektedir (Awasthi vd., 2022).

Genellikle glukoz ve fruktoz gibi şekerleri içeren sentetik besiyerlerinde ortam parametrelerini kontrol altına almak mümkündür. Ancak sentetik besiyerlerinin maliyetinin yüksek olması bu durumu dezavantaja dönüştürmektedir. Bu sorunun giderilmesi ve atık yönetiminin sürdürülebilirliği amacıyla araştırmacılar, mikrobiyal gelişim için bezelye, patates, şeker ve hurma gibi çeşitli endüstri atık veya yan ürünlerinin kullanımına yönelmiştir (Hashempour Baltork vd., 2020). Substrat olarak kullanılacak

atık veya yan ürünlerin biyolojik olarak kolay parçalanabilmesi, ucuz olması, kolay temin edilebilmesi, yeterli miktarda mikro ve makro besin elementlerini içermesi gerekmektedir (Karimi vd., 2018). Gıda endüstrisi atık ve yan ürünlerin substrat olarak kullanılmasıyla filamentli funguslardan biyokütle ve metabolik ürünlerin üretimi Şekil 1'de şematize edilmiştir. Buna göre katı kültür veya derin kültür fermantasyon yöntemleri kullanılarak, biyokütle üretimi sağlanmaktadır. Bununla birlikte etanol, enzim, gliserol, organik asit ve uçucu bileşikler fermantasyon sonucu ortaya çıkan ilk ürünlerdir. Fermantasyonun ardından fungal biyokütleyle bir seri işlem uygulanmasıyla ise protein, diyet lif,

esansiyel yağ asitleri ve aminoasitlerce zengin ürün üretilmektedir. Hashempour Baltork vd. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, *Fusarium venenatum* hurma atıklarında geliştirilmiş ve protein içeriği %55 olan fungal biyokütle elde edilmiştir. Gıda atık veya yan ürünlerinin substrat olarak değerlendirildiği bazı çalışmalarda, araştırmacılar substrata çeşitli ön işlemler (ısı işlem, kızgın buhar, enzim vb.) uygulayarak elde edilen son ürünün protein değerini arttırmaya çalışmıştır. Gıda atık veya yan ürünleri kullanılarak, filamentli funguslardan protein üretimini amaçlayan, 2010-2023 yıllarında yapılmış bazı çalışma örnekleri Çizelge 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Gıda endüstrisi atık ve yan ürünlerinin substrat olarak kullanılmasıyla filamentli funguslardan biyokütle ve metabolik ürünlerin üretim aşamaları (Karimi vd., 2018)

Funguslar üzerinde yapılan biyoteknolojik çalışmalar uzun bir süre boyunca metabolik ürünlerin üretimine odaklanmıştır. Ancak son dönemde, fungal biyokütelerin temel gıda maddesi olarak kullanımının araştırılması konularında çalışmaların arttığı görülmektedir.

## FUNGAL BİYOKÜTLE BİLEŞİMİ

### Protein

Fungal biyokütlenin protein içeriği, fungus türüne ve gelişme faktörlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Zygomycetes ve Ascomycetes sınıfı funguslar genellikle %40-50 arasında ham protein içermektedir. Ancak biyokütlenin geliştiği kültür ortamındaki azot gibi besin maddeleri, protein içeriğini önemli düzeyde etkilemektedir. Biyokütlenin toplanması, suyun giderilmesi ve kurutma gibi prosesler ise protein miktarını etkileyen diğer faktörlerdir (Karimi vd., 2018).

İnsanlar için protein sindirilebilirliğini ölçmeye yönelik standartlar in vivo denemeleri içeren Sindirilebilirliği Düzeltilmiş Amino Asit Skoru (PDCAAS) ve Sindirilebilir Vazgeçilmez Amino Asit Skoru (DIAAS)'dur (Wang vd., 2023). Fungal biyokütle olan mikoprotein protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skorunun (PSDCAAS) 0.996 olduğu bildirilmektedir (Ahmad vd., 2022; Hashempour-Baltork vd., 2023). Yapılan bir çalışmada, süt proteininin sindirilebilirliği %95 iken, *Fusarium graminearum* türüne ait proteinin %78 olduğu saptanmıştır (Wang vd., 2023). Başka bir çalışmada, *Fusarium venenatum*'dan elde edilen proteinin PDCAAS oranının yumurta beyazına çok yakın olduğu ancak tavuk ve sığır etinden daha düşük olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2023; Ahmad vd., 2023).

Çizelge 2. Gıda atık veya yan ürünleri kullanılarak filamentli funguslardan protein üretimi

Substrat, Ön işlem, Besin Takviyesi	Mikroorganizma	Protein verimi (kuru fungal biyokütlede)	Referanslar
Ekmek atıkları	<i>Rhizopus delemar</i>	%35	Mousavi vd., 2023
Elma posası, 100 °C, 60 dakika ısı işlem	<i>Mucor indicus</i>	0.50 (g/g biyokütle)	Borujeni vd., 2022
Pirinç kepeği, kızgın buhar	<i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>	%11.04 %15.25	Yang vd., 2021
Kuru öğütülmüş mısır, üre ilavesi	<i>Mucor indicus</i> <i>Rhizopus oryzae</i>	%35 %38	Barnharst vd., 2021
Atık ekmek	<i>Rhizopus delemar</i>	%27.40 - 35.80	Svensson vd., 2021
Hurma atıkları	<i>Fusarium venetatum</i>	%55	Hashempour-Baltork vd., 2020
Atık buğday ekmeği	<i>Neurospora intermedia</i>	%33	Gmoser vd., 2019
Bezelye yan ürünü	$\alpha$ -amilaz	<i>Monascus purpureus</i>	%53.61
		<i>Aspergillus oryzae</i>	%43.13
	enzimsiz	<i>Fusarium venenatum</i>	%55.28
		<i>Neurospora intermedia</i>	%54.53
		<i>Rhizopus oryzae</i>	%50.03
		<i>Monascus purpureus</i>	%58.66
		<i>Aspergillus oryzae</i>	%46.36
		<i>Fusarium venenatum</i>	%59.75
		<i>Neurospora intermedia</i>	%54.11
		<i>Rhizopus oryzae</i>	%54.79
Peynir altı suyu	<i>Aspergillus oryzae</i>	%40	Mahboubi vd., 2017a
Ananas kabuğu (96 saat inkübasyon)	<i>Trichoderma viride</i>	%11.21	Aruna, 2019
Manyok kabuğu	Fungal amiloglukosidaz	%37.63	Ezekiel vd., 2010
	enzimsiz	%36.52	

### Diyet Lifi

Diyet lifi, gastrointestinal enzimler tarafından sindirime direnç gösteren selüloz, hemiselüloz, pektin ve lignini içeren polisakkaritlerin bir karışımıdır (Zhang vd., 2023). Fungal hücre duvarı üçte ikisi  $\beta$ -glukan ve üçte biri kitinden oluşan lifli kitin-glukan matrisidir. Bu matrisin %12'si çözünür, %88'i ise çözünmez formdadır (Ahmad vd., 2022). Fungal hücreler, bu duvardaki  $\beta$ -glukanları genellikle pirofosforilaz ile oluşturulan şeker nükleotit birimlerinden sentezlemektedir (Giavasis vd., 2019).  $\beta$ -glukanlar, D-glukoz ünitelerinin  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6) glikozidik bağları ile çapraz bağlanması sonucu oluşan polisakkarit yapılarıdır. Çözünmeyen diyet lif formunun yüksek su ve yağ tutma kapasitesi vardır. Bundan dolayı yapılan çalışmalar, bu yapının kardiovasküler hastalık riskini azalttığını, glukoz metabolizmasını geliştirdiğini,

gastrointestinal kanaldaki viskoziteyi arttırarak, gastrointestinal sistemin fizikokimyasal davranışını modüle ettiğini göstermiştir (Colosimo vd., 2021; Zhang vd., 2023). Buna ek olarak Harris vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, mikoprotein ve mikoprotein saflaştırılmış diyet lifi fraksiyonunun fermente edilebildiği ve kısa zincirli yağ asidi üretilebildiği bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar mikoprotein ve mikoprotein lifinin, asetat yerine propiyonat ve bütirat üretimini teşvik ettiğini saptamıştır. Avrupa Komisyonu standartlarına (EC, 2008) göre bir fungal biyokütle olan mikoprotein, yüksek lifli olarak nitelendirilmekte ve 100 gramında en az 6 g lif içermektedir (Derbyshire ve Delange, 2021).

### Lipit

Lipitler, serbest yağ asitleri, steroidler, sfingolipitler, glikolipitler, nötr lipitler ve

fosfolipitler olmak üzere altı grupta sınıflandırılmaktadır. Bu bileşikler fungus hücre zarında önemli yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahipken, hücre metabolizması için ana enerji kaynaklarından biridir. Funguslar, substrat lipitleri ve yağları, serbest yağ asitleri ve gliserole parçalayan lipazları üretebilme yeteneğine sahiptir (Karimi vd., 2018). Filamentli funguslardaki palmitik ve stearik asitler, palmitoleik, oleik, linoleik ve linolenik asitler gibi çeşitli yağ asitleri membran fosfolipitleri ve triaçilgliserol içinde bulunmaktadır (Karimi vd., 2018).

Çoklu doymamış yağ asitleri, hücre zarlarında yapısal işlevi olan ve hormonların biyosentezi için öncü olarak görev yapan vitamin benzeri bileşiklerdir. En çok bilinenleri, ticari açıdan ilgi çekici olan, ancak elzem olmayan ve fungal sentez yolu ile üretilen araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asittir (Copetti vd., 2019). Bununla birlikte filamentli funguslar, gamma-linoleik asit, omega-6 yağ asidi ve omega-3 yağ asidi gibi elzem olan çoklu doymamış yağ asitlerinin de önemli kaynağıdır (Vongsangnak vd., 2013). Örneğin fungal biyokütle olan mikoprotein 100 gramında, 4.3 g omega-6 yağ asidi ve 6.9 g omega-3 yağ asidi bulunmaktadır (Ahmad vd., 2022). Bununla birlikte *Mortierella alpina* araşidonik asidin ticari üretiminde kullanılmakta ve balık yağı takviyeleri bebek mamaları formülasyonuna ilave edilmektedir (Vongsangnak vd., 2013).

### Mikrobesein

Bitkiler gibi, filamentli funguslar da C (askorbik asit) vitamini, B<sub>6</sub> (piridoksin) vitamini, B<sub>2</sub> (riboflavin) vitamini, nikotinik asit ve nikotinamid gibi suda çözünen vitaminlerin bazılarını sentezleyebilmektedir (Karimi vd., 2018). Bir fungal biyokütle olan mikoprotein B<sub>9</sub> (folat), B<sub>12</sub> vitamini, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve çinko mikroelementleri bakımından zengindir (Lübeck ve Lübeck, 2022). Ayrıca yapılan bir çalışmada mikoprotein 100 gramında, yaklaşık 180 mg kolin bulunduğu bildirilmiştir (Derbyshire ve Delange, 2021). Yapılan farklı bir çalışmada ise fungal biyokütle olarak adlandırılan mikoprotein B<sub>2</sub> ve D vitaminlerini içerdiği ancak A, C ve E vitaminlerini içermediği

belirtilmiştir (Dunlop vd., 2017). Buna karşın Rousta vd. (2022) yulaf unu ve sentetik besiyerlerinden elde ettiği *Aspergillus oryzae* biyokütlesinin, E ve D<sub>2</sub> vitaminlerini içerebileceğini saptamıştır.

