

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 42

SAYI / NUMBER : 4

YIL / YEAR : 2017

**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

<b>Editörler / Editors</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i></p>
<p><b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p><b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org</p> <p><b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli</p> <p><b>Hazırlayan / Prepared</b> Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p><b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 08 2017</p>	

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Özkaynak Kanmaz, E.; *The effect of roasting process on fatty acid composition and phenolic content of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour* / Tane keten tohumu, keten tohumu unu ve keten tohumu küspesi ununun yağ asidi kompozisyonu ve fenolik bileşik içeriğine kavurma işleminin etkisi ..... **382-391**

Özkaynak Kanmaz, E., Saral, Ö.; *The effect of extraction parameters on antioxidant activity of subcritical water extracts obtained from mandarin peel* / Mandalina kabuğundan elde edilen kritik altı su ekstraktlarının antioksidan aktivite düzeyine ekstraksiyon parametrelerinin etkisi ..... **405-412**

Tezel, G.B., Uzuner, S., Keklikcioğlu Cakmak, N.; *Modeling of burger parameters for CMC-guar gum based polymer network* / CMC-guar gam polimer ağı için burger modeline ait parametrelerin modellenmesi ..... **413-421**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Ulusoy Ş., Doğruyol, H., Üçok Alakavuk, D., Tosun, Ş.Y.; *Monosodyum glutamatın balık çorbası ve balık köftesinin duyuşal özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of monosodium glutamate on the sensory properties of fish soup and fish ball* ..... **339-347**

Şahintürk, M., Öner, Z.; *Isparta'da üretilen eşek sütünün kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi* / *Determination of chemical and microbiological properties of donkey's milk produced in Isparta* ..... **348-354**

İncedayı, B.; *Gazlı ihlamur çayı içeceğinin bazı özelliklerinin araştırılması* / *A research on some properties of carbonated linden herbal tea beverage* ..... **355-363**

Özvural, E.B.; *Çemen ekstraktı ve timol içeren filmlerle kaplanan köftelerin bazı kalite özelliklerinin incelenmesi* / *Evaluation of some quality characteristics of the patties coated with films including fenugreek extract and thymol* ..... **364-371**

Özer, C.O.; *Fermente et model sistemi içerisinde kuşburnu (Rosa canina L.) meyvesi kullanımı* / *The use of rose hip fruit (Rosa canina L.) in fermented meat model system* ..... **372-381**

Türker, İ., İşleroglu, K.; *Mahlep püresinin kızılötesi ışınlama ile kurutulması işleminde antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değişim kinetiği* / *Kinetics of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity changes of mabaleb puree in infrared drying process* ..... **422-430**

Karatepe, M., Bağcı, C., Karatepe, B., Şenel, T., Karadere, A.; *Niğde'de tüketime sunulan peynirlerde akar varlığının araştırılması* / *Research on occurrence of mites in cheese consumed in Niğde* ..... **431-436**

Atak, Z., Baysan, U., Devseren, E., Tomruk, D., Koç, M., Karataş, H., Kaymak-Ertekin, F.; *Zeolit yatak ile modifiye edilmiş vakum fırında domates salçası üretimi* / *Tomato paste production in the modified vacuum oven with zeolite bed* ..... **437-446**

Selamoğlu, H., Halkman, A. K.; *Gıda maddelerinde Salmonella aranmasında laktoz broth ve tamponlanmış peptonlu su ile önzenenginleştirme süresinin karşılaştırılması* / *Comparison of the pre-enrichment time in using lactose broth and buffered peptone water for Salmonella detection in foods* ..... **457-467**

Sayar, S., Çalışkantürk Karataş, S.; *Nohutta tane (tohum) kabuğunun tüm tanenin fiziksel, kimyasal ve beslenme özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of seed coat on the physical, chemical and nutritional properties of whole chickpea* ..... **468-476**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Var, I., Çelik, Ç.; *Salgınlara neden olan bazı gastroenterit virüslerinin irdelenmesi* / *Review of some gastroenteritis viruses causing outbreaks* ..... **392-404**

Hızlar, B., Karakaya, S.; *Eksipiyan gıda ve emülsiyonların karotenoid biyoerişilebilirliği üzerine etkisi* / *The effects of excipient foods and emulsions on carotenoid bioaccessibility* ..... **447-456**

# Editörden,

---

## Merhaba,

Haziran 2017 ortasında GIDA Dergisi, 2017 yılının 42. cilt 4. sayısını (Temmuz-Ağustos 2017) yayımlıyoruz. Haziran 2017 ilk çeyreğinde artık, 42. cilt 5. sayı için künye vermeye başladık. Bu sayımız ile 2016 yılında gönderilmiş olan son 10 makaleyi yayımladık. Böylece bundan sonra 2017 yılında gönderilmiş makalelerin değerlendirilmesi ile devam ediyoruz.