Birçok canlı organizmada, serbest radikallerin (azot, oksijen vd.) varlığı ve birikimi, yapısal lipitlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek, organizmanın genel sağlık durumunu olumsuz etkilemektedir. Filamentli funguslar, ergotionin, fenolik asitler, flavonoidler, tokoferoller, askorbik asit, karotenoidler, poliketidler, terpenler ve steroidler gibi çeşitli antioksidan maddelerin kaynağı olabilmektedir (Karimi vd., 2018). Mikroorganizmalar ürettikleri hidrolitik enzimler aracılığıyla, substrattaki bağlı veya konjuge fenoliklerin hidrolizini gerçekleştirebilmektedir (Zheng vd., 2007; Gulsunoglu Konuskan ve Kilic Akyılmaz, 2022; Slama vd., 2021). Örneğin Meini vd. (2021), üzüm posasındaki polifenollerini açığa çıkarabilmek için, posayı *Aspergillus niger* ve *Aspergillus oryzae* kullanarak katı hal fermantasyon tekniği ile fermente etmiştir. Buna göre araştırmacılar enzim üretimi, polifenol salınımı ve antioksidan aktivite arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte serbest fenoliklerin mikrobiyal biyodönüşümü ve mikroorganizmaların sekonder metabolizması ile yeni fenolik bileşiklerin biyodönüşümü olmaktadır (Zheng vd., 2007; Gulsunoglu Konuskan ve Kilic Akyılmaz, 2022; Slama vd., 2021). Mikrobiyal biyodönüşüm yolları, faz I (oksidasyon, indirgeme ve hidroliz) ve faz II (konjugasyon reaksiyonları) olarak sınıflandırılan bir dizi reaksiyondan oluşmaktadır. Fenolik bileşiğe bağlı olmakla birlikte, bitkisel materyalin mikrobiyal fermantasyonunda faz I ve/veya faz II reaksiyonları meydana gelebilmektedir (Mccarthy ve Sinal, 2005; Gulsunoglu Konuskan ve Kilic Akyılmaz, 2022). Örneğin, Odinot vd. (2017) yaptıkları çalışmada, kolza tohumu ununda doğal olarak bulunan sinapik asidin (4-hidroksi-3,5-dimetoksisinamik asit) kanolole iki aşamalı biyodönüşüm sürecini gerçekleştirmiştir. Araştırmacılar sürecin ilk aşamasında, *Aspergillus niger* BRFM451 rekombinant suşuna ait feruloil esteraz tip-A enzimi aracılığıyla, ham substratta konjuge formdaki sinapik asidin serbest forma

geçmesini sağlamıştır. İkinci aşamada ise *Neolentinus lepidus* BRFM15 suşunun derin kültür fermentasyonu ile sinapik asidin oksidatif olmayan dekarboksilasyon yolu ile kanolole biyolojik dönüşümünü gerçekleştirilmiştir.

### FİLAMENTLİ FUNGUSLARIN GIDALARDA KULLANIMI

Gıda üretiminde filamentli fungus kullanımı, 3000 yıllık bir geçmişe sahiptir. Özellikle Asya ülkelerinde üretilen koji ve soya sosu uzun geçmişe sahip olan geleneksel ürünlerdir (Barzee

vd., 2021). Starter kültür olarak kullanılan *Aspergillus oryzae* ve *Aspergillus sojae*, salgıladıkları enzimler aracılığı ile soya fasulyesini parçalayarak koji ve soya sosuna özgü aroma maddelerinin oluşumunu sağlamaktadır. Bununla birlikte *Neurospora intermedia* ise Endonezya'nın Java adasında, soya fasulyesi bazlı bir ürün olan oncomun üretilmesinde kullanılmaktadır (Mahboubi vd., 2017a; Mahboubi vd., 2017b). Günümüzde filamentli fungus kullanılarak üretilen çeşitli geleneksel ve ticari gıda ürünleri Çizelge 3'te listelenmiştir.

Çizelge 3. Filamentli fungus kullanılarak üretilen geleneksel ve ticari gıda ürünleri

Ürün	Filamentli fungus	Tanım	Ülke	Referanslar
Tempoh	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Fermente soya fasulyesi	Endonezya	Wikandari vd., 2022
Douchi	<i>Aspergillus oryzae</i>	Fermente soya fasulyesi	Çin	Wang vd., 2008
Red koji	<i>Monascus</i> spp.	Fermente pirinç	Çin	Zeng vd., 2020
Tofuyo	<i>Monascus purpureus</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	Fermente soya peyniri	Japonya	Yasuda vd., 2012
Awamori	<i>Aspergillus awamori</i>	Fermente pirincin damıtılması ile üretilen alkollü içecek	Japonya	Barzee vd., 2021
Furu/Sufu	<i>Actinomucor</i> spp. <i>Mucor</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp.	Fermente soya peyniri	Çin	Wei vd., 2023
Meju	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Botrytis</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp.	Fermente soya fasulyesi	Kore	Kim vd., 2017
Miso	<i>Aspergillus oryzae</i>	Fermente soya fasulyesi	Japonya	Karimi vd., 2018
Red oncom	<i>Neurospora sitophila</i> <i>Neurospora intermedia</i>	Fermente tofu atıkları	Endonezya	Wikandari vd., 2022
Black oncom	<i>R. microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> <i>Mucor</i> türleri	Yer fıstığı tortusu ve manyok tozu (siyah oncom) karışımı		
Gari	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Fusarium</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	Fermente ve kavrulmuş manyok	Güney Afrika	Wikandari vd., 2022
Quorn	<i>Fusarium venenatum</i>	Fungal biyokütleden oluşan et yapısı	İngiltere	Wikandari vd., 2022
Mavi küflü peynir	<i>Penicillium roqueforti</i>	Sütün filamentli fungus ile fermente edilmesiyle yapılan mavi peynir	Avusturya	Wikandari vd., 2022
Camembert peyniri	<i>Penicillium camembert</i>	Yüzeyi küfle olgunlaştırılmış peynir	Fransa	Wikandari vd., 2022

Yumurtaya benzer protein içeriğine ve sığır etine benzer sindirilebilirliğe sahip olması nedeniyle mikoprotein, et alternatifi olarak tüketilen ve filamentli fungus biyokütlesinden elde edilen, protein açısından zengin besin olarak tanımlanmaktadır (Wikandari vd., 2022). Ancak mikoprotein, proteinlerin yanı sıra amino asitler, yağlar, karbonhidratlar, vitaminler ve mineraller gibi diğer besin bileşenlerini de içermektedir (Zepka vd., 2010; Stoffel vd., 2019). Protein içeriğinin yüksek olması nedeniyle mikoprotein olarak nitelendirilmesine rağmen mikoprotein, içerisinde farklı besin maddelerini bulunduran fungal bir biyokütledir. Bundan dolayı literatürde geçen 'mikoprotein' teriminin bazen kavram karışıklığına neden olabildiği düşünülmektedir. Günümüzde mikoprotein en önemli ticari ürün örneği, *Fusarium venenatum* filamentli fungusundan üretilen Quorn'dur. 1970'lerde Rank Hovis McDougall ve Imperial Chemical Industries şirketlerinin ortak girişimi olarak ortaya çıkan Quorn, derin kültür ile geliştirilmiş *Fusarium venenatum* suşunun misellerinin filtrelenmesiyle endüstriyel olarak üretilmektedir (Stoffel vd., 2019).

Mikoprotein ürünü olan Quorn'nun üretim süreci birkaç aşamadan oluşmaktadır. Öncelikle *Fusarium venenatum* karbonhidrat içeren bir substratta, 28-30°C sıcaklık ve pH 6'da yaklaşık altı hafta boyunca hava kaldırmalı fermentörlerde fermente edilmektedir (Saeed vd., 2023). Fermantasyonun ardından sıvı faz 30-45 dakika süreyle 68 °C'nin üzerinde ısı şokuna maruz bırakılmaktadır. Böylece ürün içerisindeki RNA konsantrasyonu güvenli seviyelere (%10'dan %2'den daha düşük seviyelere) düşürülmektedir. RNA seviyesi güvenli seviyelere düşürülen sıvı 90 °C'de ikinci bir ısıtma işlemine tabi tutulmaktadır. Santrifüjün ardından ise mikoprotein biyokütlesi ve süpernatant elde edilmektedir (Lonchamp vd., 2022). İşlenen biyokütle ise bir bağlayıcı ajan (yumurta albümini veya patates proteini) ile karıştırılmakta ve et benzeri bir doku elde etmek amacıyla bir dizi işlem (buhar, soğutma, dondurma ve presleme) geçirilmektedir. Sonuç olarak protein açısından zengin bir et analogu olan Quorn ortaya çıkmaktadır (Strong vd., 2022). Mikoprotein ürünlerinin yasal olarak satışına

Birleşik Krallık'ta 1985, Avrupa ülkelerinde ise 1991 yıllarında başlamıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan Marlow Foods şirketi tarafından üretilen Quorn ürünleri, Gıda ve İlaç İdaresi tarafından 2001 yılında GRAS statüsüne alınmış ve 2002 yılında Amerika Birleşik Devletleri pazarına girmiştir (Finnigan vd., 2016; Gibbs ve Leung, 2023). Quorn Birleşik Krallık'ta ve dünya çapında 17 farklı ülkede satılan et yerine geçen ürünlere dahil edilmektedir (Cherta-Murillo vd., 2023).

AB Enzymes, BASF, Bayer, Chr. Hansen, Dyadic International, DSM, DuPont, Kerry Group, Monde Nissin, Novozymes, Ginkgo Bioworks ise filamentli fungusların büyük ölçekli ticari kullanımı ile ilgilenen diğer biyoteknoloji şirketleri arasında yer almaktadır (Strong vd., 2022). Araştırmacılar *Fusarium venenatum* dışında, *Aspergillus oryzae*, *Monascus purpureus*, *Paradendryphilla salina*, *Plentorus albidus*, *Neurospora intermedia* ve *Rhizopus oryzae* gibi filamentli funguslardan da farklı fermantasyon teknikleri (derin kültür fermantasyonu, katı hal fermantasyonu ve yüzey kültür yöntemi) ile mikoprotein üretilebileceğini bildirmiştir (Ahmad vd., 2022).

Filamentli fungus miselyumu, diğer mikroorganizmaların hücre duvarlarına bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Bundan dolayı son ürünün besin değeri, dokusal özellikleri, tat ve renk gibi görünüş özelliklerine olumlu etki sağlayan diğer mikroorganizmalar için taşıyıcı ortam olarak da kullanılabilir (Barzee vd., 2021). Örneğin uygun koşullar altında sıvı kültürlerdeki birçok fungus türü mikroalg hücreleri ile bir araya gelerek kümeleşmektedir (Barzee vd., 2021; Wang vd., 2022). Wang vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus oryzae* ve *Chlorella pyrenoidosa*'nın kombinasyonu ile atık su arıtılırken, atık sudaki besinlerin yararlı mikrobiyal biyokütleyle dönüştüğü bildirilmiştir. Serbest alg hücreleri ve mantar hücrelerinin 72 saat içinde bir araya gelerek kümeleştiğini saptayan araştırmacılar, bu kombinasyonun biyokütlenin protein (1.92 g/L) ve lipit içeriğini (0.99 g/L) önemli düzeyde geliştirdiğini bildirmiştir.



## SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ

Fungal biyokütle, önemli miktarda protein, yağ, amino asit ve karbonhidrat (kitosan, kitin vb.) içermektedir. Ancak yüksek nükleik asit içeriği nedeniyle, uzun süreli kullanımın memelilerde, plazma ürik asidini arttırarak, gut ve böbrek taşı oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Karimi vd., 2018).

Mikoprotein, daha iyi bir plazma lipid profili ve yemek sonrası glikemik indeks kontrolü gibi sağlığı teşvik edici çeşitli etkileri olan, sürdürülebilir bir protein kaynağı olarak önerilmektedir (Elango ve Laviano, 2019). 100 g kuru mikoproteinde 45 g protein, 25 g lif, 13 g yağ, 10 g karbonhidrat, vitamin ve mineral (selenyum, çinko, sodyum) bulunmaktadır (Finnigan vd., 2016; Souza Filho vd., 2018). Ancak demir ve B<sub>12</sub> vitamini seviyeleri kırmızı ettekine göre daha düşüktür (Souza Filho vd., 2018). Hayvan toksikoloji çalışmaları, mikoproteinin akut veya kronik maruziyetten kaynaklanan sağlık sorunlarına neden olmadığını ve hayvan türlerinde normal büyüme ve gelişmeyi desteklediğini göstermiştir (Finnigan vd., 2016). Klinik çalışmalar ayrıca mikoprotein bir dizi potansiyel fizyolojik faydaya sahip olduğunu göstermiştir. Hem protein hem de lif açısından zengin olması ve büyük ölçüde doymamış yağ içeriğine sahip, karbonhidrat oranının düşük olması önemli bir avantajdır. Lif içeriğinin mineral emilimine olumsuz bir etkisi yoktur (Finnigan vd., 2016). Ancak küf miselyumu kuru ağırlıkça yaklaşık %10 ribonükleik asit (RNA) içermektedir. Yüksek RNA içeren gıdaların aşırı tüketimi ürik asit miktarının artmasına ve gut gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Souza Filho vd., 2019). Bundan dolayı küf biyokütlesindeki RNA içeriğinin azaltılması için ısl işlem uygulanması gerekmektedir (Schweigert-Weisz vd., 2020). Isl işlem hücre zarının geçirgenliğini arttırarak, hücre içeriğinin %30'unun sıvı ortama geçmesini sağlamaktadır (Finnigan vd., 2016). Wikandari vd. (2022), filamentli fungusların, gıdalarda doğrudan veya gıda yan ürünlerinden üretilen gıdalarda kullanılabilirliğini, ancak elde edilen ürünün besin değeri ve güvenliği hakkındaki bilgilerin yeterli olmadığını bildirmiştir.

## SONUÇ

Hazırlanan bu derlemede filamentli fungusların gıda atık veya yan ürünleri kullanılarak fermantasyonu sonucu gerçekleştirilen; biyokütle üretim yöntemleri, bileşimi ve sağlık üzerine etkileri incelemiştir. Özellikle organik açıdan zengin gıda atık ve yan ürünlerinin filamentli funguslar ile katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi sürdürülebilir beslenme açısından son dönemde giderek önem kazanmaktadır. Birkaç ticari örneği olsa da filamentli fungus biyokütlesinden üretilen ürünlerin ticari örnekleri sınırlıdır ve genellikle et benzeri yapıya odaklanmıştır. Gelecek çalışmalarda et benzeri yapıların dışında farklı ürünlerin üretimi açısından değerlendirilebileceği önerilmektedir. Literatürde bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda filamentli fungus biyokütlesinin besin değeri ve güvenliği hakkındaki bilgilerin yeterli olmadığını bildirmiştir. Bundan dolayı filamentli fungus biyokütlesinin sağlık üzerinde etkilerine daha fazla odaklanması gerektiği düşünülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu derleme makalenin herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## YAZAR KATKISI

Yazarlar makalenin hazırlanmasında eşit katkıda bulunmuşlardır.

## KAYNAKÇA

Aruna, T. E. (2019). Production of value-added product from pineapple peels using solid state fermentation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57: 102193, doi: 10.1016/j.ifset.2019.102193.

Ahmad, M. I., Farooq, S., Alhamoud, Y., Li, C., Zhang, H. (2022). A review on mycoprotein: History, nutritional composition, production methods, and health benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 121: 14-29, doi: 10.1016/j.tifs.2022.01.027.

Amara, A. A., El-Baky, N. A. (2023). Fungi as a source of edible proteins and animal feed. *Journal of Fungi*, 9(1): 73, doi: 10.3390/jof9010073.

- Atta-Delgado, M. X., Lozano, S. P. G., Torres, J. A. (2023). A survey on the prevalence of sustainable diets and the eating experience satisfaction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 84: 103305, doi: 10.1016/j.ifset.2023.103305.
- Awasthi, M. K., Kumar, V., Hellwig, C., Wikandari, R., Harirchi, S., Sar, T., Taherzadeh, M. J. (2022). Filamentous fungi for sustainable vegan food production systems within a circular economy: Present status and future prospects. *Food Research International*, 164: 112318, doi: 10.1016/j.foodres.2022.112318.
- Barnharst, T., Sun, X., Rajendran, A., Urriola, P., Shurson, G., Hu, B. (2021). Enhanced protein and amino acids of corn–ethanol co-product by *Mucor indicus* and *Rhizopus oryzae*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(9): 1989-2000, doi: 10.1007/s00449-021-02580-0.
- Barzee, T. J., Cao, L., Pan, Z., Zhang, R. (2021). Fungi for future foods. *Journal of Future Foods*, 1(1): 25-37, doi: 10.1016/j.jfutfo.2021.09.002.
- Borujeni, N. E., Karimi, K., Denayer, J. F., Kumar, R. (2022). Apple pomace biorefinery for ethanol, mycoprotein, and value-added biochemicals production by *Mucor indicus*. *Energy*, 240: 122469, doi: 10.1016/j.energy.2021.122469.
- Braho, V., Sar, T., Taherzadeh, M. J. (2023). Cultivation of edible filamentous fungi on pomegranate by-products as feedstocks to produce mycoprotein. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 1-12, doi: 10.1007/s43393-023-00212-0.
- Cherta-Murillo, A., Danckert, N. P., Valdivia-Garcia, M., Chambers, E. S., Roberts, L., Miguens-Blanco, J., Frost, G. S. (2023). Gut microbiota fermentation profiles of pre-digested mycoprotein (Quorn) using faecal batch cultures in vitro: a preliminary study. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 74(3): 327-337, doi: 10.1080/09637486.2023.2216404.
- Colosimo, R., Mulet-Cabero, A. I., Cross, K. L., Haider, K., Edwards, C. H., Warren, F. J., Finnigan, T. J. A., Wilde, P. J. (2021).  $\beta$ -glucan release from fungal and plant cell walls after simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 83: 104543, doi: 10.1016/j.jff.2021.104543.
- Copetti, M. V. (2019). Fungi as industrial producers of food ingredients. *Current Opinion in Food Science*, 25: 52-56, doi: 10.1016/j.cofs.2019.02.006.
- de Lima, T. M., de Almeida, A. B., Peres, D. S., de Sousa, T. L., de Freitas, B. S. M., Silva, F. G., Egea, M. B. (2021). *Rhizopus oligosporus* as a biotransforming microorganism of *Anacardium othonianum* Rizz. byproduct for production of high -protein, -antioxidant, and -fiber ingredient. *LWT- Food Science and Technology*, 135: 110030, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110030.
- Derbyshire, E. J., Delange, J. (2021). Fungal protein—what is it and what is the health evidence? A systematic review focusing on mycoprotein. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5: 581682, doi: 10.3389/fsufs.2021.581682.
- Derbyshire, E. J., Theobald, H., Wall, B. T., Stephens, F. (2023). Food for our future: the nutritional science behind the sustainable fungal protein-mycoprotein. A symposium review. *Journal of Nutritional Science*, 12(e44): 1-6, doi:10.1017/jns.2023.29.
- Dunlop, M. V., Kilroe, S. P., Bowtell, J. L., Finnigan, T. J., Salmon, D. L., Wall, B. T. (2017). Mycoprotein represents a bioavailable and insulinotropic non-animal-derived dietary protein source: a dose–response study. *British Journal of Nutrition*, 118(9): 673-685, doi: 10.1017/S0007114517002409.
- Dzurendová, S., Shapaval, V., Tafintseva, V., Kohler, A., Byrtusová, D., Sztokowski, M., Immermann, B. (2021). Assessment of biotechnologically important filamentous fungal biomass by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13): 6710, doi: 10.3390/ijms22136710.
- EC, (2008). Commission Directive 2008/100/EC of 28 October 2008 amending council directive 90/496/EEC on nutrition labelling for foodstuffs as regards recommended daily allowances, energy