Bu sayımızda da, 15 makale yayımladık. Bunların, 3 adedi İngilizce araştırma, 10 adedi Türkçe araştırma ve 2 adedi Türkçe derleme makalesidir.

İşlemleri bu tarihte devam eden 32 makalenin, 11 adedi İngilizce araştırma makalesidir. 2016 yılı sonunda sonlandırdığımız kâğıt basılı derginin "baskıya hazır" makale havuzunda, İngilizce araştırma makalelerine öncelik tanıyorduk. Bu baskı öncelik sırasını, Türkçe araştırma ve Türkçe derleme makaleleri izliyordu. 2016 yılı son 2 sayısında, baskı sırasını bekleyen tüm Türkçe makaleleri yayımladık ve böylece yeni bir düzen kurduk.

2017 yılından itibaren makale yayımlama politikamızı değiştirdik. Tüm aşamaları tamamlanan makaleleri, İngilizce/Türkçe ve araştırma/derleme ayrımı gözetmeden cilt, sayı ve sayfa numarası verilmiş şekliyle elektronik ortamda yayımlıyoruz.

Dergi ile ilgili önemli bir değişiklik, yeni yayım kurallarıdır. Tüm meslektaşlarımızın açıkça fark edeceği gibi, gerek metin içinde gerekse kaynak listesinde kullanılan kaynakçada ciddi bir değişiklik var. Bu değişiklik, bu sayımızda ve izleyen 2017 yılı 5. sayıda henüz tam olarak oturmuş değil. Şöyle ki; GIDA Dergisi 2017 yılı 42. cilt 3. ve 4. sayılarında kimi makaleler eski kaynak bildirişi, kimi makaleler ise yeni kaynak bildirişi üzerinden yayımlandı. GIDA Dergisi 2017 yılı 42. cilt 5. sayıda da eski yayım kurallarına göre hazırlanmış makaleler vardır, ancak 6. sayıdan başlayarak tüm makaleler yeni yazım kurallarına uygun olarak yayınlanmaya devam edecektir.

Bir anlamda; aynı dergide yayımlanan farklı makalelerdeki kaynak bildirim kural uyumsuzluğu / farklılığı, doğrudan doğruya önceden kabul edilmiş makaleler ile ilgilidir. Bir diğer deyişle, eski yayım kurallarına göre kabul edilmiş makalelerin ya da belirli bir aşamaya gelmiş makalelerin yazarlarını, yeni yazım kurallarına uymaları açısından zorlamadık. Bu bir geçiş sürecidir.

3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi ile ilgili olarak [www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org) sayfamızdan bizi takip edin. Kongre sitesi açıldı; <https://intfoodtechno2018.org/>

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman  
GIDA Dergisi Editörü

## A Message from the Editor-in-Chief

---

**Hello,**

In the midst of June 2017, we publish the 4<sup>th</sup> issue of volume 42 (July-August) in Journal of FOOD. In the first quarter of June 2017, we have started to give the imprints for the 5<sup>th</sup> issue of volume 42. We published the last 10 articles submitted to our journal in the year 2016, by this issue. So, we continue the reviewing process with the articles sent in the year 2017.

We also published 15 articles in this issue. Three of them are research articles in English, 10 of them are research articles in Turkish, and 2 of them are review articles in Turkish.

Eleven articles of 33 articles of which the reviewing procedures have still been continuing are research articles in English. We gave priority to the research articles in English in the "ready-to-print articles pool" of the journal which we concluded the paper-printed form by the end of 2016. This printing priority was followed by research articles in Turkish and review articles in Turkish. In the last two issues of the year 2016, we published all articles in Turkish that wait for publishing and thus we set up a new order.

We changed our publishing policy by the year of 2017. We print articles of which all reviewing procedures are finished, regardless of whether they are in English/in Turkish or research/review, in electronic form with their volume, issue and page numbers.

An important change of our Journal is the new publishing rules. As all of our colleagues will clearly notice, there is a serious change in the reference used both in the text and in the reference list. This change is not yet be fully-established in this issue and in the next 5<sup>th</sup> issue of the year 2017. Namely; some of the articles published in the 3<sup>rd</sup> and the 4<sup>th</sup> issues of volume 42 of the year 2017 are published in Journal of FOOD, on the basis of old reference list rules and some others are of new reference list rules. There are articles also written according to the old publishing rules in the 5<sup>th</sup> issue of volume 42 of the year 2017 in Journal of FOOD, but starting from the 6<sup>th</sup> issue of our Journal, all articles will continue to be published in accordance with the new publishing rules.