- conversion factors and definitions. *Official Journal of European Union* 38: 208–211.
- Elango, R., Laviano, A. (2019). From old to new: roles of protein sources and individual amino acids in clinical nutrition. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 22(1): 58-59, doi: 10.1097/MCO.0000000000000532.
- El-Enshasy, H. A. (2007). Filamentous fungal cultures—process characteristics, products, and applications. In: *Bioprocessing for Value-added Products from Renewable Resources*, McNeil B., Archer, D., Giavasis I., Harvey L. (chief ed.), Elsevier Science, Amsterdam, Netherlands, pp. 225-261.
- Ezekiel, O. O., Aworh, O. C., Blaschek, H. P., Ezeji, T. C. (2010). Protein enrichment of cassava peel by submerged fermentation with *Trichoderma viride* (ATCC 36316). *African Journal of Biotechnology*, 9(2): 117-122.
- Finnigan, T., Needham, L., Abbott, C. (2016). Mycoprotein: A Healthy New Protein With a Low Environmental Impact. In: *Sustainable Protein Sources*, Nadathur, S., Scanlin, L. (chief ed.), Academic Press, Cambridge, the US, pp. 305-323.
- Gastaldello, A., Giampieri, F., De Giuseppe, R., Grosso, G., Baroni, L., Battino, M. (2022). The rise of processed meat alternatives: A narrative review of the manufacturing, composition, nutritional profile and health effects of newer sources of protein, and their place in healthier diets. *Trends in Food Science & Technology*, 127: 263-271, doi: 10.1016/j.tifs.2022.07.005.
- Giavasis, I., Seviour, R. J., Hudman, P., McNeil, B. (2019). Fungal bioproducts for use in food: polysaccharides, organic acids, and mycoprotein. In: *Advances in Food Bioproducts and Bioprocessing Technologies*, Chavez-Gonzalez, M. L., Balagurusamy, N., Aguilar, C. (chief ed.), CRC press, Florida, the ABD, pp 511-548.
- Gibbs, J., Leung, G. K. (2023). The effect of plant-based and mycoprotein-based meat substitute consumption on cardiometabolic risk factors: a systematic review and meta-analysis of controlled intervention trials. *Dietetics*, 2(1): 104-122, doi: 10.3390/dietetics2010009.
- Gmoser, R., Sintca, C., Taherzadeh, M. J., Lennartsson, P. R. (2019). Combining submerged and solid state fermentation to convert waste bread into protein and pigment using the edible filamentous fungus *Neurospora intermedia*. *Waste Management*, 97: 63-70, doi: 10.3390/fermentation4010011.
- Gulsunoglu Konuskan, Z., Kilic Akyilmaz, M. (2022). Microbial bioconversion of phenolic compounds in agro-industrial wastes: a review of mechanisms and effective factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(23): 6901-6910 doi: 10.1016/j.bcab.2020.101562.
- Harris, H. C., Edwards, C. A., Morrison, D. J. (2019). Short chain fatty acid production from mycoprotein and mycoprotein fibre in an in vitro fermentation model. *Nutrients*, 11(4): 800, doi: 10.3390/nu11040800.
- Hashempour-Baltork, F., Hosseini, S. M., Assarehzadegan, M. A., Khosravi-Darani, K., Hosseini, H. (2020). Safety assays and nutritional values of mycoprotein produced by *Fusarium venenatum* IR372C from date waste as substrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(12): 4433-4441, doi: 10.1002/jsfa.10483.
- Hashempour-Baltork, F., Jannat, B., Dadgarnejad, M., Mirza Alizadeh, A., Khosravi-Darani, K., Hosseini, H. (2023). Mycoprotein as chicken meat substitute in nugget formulation: physicochemical and sensorial characterization. *Food Science & Nutrition*, 11: 4289-4295, doi: 10.1002/fsn3.3354.
- Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Abeywickrama, P. D., Aluthmuhandiram, J. V. S., Brahmanage, R. S., Brooks, S., Chaiyasen, A. Chethana, K. W. T., Chomnunti, P., Chepkirui, C., Chuankid, B, de Silva, N. I., Doilom, M., Faulds, C., Gentekaki, E., Gopalan, V., Kakumyan, P., Harishchandra, D., Hemachandran, H., Hongsanan, S., Karunarathna, A., Karunarathna, S. C., Khan, S., Kumla, J., Jayawardena, R. S., Liu, J., Liu, N., Luangharn, T., Macabeo, A. P. G., Marasinghe, D. S., Meeks, D., Mortimer, P. E., Mueller, P., Nadir, S., Nataraja, K. N., Nontachaiyapoom, S., O'Brien, M., Penkhrue, W., Phukhamsakda, C.,

- Ramanan, U. S., Rathnayaka, A. R., Sadaba, R. B., Sandargo, B., Samarakoon, B. C., Tennakoon, D. S., Siva, R., Sriprom, W., Suryanarayanan, T. S., Sujarit, K., Suwannarach, N., Suwunwong, T., Thongbai, B., Thongklang, N., Wei, D., Wijesinghe, S. N., Winiski, J., Yan, J., Yasanthika, E., Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97: 1-136.
- Karimi, S., Mahboobi Soofiani, N., Mahboubi, A., Taherzadeh, M. J. (2018). Use of organic wastes and industrial by-products to produce filamentous fungi with potential as aqua-feed ingredients. *Sustainability*, 10(9): 3296, doi: 10.3390/su10093296.
- Kim, K. M., Lim, J., Lee, J. J., Hurh, B. S., Lee, I. (2017). Characterization of *Aspergillus sojae* isolated from Meju, Korean traditional fermented soybean brick. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(2): 251-261, doi: 10.4014/jmb.1610.10013.
- Lonchamp, J., Stewart, K., Munialo, C. D., Evans, L., Akintoye, M., Gordon, S., Euston, S. R. (2022). Mycoprotein as novel functional ingredient: mapping of functionality, composition and structure throughout the Quorn fermentation process. *Food Chemistry*, 396: 133736, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133736.
- Lübeck, M., Lübeck, P. S. (2022). Fungal cell factories for efficient and sustainable production of proteins and peptides. *Microorganisms*, 10(4): 753, doi: 10.3390/microorganisms10040753.
- Mahboubi, A., Ferreira, J. A., Taherzadeh, M. J., Lennartsson, P. R. (2017a). Value-added products from dairy waste using edible fungi. *Waste Management*, 59: 518-525, doi: 10.1016/j.wasman.2016.11.017.
- Mahboubi, A., Ferreira, J. A., Taherzadeh, M. J., Lennartsson, P. R. (2017b). Production of fungal biomass for feed, fatty acids, and glycerol by *Aspergillus oryzae* from fat-rich dairy substrates. *Fermentation*, 3(4): 48, doi: 10.3390/fermentation3040048.
- Mccarthy, T. C., Sinal, C. J. (2005). Biotransformation. In: *Encyclopedia of Toxicology (Second Edition)*, Wexler, P. (chief ed.), Academic Press, the USA, pp. 299-312.
- Meini, M. R., Cabezudo, I., Galetto, C. S., Romanini, D. (2021). Production of grape pomace extracts with enhanced antioxidant and prebiotic activities through solid-state fermentation by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. *Food Bioscience*, 42: 101168, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101168.
- Mousavi, S. N., Parchami, M., Ramamoorthy, S. K., Soufiani, A. M., Hakkarainen, M., Zamani, A. (2023). Bioconversion of carrot pomace to value-added products: *Rhizopus delemar* fungal biomass and cellulose. *Fermentation*, 9(4): 374, doi: 10.3390/fermentation9040374.
- Odinot, E., Fine, F., Sigoillot, J. C., Navarro, D., Laguna, O., Bisotto, A., Lomascolo, A. (2017). A two-step bioconversion process for canolol production from rapeseed meal combining an *Aspergillus niger* feruloyl esterase and the fungus *Neolentinus lepideus*. *Microorganisms*, 5(4): 67, doi: 10.3390/microorganisms5040067.
- Rousta, N., Ferreira, J. A., Taherzadeh, M. J. (2021). Production of L-carnitine-enriched edible filamentous fungal biomass through submerged cultivation. *Bioengineered*, 12(1): 358-368, doi: https://doi.org/10.1080/21655979.2020.1863618.
- Rousta, N., Larsson, K., Fristedt, R., Undeland, I., Agnihotri, S., Taherzadeh, M. J. (2022). Production of fungal biomass from oat flour for the use as a nutritious food source. *NFS Journal*, 29: 8-15, doi: 10.1016/j.nfs.2022.09.001.
- Saeed, F., Afzaal, M., Khalid, A., Shah, Y. A., Ateeq, H., Islam, F., Shah, M. A. (2023). Role of mycoprotein as a non-meat protein in food security and sustainability: A review. *International Journal of Food Properties*, 26(1): 683-695, doi: 10.1080/10942912.2023.2178456.
- Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P., Bader-Mittermaier, S., Osen, R. (2020). Food proteins from plants and fungi. *Current Opinion in Food Science*, 32: 156-162, doi: 10.1016/j.cofs.2020.08.003.
- Slama, N., Mankai, H., Limam, F. (2021). *Streptomyces tunisiensis* DSM 42037 mediated bioconversion of ferulic acid released from barley bran. *World Journal of Microbiology and*

- Biotechnology*, 37: 1-10, doi: 10.1007/s11274-021-03031-4.
- Souza Filho, P. F., Andersson, D., Ferreira, J. A., Taherzadeh, M. J. (2019). Mycoprotein: environmental impact and health aspects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 147, doi.org/10.1007/s11274-019-2723-9.
- Souza Filho, P. F., Nair, R. B., Andersson, D., Lennartsson, P. R., Taherzadeh, M. J. (2018). Vegan-mycoprotein concentrate from pea-processing industry byproduct using edible filamentous fungi. *Fungal Biology and Biotechnology*, 5(1): 1-10, doi: 10.1186/s40694-018-0050-9.
- Stoffel, F., de Oliveira Santana, W., Gregolon, J. G. N., Kist, T. B. L., Fontana, R. C., Camassola, M. (2019). Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 58: 102227, doi: 10.1016/j.ifset.2019.102227.
- Strong, P. J., Self, R., Allikian, K., Szewczyk, E., Speight, R., O'Hara, I., Harrison, M. D. (2022). Filamentous fungi for future functional food and feed. *Current Opinion in Biotechnology*, 76: 102729, doi: 10.1016/j.copbio.2022.102729.
- Svensson, S. E., Bucuricova, L., Ferreira, J. A., Souza Filho, P. F., Taherzadeh, M. J., Zamani, A. (2021). Valorization of bread waste to a fiber-and protein-rich fungal biomass. *Fermentation*, 7(2): 91, doi: 10.3390/fermentation7020091.
- Thunuguntla, R., Mahboubi, A., Ferreira, J. A., Taherzadeh, M. J. (2018). Integration of membrane bioreactors with edible filamentous fungi for valorization of expired milk. *Sustainability*, 10(6): 1940, doi: 10.3390/su10061940.
- Tong, S., Chen, W., Hong, R., Chai, M., Sun, Y., Wang, Q., Li, D. (2023). Efficient mycoprotein production with low CO<sub>2</sub> emissions through metabolic engineering and fermentation optimization of *Fusarium venenatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 604-612, doi: 10.1021/acs.jafc.3c08509.
- Upcraft, T., Tu, W. C., Johnson, R., Finnigan, T., Van Hung, N., Hallett, J., Guo, M. (2021). Protein from renewable resources: mycoprotein production from agricultural residues. *Green Chemistry*, 23(14): 5150-5165, doi: 10.1039/d1gc01021b.
- Vongsangnak, W., Nielsen, J. (2013). Systems biology methods and developments of filamentous fungi in relation to the production of food ingredients. In: *Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals*, McNeil, B., Archer, D., Giavasis, I., Harvey, L. (chief ed.), Woodhead Publishing, Sawston, the UK, pp. 19-41.
- Wang, R., Sar, T., Mahboubi, A., Fristedt, R., Taherzadeh, M. J., Undeland, I. (2023). In vitro protein digestibility of edible filamentous fungi compared to common food protein sources. *Food Bioscience*, 54: 102862, doi: 10.1016/j.fbio.2023.102862.
- Wang, S. K., Yang, K. X., Zhu, Y. R., Zhu, X. Y., Nie, D. F., Jiao, N., Angelidaki, I. (2022). One-step co-cultivation and flocculation of microalgae with filamentous fungi to valorize starch wastewater into high-value biomass. *Bioresource Technology*, 361: 127625, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127625.
- Wang, D., Wang, L. J., Zhu, F. X., Zhu, J. Y., Chen, X. D., Zou, L., Saito, M. (2008). In vitro and in vivo studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food). *Food Chemistry*, 107(4): 1421-1428, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.072.
- Wei, G., Chitrakar, B., Regenstein, J. M., Sang, Y., Zhou, P. (2023). Microbiology, flavor formation, and bioactivity of fermented soybean curd (furu): A review. *Food Research International*, 163: 112183, doi: 10.1016/j.foodres.2022.112183.
- Wikandari, R., Hasniah, N., Taherzadeh, M. J. (2022). The role of filamentous fungi in advancing the development of a sustainable circular bioeconomy. *Bioresource Technology*, 345: 126531, doi: 10.3390/molecules28030997.
- Wösten, H. A. (2019). Filamentous fungi for the production of enzymes, chemicals and

- materials. *Current Opinion in Biotechnology*, 59: 65-70, doi: 10.1016/j.copbio.2019.02.010.
- Yafetto, L. (2022). Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis. *Heliyon*, 8: e09173, doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09173.
- Yang, M., Ashraf, J., Tong, L., Wang, L., Zhang, X., Li, N., Liu, L. (2021). Effects of *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus oryzae* on prebiotic potentials of rice bran pretreated with superheated steam in an in vitro fermentation system. *LWT-Food Science and Technology*, 139: 110482, doi: 10.1016/j.lwt.2020.110482.
- Yasuda, M., Tachibana, S., Kuba-Miyara, M. (2012). Biochemical aspects of red koji and tofuyo prepared using *Monascus* fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 96: 49-60, doi: 10.1007/s00253-012-4300-0.
- Zeng, X., Tang, Z., Zhang, W., He, L., Deng, L., Ye, C., Fan, J. (2020). Effect of red koji as a Starter Culture in “Wanergao”: A Traditional Fermented Food in China. *Food Science & Nutrition*, 8(10): 5580-5590, doi: 10.1002/fsn3.1849.
- Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., Goldbeck, R., Souza-Soares, L. A., Queiroz, M. I. (2010). Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli. *Bioresource Technology*, 101(18): 7107-7111, doi: doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.001.
- Zhang, X., Zeng, Y., Liu, J., Men, Y., Sun, Y. (2023). Effects of three extraction methods on the structural and functional properties of insoluble dietary fibers from mycoprotein. *Food Chemistry Advances*, 2: 100299, doi: 10.1016/j.focha.2023.100299.
- Zheng, L., Zheng, P., Sun, Z., Bai, Y., Wang, J., Guo, X. (2007). Production of vanillin from waste residue of rice bran oil by *Aspergillus niger* and *Pycnoporus cinnabarinus*. *Bioresource Technology*, 98(5): 1115-1119, doi: 10.1016/j.biortech.2006.03.028.



## CHIA SEEDS (*SALVIA HISPANICA L.*): A COMPREHENSIVE LOOK AT THEIR ATTRIBUTES, PHYTOCHEMICAL PROFILE, AND IMPACT ON HEALTH

Hilal DOĞAN GÜNEY<sup>1\*</sup>, Pınar GÖBEL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Safranbolu District Health Directorate, Nutrition and Diet Unit, Karabük, Turkey

<sup>2</sup>Ankara Medipol University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Ankara, Turkey

Received /Geliş: 26.01.2024; Accepted /Kabul: 13.04.2024; Published online /Online baskı: 05.08.2024

Doğan Güney, H., Göbel, P. (2024). Chia seeds (*Salvia hispanica L.*): A comprehensive look at their attributes, phytochemical profile, and impact on health. GIDA (2024) 49 (4) 766-776 doi: 10.15237/ gida.GD24016

Doğan Güney, H., Göbel, P. (2024). Chia tohumu (*Salvia hispanica L.*): Genel bakış, fitokimyasal profili ve sağlık üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (4) 766-776 doi: 10.15237/ gida.GD24016

### ABSTRACT

This article presents a comprehensive review of the characteristics, phytochemical profile and health effects of chia seeds. Chia seeds belong to the *Lamiaceae* family, and are small, oval and colored seeds that grow in tropical and temperate climates. Chia seeds are rich in protein, fiber, minerals, phenolic compounds and polyunsaturated fatty acids. These nutrients give chia seeds functional properties such as antioxidant, anti-inflammatory, hypolipidemic, hypoglycemic and prebiotic. Chia seeds may play a potential role in the prevention and treatment of chronic diseases such as cardiovascular diseases, diabetes, obesity, digestive system diseases and cancer. Chia seeds can be consumed whole, ground into flour or extracted into oil and added to various foods. Moreover, chia seeds have technological functions such as water retention, emulsification and viscosity enhancement in the food industry. Chia seeds have become a popular functional food in recent years and are being researched. However, more clinical studies and meta-analysis studies are needed on the health effects of chia seeds.

**Keywords:** Chia seeds, chronic disease, obesity

## CHIA TOHUMU (*SALVIA HISPANICA L.*): GENEL BAKIŞ, FITOKİMYASAL PROFİLİ VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİSİ

### ÖZ

Bu makale, chia tohumunun (*Salvia hispanica L.*) özellikleri, fitokimyasal profili ve sağlık üzerindeki etkilerine ilişkin kapsamlı bir inceleme sunmaktadır. Chia tohumu, *Lamiaceae* ailesine ait, tropik ve ılıman iklimlerde yetişen, küçük, oval ve renkli tohumlara sahip bir bitkidir. Chia tohumu, yüksek oranda protein, lif, mineral, fenolik bileşik ve çoklu doymamış yağ asidi içermektedir. Bu besin öğeleri, chia tohumunun antioksidan, anti-inflamatuar, hipolipidemik, hipoglisemik ve prebiyotik gibi fonksiyonel özelliklere sahip olmasını sağlamaktadır. Chia tohumu, kalp-damar hastalıkları, diyabet, obezite, sindirim sistemi hastalıkları ve kanser gibi kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde potansiyel bir rol oynayabilir. Chia tohumu, sade olarak, un haline getirilerek veya yağı çıkarılarak çeşitli gıdalara katılabilir. Ayrıca, gıda sanayisinde su tutma, emülsifiye etme ve kıvam artırma gibi teknolojik fonksiyonlara da sahiptir. Chia tohumu, son yıllarda popüler bir fonksiyonel gıda olarak

\* Corresponding author/ Sorumlu yazar

✉:hilaldogan21@gmail.com

☎: (+90) 506 348 9119

Hilal Doğan Güney; ORCID no: 0000-0003-1770-711X

Pınar Göbel; ORCID no: 0000-0001-7152-1581

tüketilmekte ve araştırılmaktadır. Ancak, chia tohumunun sağlık etkileri ile ilgili daha fazla klinik çalışma ve meta-analiz çalışmasına ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Chia tohumu, kronik hastalıklar, obezite

## INTRODUCTION

### General Characteristics of Chia Plant

The plant identified as the chia seeds belongs to the *Lamiaceae* family, with origins traced back to northern Guatemala and southern Mexico. The *Salvia* genus, comprising approximately 900 species, has been prevalent across diverse regions globally for millennia, including South Africa, Central America, North and South America, and Southeast Asia (Kulczyński et al., 2019; Rabail et al., 2021).

Currently, chia cultivation extends globally, reaching regions such as Bolivia, Colombia, Peru, Argentina, Brazil, the United States, Australia, and Europe (Selvi et al., 2022; Enes et al., 2020). Mexico is presently acknowledged as the foremost global producer of chia seeds. Historical records indicate the use of chia seeds by ancient Mesoamerican civilizations, specifically the Aztecs and Mayans, for traditional remedies and culinary practices. This usage was often intertwined with staple crops like maize, beans and amaranth (Salgado et al., 2023; Chen et al., 2024). Chia gained prominence as a primary crop in pre-Columbian societies, following beans. The diverse utilization of various plant species within Aztec communities served purposes ranging from sustenance to cosmetic applications and religious ceremonies (Knez et al., 2020; Tsatsoulis A et al., 2020). Figure 1 illustrates the global distribution of chia seeds.



Figure 1. Worldwide distribution of chia seed (Ivanovski et al., 2019)

### Botanical Information

*Chia seed* is a highly valued plant, commonly known as the chia plant, grown mainly for its seeds. The plant boasts white and purple flowers, measuring around 3-4 mm, and exhibits hermaphroditic characteristics. With phototropic tendencies, it can reach a maximum height of 1 meter. The leaves are arranged in an opposite-petioled manner with serrated margins, measuring 4 to 8 cm in length and 3 to 5 cm in width (Ivanovski et al., 2019; Sur and Çiçek, 2021). Chia seeds are small, oval-shaped, measuring about 2 mm in length, 1 to 1.5 mm in width, and less than 1 mm in thickness. The plant thrives in acidic soil, showing optimal growth within a pH range of 6.5 to 8.5. According to Fernandes et al. (2023) and Enes et al. (2020), the ideal temperature for seed growth falls within the range of 11 to 36 °C.



Figure 2. *S. hispanica* (chia seed) plant

### Chemical Composition

Chia seeds are the principal industrially sourced raw material from *chia seed*. They are recognized for their rich nutritional profile, encompassing polyunsaturated fatty acids, dietary fiber, protein, phenolic compounds, vitamins and essential minerals. Previous studies have affirmed the favorable chemical composition and nutritional richness of chia seed sprouts (da Silva et al., 2020; Miranda-Ramos and Haros, 2020; Senna et al., 2024).



Chia seeds chemical composition varies due to a range of external factors, including plant origin, harvest timing, storage conditions, drying techniques, cultivation region, terrain features, germination period, nutrient availability, and rainfall patterns. The empirical evidence supports this conclusion with confidence. (Agarwal et al., 2023; Motyka et al., 2023).

These factors contribute to the variability in seed characteristics, such as quantity, frequency, and intensity. The fatty acid composition experiences fluctuations due to climate changes and the plant's altitude. In a given region, the content of omega-3 unsaturated fatty acids tends to increase with decreasing temperature and increasing altitude. However, it is important to note that the existing scholarly literature predominantly focuses on the raw material of chia seeds, with limited exploration of the chemical composition of other components, notably the leaf (Ravlić et al., 2023; Enes et al., 2020; Sosa-Baldivia et al., 2018; Katunzi-Kilewela et al., 2021). Chia seeds stand out as a nutritional powerhouse, boasting high levels of dietary fiber and oil. With an impressive 30-35 grams of dietary fiber, they play a crucial role in supporting a healthy digestive system. The fiber composition in chia seeds is predominantly

insoluble, accounting for 85-94%, complemented by a smaller portion of soluble fiber at 7-16%. Moreover, these seeds are a rich source of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), particularly alpha-linolenic acid (ALA), constituting approximately 60% of their total fatty acid content. Additionally, chia seeds contribute 18-24% plant protein, featuring a diverse amino acid profile. In essence, incorporating chia seeds into any diet proves to be an excellent choice, providing a broad spectrum of essential nutrients (Vera-Cespedes et al., 2023; Bermejo et al., 2023; Anand et al., 2024).

Chia seeds emerge as a favorable dietary option for individuals with celiac disease, given their gluten-free nature. Beyond that, they deliver a wealth of essential vitamins (B1, B2, niacin) and minerals (phosphorus, calcium, potassium, magnesium). Chia seeds also shine as a source of various phytochemicals, including gallic acids, caffeic acids, chlorogenic acids, cinnamic acids, ferulic acids, quercetin, kaempferol, epicatechin, rutin, apigenin, p-coumaric acid, daidzein, glycitin, genistein, and genistin (Clara et al., 2020; Fernandes et al., 2021; Selvi et al., 2022). Please refer to Table 1 for a detailed breakdown of their chemical composition.

Table 1. Chemical composition of chia seed (USDA, 2020)

Component	Quantity (100g)	Component	Quantity (100g)
Energy (kcal)	569	Carbohydrate (g)	40.62
Protein (g)	15.62	Fat (g)	31.25
Dietary fiber (g)	34.4	Ca (mg)	625
Fe (mg)	7.5	Mg (mg)	335
P (mg)	860	K (mg)	406
Na (mg)	16	Zn (mg)	4,5
Vitamin C (mg)	15	Vitamin B <sub>1</sub> (mg)	0.62
Vitamin B <sub>2</sub> (mg)	0.2	Vitamin B <sub>3</sub> (mg)	8.8
Vitamin A (IU)	54	Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol)	0.5

### EFFECTS OF CHIA SEED ON HEALTH Phenolic Compounds and Antioxidant Effects

Chia seeds are renowned for their notable antioxidant properties, attributed to various compounds such as tocopherols, plant sterols, carotenoids, and polyphenolic compounds. Analytical techniques like UHPLC (Ultra-High-

Performance Liquid Chromatography), HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), and UPLC (Ultra-Performance Liquid Chromatography) are commonly employed to investigate these compounds. Researchers use these techniques to study specific compounds such as caffeic acid, ferulic acid, chlorogenic acid,

rosmarinic acid, and flavonoids in chia seeds (Masood et al., 2022; Bermejo et al., 2023).

These compounds demonstrate a diverse range of biological activities, encompassing antioxidant, anti-aging, anti-hypertensive, anti-carcinogenic, and anti-inflammatory effects. It's noteworthy that the performance of these compounds may vary, influenced by factors such as genetic diversity, cultivation conditions, and overall variability among chia seed samples (Gallo et al., 2020; Grauso et al., 2023). Earlier studies have identified flavonoids and tocopherols as the primary antioxidants in chia seeds, underscoring their role in contributing to the beneficial effects associated with the consumption of chia seeds (Alcântara et al., 2019; Tutunchi et al., 2020; Grancieri et al., 2021). Studies have shown that due to its high antioxidant capacity and phenolic compounds, it may offer protection against chronic diseases such as cardiovascular diseases, diabetes, and various types of cancer (e.g. prostate, colon, breast) (Wang et al., 2021; Dickens et al., 2023).

### **Effect on Body Composition and Obesity**

Obesity primarily results from lifestyle changes, characterized by excessive food intake surpassing physiological needs and decreased physical activity. Effective management involves lifestyle adjustments, emphasizing dietary strategies with a focus on polyunsaturated fatty acids (PUFAs). Features associated with obesity, such as dyslipidemia, hypertension, and insulin resistance, contribute to metabolic syndrome, increasing susceptibility to diseases like cardiovascular disease, diabetes, and cancer (Enes et al., 2020; Fernandes et al., 2023). The inclusion of alpha-linolenic acid (ALA) in the diet is crucial for long-term weight management success. Plant proteins exhibit an inverse association with obesity onset and progression, impacting satiety regulation, thermogenesis, energy utilization, and changes in body composition (Khalid et al., 2023; Barrea et al., 2023).

Chia seeds, renowned for their exceptional nutritional properties, serve as valuable sources of vegetable protein and essential PUFAs. They contain angiotensin-converting enzyme

inhibitors, showcasing antioxidant and anticholesterolemic properties, as well as potentially bioactive peptides. The incorporation of chia seeds into the diet is considered significant for managing obesity due to their nutritional richness (Medina-Urrutia et al., 2020; Grancieri et al., 2021). While animal studies have explored the impact of chia seed consumption on obesity, limited human-focused research exists. Chia seeds present a viable dietary option for weight management initiatives, given their substantial content of protein, fat (especially ALA), fiber, and essential vitamins and minerals, leading to a reduction in body weight (Khalid et al., 2023; Agarwal et al., 2023).

Regular consumption of vegetable oils rich in ALA contributes to the accumulation of omega-3 fatty acids and PUFAs in the plasma, liver, and adipose tissue of mice. A balanced diet rich in ALA and low in fructose and sucrose is crucial for optimal health (El-Dreny et al., 2023; Omran et al., 2023). Diets high in fructose or sucrose negatively impact antioxidant capacity, enzyme activities, and visceral adiposity. The addition of chia seed oil to the daily diet has shown positive effects on blood parameters in individuals, as suggested by various studies (Enes et al., 2020; Ivanovski et al., 2019).

In a meta-analysis on chia seeds and obesity, it was found that chia seeds can improve blood glucose metabolism and reduce obesity by inducing phosphorylation of insulin receptor substrate (IRS) and translocation of glucose transporter type 4 (GLUT-4) to the plasma membrane, as well as lowering serum fasting insulin levels. The studies included in this research propose that *chia seeds* can improve insulin sensitivity in cases of obesity by regulating the phosphorylation of AMPK and IRS-1. This, in turn, enhances GLUT-4 translocation and increases the activity of hexokinase and glucose 6-phosphate enzymes (Enes et al., 2020).

### **Effects on Cardiovascular Diseases (CVD) and Blood Lipid Levels**

A cardiovascular risk factor is a measurable characteristic causally linked to an elevated risk of

cardiovascular disease (CVD). These risk factors are traditionally categorized as modifiable or non-modifiable. Modifiable factors, subject to behavioral changes, include tobacco use, hypertension, diabetes mellitus (DM), hypercholesterolemia, physical inactivity, and obesity. Diet, a crucial modifiable factor, can be adjusted to mitigate CVD risk. Numerous studies advocate for the consistent intake of omega-3 fatty acids as a preventive measure for CVD, encompassing conditions like atherosclerosis and thrombosis (Khalid et al., 2023; Roohi, 2020; Dickens et al., 2023).

While scientific attention often centers on fish oils rich in eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) for CVD prevention, the precursor alpha-linolenic acid (ALA) has received less focus. Chia seeds have recently gained popularity as a prominent plant-based source of ALA oil. Historically consumed by indigenous populations in Mexico and Guatemala, chia has garnered attention for its high ALA content and antioxidant properties, making it a valuable addition to the daily diet (Amin et al., 2023; Kaur et al., 2024). Enes et al. (2020) suggest that incorporating chia seeds into the diet has the potential to regulate blood cholesterol levels and establish a favorable fatty acid profile, given their oil content ranging between 25% and 40%. While empirical data on the effects of chia seeds on CVD risk factors is limited, existing research, including studies by Rabail et al. (2021) and Han et al. (2020), suggests beneficial effects, particularly in mitigating oxidative stress and hyperlipidemia in mice fed a high-fat diet.

### **The Impact of Type 2 Diabetes on Blood Glucose Levels**

Diabetes, a prevalent chronic metabolic disorder affecting 10.5% of the global population in 2021, is expected to impact 783 million individuals by 2024, with over 90% of cases attributed to Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), often linked to an unhealthy lifestyle (Einarson et al., 2018; Dal Canto et al., 2019).

Strategies for preventing and managing T2DM include emphasizing food sources rich in polyphenolic compounds and antioxidants (Wang et al., 2021; Alwosais et al., 2021). Incorporating chia seeds into dietary patterns, known for their legumes, protein, and omega-3 fatty acids, shows promise in managing body weight and related comorbidities associated with diabetes. Research indicates that chia seed consumption is associated with reduced postprandial blood glucose levels and an increased satiety index, with no significant differences in glycaemic parameters compared to control groups (Alwosais et al., 2021; Wang et al., 2021). Additionally, studies highlight chia seed's ability to impede rapid carbohydrate release, mitigating blood glucose level increases (Kulczyński et al., 2019; de Abreu Silva et al., 2021).

Chia seed supplementation may regulate overeating, reduce postprandial glycaemia, and suppress appetite (Alwosais et al., 2021; Dal Canto et al., 2019). Notably, ground chia demonstrates potential in reducing postprandial glycaemia, while studies comparing flaxseed and chia seed supplements show both effectively lowering postprandial glucose levels, with no significant difference between the two after 120 minutes (Juangco et al., 2022; Dickens et al., 2023).

Recognized for their protein content, total fiber, and alpha-linolenic acid (ALA), chia seeds have gained popularity as a functional food. Evidence supports their significant role in weight loss, appetite suppression, and potential therapeutic benefits in managing T2DM and improving obesity-related risk factors (Alwosais et al., 2021; Juangco et al., 2022; Grancieri et al., 2022).

### **Effects on Celiac Disease**

Urbanization, globalization, and economic progress have led to a rise in the prevalence of diseases such as obesity, diabetes, cardiovascular disease (CVD), stroke, hypertension, and certain cancers, making individuals more susceptible to these diseases. Consumer awareness and interest in the health-promoting properties of specific foods or bioactive components in foods have

significantly surged in recent years (Di Marco et al., 2020; Firtin et al., 2020). Food not only provides essential nutrients and satisfies hunger, but also plays a crucial role in preventing diet-related diseases and enhancing the physical and mental well-being of consumers. This trend creates opportunities for innovative approaches in nutrition, such as the development of nutritious foods. Chia seeds have been extensively researched for their potential applications in various sectors to enhance individual and community well-being (Din et al., 2021; Ghafoor et al., 2020).

The global gluten-free industry has experienced significant growth due to the increasing prevalence of gluten-related diseases, such as non-celiac gluten sensitivity, wheat allergy, and celiac disease (Di Marco et al., 2020; Maidana et al., 2020). The rise in gluten-free diets is not solely due to the prevalence of gluten-related diseases. It is also influenced by consumer preferences for healthier and more nutritious products, which promotes the acceptance of gluten-free diets (Roohi, 2020). Gluten-free products are highly effective in addressing gluten-related disorders. It is worth noting that concerns have been raised about their nutritional value, as they tend to be high in sodium, fat, and sugar, while lacking essential minerals and fiber when compared to conventional counterparts (Rabail et al., 2021). However, it is important to remember that gluten-free products are still a viable option for those with gluten-related disorders.

In response to the increasing demand for gluten-free foods, substantial research efforts have focused on developing novel gluten-free products. However, improving the sensory attributes, technological properties, and bioactive composition of gluten-free products remains a challenge for food scientists and technologists, particularly in maintaining baking quality due to the viscosity and elasticity of these products. The challenge is to create products that are safe, acceptable, affordable, and compliant with FDA guidelines. Maize and rice are widely acknowledged as primary staples in formulating gluten-free foods. Ongoing efforts to identify

alternative ingredients for gluten-free products are fueled by the presence of bioactive compounds in cereals (Alwosais et al., 2021; Din et al., 2021).

The increased utilization of chia seeds in various industries can be attributed to their viscosity, nutritious phytochemical composition, dietary fiber, omega-3 content, antioxidant capacity, and therapeutic potential. Incorporating chia seeds into food products, especially in creating gluten-free options, holds promise for benefiting individuals diagnosed with celiac disease. Chia seeds have demonstrated inhibitory properties against cholinesterase (ChE) activity, suggesting a potential preventive measure against neurodegenerative diseases (Din et al., 2021; Ghafoor et al., 2020; FaragAllah et al., 2023).

#### **Chia Seed Recommended Consumption Amount**

The United States Dietary Guidelines Advisory Committee (DGAC) recommends that adults should aim for an average daily consumption of 2.1 grams of chia seeds, with a maximum allowable intake of 12.9 grams, roughly equivalent to one spoonful. For children aged 1.5 to 4.5 years, the recommended average is 1.1 grams per day, with a maximum intake of 3.2 grams per day. Similarly, children aged 4.5 to 19 years should not exceed 4.3 grams per day. Recent revisions by the EFSA NDA Panel suggest a generally safe daily intake of chia seeds at around 50 grams (EFSA Panel on Nutrition, 2023).

Allergenic effects of chia seeds have been investigated in two case studies, indicating potential allergic reactions in individuals with pre-existing allergies to peanuts and sesame seeds upon chia seed consumption. Based on available human studies and an extensive literature review, a daily consumption of 50 grams of chia seeds is considered safe in terms of toxicity. Studies primarily focus on investigating potential beneficial effects, and the administration of chia seeds at a dose of 7.5 grams per kilogram of body weight has shown no toxicological effects. The EFSA Panel on Nutrition (2019) has not

identified significant safety issues based on available toxicological studies.

### CONCLUSION

In conclusion, a thorough examination of the subject matter emphasizes the importance of chia seeds, a botanical species with a rich historical legacy, celebrated for its outstanding nutritional composition and potential therapeutic attributes. In recent times, chia seeds have gained significant popularity as a highly favored food, owing to their diverse beneficial effects on human physiological processes. Noteworthy for their elevated levels of fiber, omega-3 fatty acids, and protein, chia seeds offer a comprehensive profile of essential amino acids. Additionally, they serve as a plentiful source of minerals, vitamins, and bioactive compounds, including polyphenols and tocopherols, contributing to their considerable antioxidant properties. Recent studies unequivocally demonstrate the potential effectiveness of chia seeds in addressing prevalent global health issues such as obesity, diabetes, and hypertension. The increasing popularity of chia seeds in the food, nutraceutical, and cosmetic industries is driven not only by their significant chemical composition and biological activity but also by their widespread availability. Acknowledged as a valuable raw material, chia seeds find extensive application in the food industry due to their beneficial properties for human health. To facilitate broader human consumption, the establishment of standardized protocols for the extraction and determination of effective doses of chia seeds, rooted in robust scientific evidence, becomes imperative. This need persists despite existing epidemiological and experimental studies supporting the medicinal use of chia seeds. The implementation of such protocols would contribute to ensuring consistent quality and efficacy in various applications of chia seeds, fostering their widespread and safe utilization.

### AUTHOR CONTRIBUTION

Hilal Doğan Güney: Design, analysis and/or interpretation, literature review, manuscript writing; Pınar Göbel: Idea/concept, supervision/counselling, manuscript writing, critical review

### CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

There is no financial conflict of interest with any institution, organisation, person related to the article and there is no conflict of interest between the authors.

### DECLARATION OF FINANCIAL SUPPORT

The authors of the article do not have any financial conflict of interest and support within the scope of the study.

### REFERENCES

- Agarwal, A., Rizwana, Tripathi, A. D., Kumar, T., Sharma, K. P., Patel, S. K. S. (2023). Nutritional and functional new perspectives and potential health benefits of quinoa and chia seeds. *Antioxidants*, 12(7), 1413. <http://dx.doi.org/10.3390/antiox12071413>
- Alcântara, M. A., Polari, I. D. L. B., de Albuquerque Meireles, B. R. L., de Lima, A. E. A., da Silva Junior, J. C., de Andrade Vieira, É., de Magalhães Cordeiro, A. M. T. (2019). Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chemistry*, 275, 489-496. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.133>
- Alwosais, E. Z. M., Al-Ozairi, E., Zafar, T. A., Alkandari, S. (2021). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) supplementation to the diet of adults with type 2 diabetes improved systolic blood pressure: A randomized controlled trial. *Nutrition and Health*, 27(2), 181-189. <http://dx.doi.org/10.1177/0260106020981819>
- Amin, S., Saeed, M., Yasmin, I., Iqbal, M. W., Khan, W. A., Azam, M. (2023). Therapeutic Effect of Chia Seed Oil-Based Ice Cream against Coronary Heart Disease in Wister Rat Model. *Starch-Stärke*, 2200170. <http://dx.doi.org/10.1002/star.202200170>
- Anand, V., Ksh, V., Kar, A., Varghese, E., Vasudev, S., Kaur, C. (2024). Encapsulation efficiency and fatty acid analysis of chia seed oil microencapsulated by freeze-drying using combinations of wall material. *Food*

- Chemistry*, 430, 136960. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136960>
- Barrea, L., Caprio, M., Watanabe, M., Cammarata, G., Feraco, A., Muscogiuri, G., Savastano, S. (2023). Could very low-calorie ketogenic diets turn off low grade inflammation in obesity? Emerging evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(26), 8320-8336. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2022.2054935>
- Bermejo, N. F., Munné-Bosch, S. (2023). Mixing chia seeds and sprouts at different developmental stages: A cost-effective way to improve antioxidant vitamin composition. *Food Chemistry*, 405, 134880. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134880>
- Chen, J., Wu, G., Zhu, L., Karrar, E., Zhang, H. (2024). A review of the functional activities of chia seed and the mechanisms of action related to molecular targets. *Food & Function*. <http://dx.doi.org/10.1039/d3fo02197a>
- Clara, M. P. F., Veronezi, C. M., Jorge, N. (2020). Evaluation of quality of chia (*Salvia hispanica*), sesame (*Sesamum indicum*), and quinoa (*Chenopodium quinoa*) oils. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63, e20190351. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2020190351>
- da Silva, T. R. B., de Melo, S. C., Nascimento, A. B., Ambrosano, L., Bordin, J. C., Alves, C. Z., da Silva, G. D. (2020). Response of chia (*Salvia hispanica*) to sowing times and phosphorus rates over two crop cycles. *Heliyon*, 6(9), e05051. <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05051>
- de Abreu Silva, L., Verneque, B. J. F., Mota, A. P. L., Duarte, C. K. (2021). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) consumption and lipid profile: A systematic review and meta-analysis. *Food & Function*, 12(19), 8835-8849. <http://dx.doi.org/10.1039/d1fo01287h>
- Dickens, B., Sassanpour, M., Bischoff, E. L. (2023). The Effect of Chia Seeds on High-Density Lipoprotein (HDL) Cholesterol. *Cureus*, 15(6). <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.40360>
- Di Marco, A. E., Ixtaina, V. Y., Tomás, M. C. (2020). Inclusion complexes of high amylose corn starch with essential fatty acids from chia seed oil as potential delivery systems in food. *Food Hydrocolloids*, 108, 106030. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106030>
- Din, Z. U., Alam, M., Ullah, H., Shi, D., Xu, B., Li, H., Xiao, C. (2021). Nutritional, phytochemical and therapeutic potential of chia seed (*Salvia hispanica* L.). A mini-review. *Food Hydrocolloids for Health*, 1, 100010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fhfh.2021.100010>
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (EFSA NDA Panel), Turck, D., Castenmiller, J., de Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., Knutsen, H. K. (2019). Safety of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) as a novel food for extended uses pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 17(4), e05657. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5657>
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (EFSA NDA Panel), Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Knutsen, H. K. (2023). Safety of the extension of use of partially defatted chia seed (*Salvia hispanica* L.) powder with a high fibre content as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 21(4), e07904. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7904>
- El-Dreny, E. S., Shaheen, M., Shaban, H. (2023). Anti-obesity Influence of Psyllium (*Plantago ovate*) and Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds on Rats Fed a High-Fat Diet. *Food Technology Research Journal*, 1(3), 20-31. <http://dx.doi.org/10.21608/ftjrj.2023.300612>
- Fernandes, S. S., Prentice, C., Salas-Mellado, M. D. L. M. (2021). Chia seed (*Salvia hispanica*). *Oilseeds: Health Attributes And Food Applications*, 285-303. [http://dx.doi.org/10.1007/978-981-15-4194-0\\_11](http://dx.doi.org/10.1007/978-981-15-4194-0_11)
- Enes, B. N., Moreira, L. P., Silva, B. P., Grancieri, M., Lúcio, H. G., Venâncio, V. P., Martino, H. S. (2020). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. *Journal*

- of *Food Science*, 85(2), 226-239. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.15003>
- FaragAllah, E. M., Algharib, S. A., Goda, N. I., El-Malkey, N. F., Mahboub, H. H., El-Fayoumi, S. H., Aref, M. (2023). Protective effect of *Salvia hispanica* (chia seeds) against obesity induced ovarian disorders in rat model. *Tissue and Cell*, 83, 102156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tice.2023.102156>
- Fernandes, S. S., Egea, M. B., Salas-Mellado, M. D. L. M., Segura-Campos, M. R. (2023). Chia Oil and Mucilage Nanoemulsion: Potential Strategy to Protect a Functional Ingredient. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7384. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24087384>
- Firtın, B., Yenipazar, H., Saygün, A., Şahin-Yeşilçubuk, N. (2020). Encapsulation of chia seed oil with curcumin and investigation of release behaviour & antioxidant properties of microcapsules during in vitro digestion studies. *Food Science and Technology*, 134, 109947. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109947>
- Gallo, L. R. D. R., Assunção Botelho, R. B., Ginani, V. C., de Lacerda de Oliveira, L., Riquette, R. F. R., Leandro, E. D. S. (2020). Chia (*Salvia hispanica* L.) gel as egg replacer in chocolate cakes: Applicability and microbial and sensory qualities after storage. *Journal of Culinary Science & Technology*, 18(1), 29-39. <http://dx.doi.org/10.1080/15428052.2018.1502111>
- Ghafoor, K., Ahmed, I. A. M., Özcan, M. M., Al-Juhaimi, F. Y., Babiker, E. E., Azmi, I. U. (2020). An evaluation of bioactive compounds, fatty acid composition and oil quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seed roasted at different temperatures. *Food Chemistry*, 333, 127531. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127531>
- Grancieri, M., Martino, H. S. D., Gonzalez de Mejia, E. (2021). Protein digests and pure peptides from chia seed prevented adipogenesis and inflammation by inhibiting PPAR $\gamma$  and NF- $\kappa$ B pathways in 3T3L-1 adipocytes. *Nutrients*, 13(1), 176. <http://dx.doi.org/10.3390/nu13010176>
- Grauso, L., de Falco, B., Bochicchio, R., Scarpato, S., Adesso, R., Lanzotti, V. (2023). Leaf metabolomics and molecular networking of wild type and mutant genotypes of chia (*Salvia hispanica* L.). *Phytochemistry*, 209, 113611. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113611>
- Han, K., Li, X. Y., Zhang, Y. Q., He, Y. L., Hu, R., Lu, X. L., Hui, J. (2020). Chia seed oil prevents high fat diet induced hyperlipidemia and oxidative stress in mice. *European journal of lipid science and technology*, 122(4), 1900443. <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201900443>
- Ivanovski, M., Cör, D., Knez, Ž. (2019). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview-Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(1). <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010011>
- Juangco, J. R., Gacuta, M. C., Fernandez, T. K. I., Fider, R. A. F., Gan, A. A. K., Fernandez, L. V. D., Gallera, J. F. D. (2022). IDF21-0227 Effectiveness of Chia (*Salvia hispanica* L.) As an Adjuvant Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus, a Meta-Analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109501>
- Katunzi-Kilewela, A., Kaale, L. D., Kibazohi, O., Rweyemamu, L. M. (2021). Nutritional, health benefits and usage of chia seeds (*Salvia hispanica*): A review. *African Journal of Food Science*, 15(2), 48-59. <http://dx.doi.org/10.5897/ajfs2020.2015>
- Kaur, G., Mason, R. P., Steg, P. G., Bhatt, D. L. (2024). Omega-3 Fatty Acids for Cardiovascular Event Lowering. *European Journal of Preventive Cardiology*, zwae003. <http://dx.doi.org/10.1093/eurjpc/zwae003>
- Khalid, W., Arshad, M. S., Aziz, A., Rahim, M. A., Qaisrani, T. B., Afzal, F., Anjum, F. M. (2023). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): A therapeutic weapon in metabolic disorders. *Food Science & Nutrition*, 11(1), 3-16. <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.3035>
- Knez, H., M., Ivanovski, M., Cör, D., Knez, Ž. (2020). Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): an overview—phytochemical profile, isolation

- methods, and application. *Molecules*, 25(1), 11. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010011>
- Senna, C., Soares, L., Egea, M. B., Fernandes, S. S. (2024). The Techno-Functionality of Chia Seed and Its Fractions as Ingredients for Meat Analogs. *Molecules*, 29(2), 440. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules29020440>
- Kulczyński, B., Kobus-Cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., Gramza-Michałowska, A. (2019). The chemical composition and nutritional value of chia seeds—Current state of knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1242. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11061242>
- Maidana, S. D., Finch, S., Garro, M., Savoy, G., Gänzle, M., Vignolo, G. (2020). Development of gluten-free breads started with chia and flaxseed sourdoughs fermented by selected lactic acid bacteria. *Food Science and Technology*, 125, 109189. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109189>
- Masood, M. A. B. (2022). Chia seeds as potential nutritional and functional ingredients: A review of their applications for various food industries. *Masood, M. A. B. Chia Seeds as Potential Nutritional and Functional Ingredients: A Review of their Applications for Various Food Industries*, *Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 1-14. <http://dx.doi.org/10.47485/2834-7854.1011>
- Medina-Urrutia, A., Lopez-Urbe, A. R., El Hafidi, M., González-Salazar, M. D. C., Posadas-Sánchez, R., Jorge-Galarza, E., Juárez-Rojas, J. G. (2020). Chia (*Salvia hispanica*)-supplemented diet ameliorates non-alcoholic fatty liver disease and its metabolic abnormalities in humans. *Lipids in Health and Disease*, 19(1), 1-9. <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-020-01283-x>
- Miranda-Ramos, K. C., Haros, C. M. (2020). Combined effect of chia, quinoa and amaranth incorporation on the physico-chemical, nutritional and functional quality of fresh bread. *Foods*, 9(12), 1859. <http://dx.doi.org/10.3390/foods9121859>
- Motyka, S., Skala, E., Ekiert, H., Szopa, A. (2023). Health-promoting approaches of the use of chia seeds. *Journal of Functional Foods*, 103, 105480. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2023.105480>
- Omran, N. H., El-Bahy, A. A., Hosny, H. T. A., Handoussa, H. (2023). Quinoa and Chia Modulate AMPK/PPAR- $\gamma$  Signaling in High-Fat Diet-Induced Obesity Rat Model. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 1-12. <http://dx.doi.org/10.1007/s43450-023-00388-5>
- Rabail, R., Khan, M. R., Mehwish, H. M., Rajoka, M. S. R., Lorenzo, J. M., Kieliszek, M., Aadil, R. M. (2021). An overview of chia seed (*Salvia hispanica* L.) bioactive peptides' derivation and utilization as an emerging nutraceutical food. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 26(9), 643-654. <http://dx.doi.org/10.52586/4973>
- Ravlić, M., Baličević, R., Svalina, T., Posavac, D., Ravlić, J. (2023). Herbicidni potencijal livadne kadulje (*Salvia pratensis* L.) na Teofrastov mračnjak (*Abutilon theophrasti* Med.) i poljski kukolj (*Agrostemma githago* L.). *Glasnik Zaštite Bilja*, 46(3.), 116-121. <http://dx.doi.org/10.31727/gzb.46.3.13>
- Roohi, T. F. (2020). Review on the miracle role of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) nutritional and bioactive compounds in the treatment of cardiovascular disorder. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 9, 42-49. <http://dx.doi.org/10.32553/jbpr.v9i4.780>
- Salgado, V. D. S. C. N., Zago, L., Fonseca, E. N. D., Calderari, M. R. D. C. M., Citelli, M., Miyahira, R. F. (2023). Chemical Composition, Fatty Acid Profile, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Raw and Germinated Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 78(4), 735-741. <http://dx.doi.org/10.1007/s11130-023-01115-0>
- Selvi, S., Polat, R., Çakılcioğlu, U., Celep, F., Dirmenci, T., Ertuğ, Z. F. (2022). An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 46(4), 283-332. <http://dx.doi.org/10.55730/1300-008x.2712>
- Sosa-Baldivia, A., Ruiz-Ibarra, G., Johnson, F., Robles-de la Torre, R. R., Robles-Lopez, M. R., Sharma, M., Liu, X. (2018). A historical review of the scientific and common nomenclature



associated with chia: From *Salvia hispanica* to *Salvia mexicana* and *chian to salba*. *Agricultural Research and Technology*, 18(1), 556047. <http://dx.doi.org/10.19080/artoaj.2018.18.556047>

Sur, E. B., Çiçek, Ş. K. (2021). Chia tohumunun kimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri. *GIDA*, 46(4), 971-979. <http://dx.doi.org/10.15237/gida.gd21055>

Tutunchi, H., Ebrahimi-Mameghani, M., Ostadrahimi, A., Asghari-Jafarabadi, M. (2020). What are the optimal cut-off points of anthropometric indices for prediction of overweight and obesity? Predictive validity of waist circumference, waist-to-hip and waist-to-height ratios. *Health Promotion Perspectives*, 10(2), 142. <http://dx.doi.org/10.34172/hpp.2020.23>

USDA, 2020. United States Department of Agriculture Research Service Food Composition

Database.

<https://fdc.nal.usda.gov/fdcapp.html#/food-details/1144211/nutrients> (Accessed: 24 January 2021).

Vera-Cespedes, N., Muñoz, L. A., Rincón, M. Á., Haros, C. M. (2023). Physico-Chemical and nutritional properties of chia seeds from Latin American countries. *Foods*, 12(16), 3013. <http://dx.doi.org/10.3390/foods12163013>

Wang, M., Liu, Y., Liang, Y., Naruse, K., Takahashi, K. (2021). Systematic understanding of pathophysiological mechanisms of oxidative stress-related conditions—diabetes mellitus, cardiovascular diseases, and ischemia–reperfusion injury. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 649785. <http://dx.doi.org/10.3389/fcvm.2021.649785>

# İçindekiler / Content GIDA (2024)49(4)

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Dağdelen, A. F., Kırış Demirel, F. T., Sarıcaoğlu, F. T. (2024). Preventing of migration in food contact polyvinyl chloride-based stretch films with polylactic acid layer / Gıda ile temas eden polivinil klorür bazlı streç filmlerdeki migrasyonun polilaktik asit katmanı ile engellenmesi.....624-640

Aydın, E. (2024). The impact of raisin consumption on quercetin bioavailability: An in vivo approach / Kuru üzüm tüketiminin kuersetin biyoyararlanımı üzerindeki etkisi: In vivo yaklaşım.....741-750

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Elmas, E. T., Karagül Yüceer, Y. (2024). Yoğurdun uçucu bileşen profili ve duysal özellikleri üzerine kültür çeşidinin etkileri / Effects of culture type on volatile component profile and sensory properties of yogurt.....595-606

Akbulut, H. F. (2024). *Crataegus monogyna* Jacq. ve *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. kırmızı alıç türlerinin meyve, çekirdek, sap kısımlarının fitokimyasal ve antioksidan özellikler açısından değerlendirilmesi / Evaluation of fruits, seeds and stem parts of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poir.) DC. red hawthorn species in terms of phytochemical and antioxidant properties.....669-681

Öztürk, B., Kılıç, G., Kırmızıgül Peker, A., Atlama, K., Yahşi, Y., Yücel Şengün, İ. (2024). Türkiye'de satışa sunulan şalgam sularının laktik asit bakterileri potansiyelinin değerlendirilmesi / Investigation of the microbiological properties of shalgam juice exposed for sale in Turkey.....624-640

Ok, S., Yılmaz, E. (2024). Üç boyutlu (3D) baskı tekniğiyle elma ve havuç suyu bazlı ürünlerin üretimi ve karakterizasyonu / Production of apple and carrot juice based products using three-dimensional (3D) printing technique and their characterization.....714-729

Uyanık, T., Bölükbaş, A., Gücükoğlu, A., Çadırcı, Ö., Sezener Kabay, M. G. (2024). Sığır karkaslarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının biyofilm oluşturma özellikleri ile quorum sensing ve major karbapenemaz genlerinin araştırılması / Assessment of biofilm formation, quorum sensing and major carbapenemase genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cattle carcasses.....730-740

## Derlemeler (İngilizce) / Reviews (English)

Can, B., Majoo, F., Öztürkcan, A. (2024). Consumer acceptance, attitude and knowledge studies on alternative protein sources: Insight review / Alternatif protein kaynakları üzerine tüketici kabulü, tutumu ve bilgi çalışmaları: Derleme makalesi.....682-702

Doğan Güneş, H., Göbel, P. (2024). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): A comprehensive look at their attributes, phytochemical profile, and impact on health / Chia tohumu (*Salvia hispanica* L.): Genel bakış, fitokimyasal profili ve sağlık üzerine etkisi.....766-776

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve çoğunluk algılama (quorum sensing) sistemi / Biodiversity of *Pseudomonas*, spoilage characteristics, biofilm production, and quorum sensing system in meat and meat products.....607-623

Öztürk, B., Sulak, G., Eker, S., Yücel Şengün, İ. (2024). Paraprobiyotikler ve postbiyotikler: Gıda ve farmakoloji uygulamaları / Paraprobiotics and postbiotics: Applications in food and pharmacology.....641-655

Özdemir, M., Şengül, A. K., Bulamacı, B., Taşdemir, B. (2024). Soğuk plazma teknolojisinin meyve, sebze, et, tavuk ve su ürünlerindeki uygulamaları / Applications of cold plasma technology in fruit, vegetable, meat, chicken and aquatic products.....656-668

Kaya, B., Karagül Yüceer, Y. (2024). Filamentli fungusların (küflerin) alternatif besin kaynağı olarak değerlendirilmesi / Evaluating filamentous fungi (molds) as a food source.....751-765