In a sense; the incompatibility / difference of the reference list rules in different articles published in the same issue, is directly related to previously accepted articles. In other words, we did not force the authors of accepted articles which were written according to the old writing rules or articles of a certain stage of reviewing process, with the new writing rules. This is a transition period.

Follow us about the 3<sup>rd</sup> International Congress on Food Technology at [www.gidadernegi.org](http://www.gidadernegi.org). The Congress web site has been opened; <https://intfoodtechno2018.org/>

Best Regards,

Prof. A. Kadir Halkman  
Editor of Journal of FOOD

## **MONOSODYUM GLUTAMATIN BALIK ÇORBASI VE BALIK KÖFTESİNİN DUYUSAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Safak Ulusoy\*, Hande Doğruyol, Didem Üçok Alakavuk, Ş. Yasemin Tosun**

Istanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, İşleme Teknolojisi  
Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 26.09.2016; Kabul / Accepted: 07.03.2017; Online baskı / Published online: 24.03.2017

Ulusoy, Ş., Doğruyol, H., Üçok Alakavuk D., Tosun, Y. (2017). Monosodyum glutamatın balık çorbası ve balık köftesinin duyusal özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2017) 42 (4): 339-347 doi: 10.15237/gida.GD16091

### **Öz**

Bu çalışmada farklı miktarlarda ve tuz ile kombine edilerek kullanılan monosodyum glutamatın (MSG) balık çorbası ve balık köftelerinin duyusal özelliklerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Kültür levreğinin (*Dicentrarchus labrax* L., 1785) atıklarından yapılan balık çorbaları 2 gruba ayrılmıştır. Birinci grup % 0.3 tuz ve % 0.3 MSG içeren TM1 grubu, ikinci grup ise % 0.4 tuz ve % 0.2 MSG içeren TM2 grubu olarak adlandırılmıştır. Balık köftesi ise hamsi (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) etinden hazırlanmıştır. Köfte harcı kullanılarak yapılan balık köfteleri 2 gruba ayrılmıştır. Birinci grup yalnızca % 0.8 MSG içeren M grubu ve ikinci grup ise % 0.5 tuz ve % 0.5 MSG içeren TM grubudur. Çorba ve köfte ürün gruplarının duyusal özellikleri on panelist tarafından eşlenmiş kıyaslama testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, hem balık çorbası hem de balık köftesinde, tuz ile kombine olarak kullanılan MSG'in ürünlerde genel beğeniyi artırırken, düşük sodyumlu ürünlerin tat ve lezzetini artırıp geliştirdiği ortaya çıkmıştır.

**Anahtar kelimeler:** MSG, tuz, balık çorbası, balık köftesi, duyusal özellikler

## **EFFECT OF MONOSODIUM GLUTAMATE ON THE SENSORY PROPERTIES OF FISH SOUP AND FISH BALL**

### **Abstract**

The effects of monosodium glutamate (MSG) on the sensory properties of fish soup and fish balls were evaluated. Different amounts of MSG were used alone or by combining with salt. Fish soup, prepared with waste from cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1785), was divided into two portions. The first group was named as TM1 and included 0.3% salt and 0.3% MSG, whereas the second one was called TM2 and 0.4% salt and 0.2% MSG were added. The fish balls were prepared from anchovy (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) flesh and separated into two parts. For the first part only 0.8% MSG was added, and it was named group M, while the second group included 0.5% salt and 0.5% MSG and was called TM. Sensory properties of the fish soup and the ball products were evaluated by ten experienced panelists by using paired comparison test. Combining the MSG with salt increased general the preferability in both the soup and fish balls and enhanced the taste and palatability of low sodium-products.

**Keywords:** MSG, salt, fish soup, fish ball, sensory properties

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ safak@istanbul.edu.tr, ☎ (+90) 212 455 5700,

☎ (+90) 212 514 0379

## GİRİŞ

Monosodyum glutamat (MSG), çoğunlukla et, kümes hayvanları, su ürünleri, meze ve çorba gibi gıda ürünlerinde bir lezzet artırıcı olarak dünyada en çok kullanılan gıda katkı maddesidir (1). Gıdaların lezzetini arttırmakta ve tatlı, ekşi, tuzlu ve acı olarak bilinen dört temel tat ögesine ilaveten "umami" adı verilen beşinci tadı uyarmaktadır (2). Son zamanlarda, MSG'ın tüketiciler arasında insan sağlığına zararlı olduğuna dair kanı yaygınlaşmasına rağmen, hem laboratuvar hem de klinik sonuçlara göre MSG'ın güvenilir bir gıda katkı maddesi olduğu FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) ve Gıda Teknolojileri Enstitüsü tarafından kabul edilmiştir (3, 4).

Son yıllarda fazla tuz tüketimi insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (5). Normal sofradan (NaCl) daha az sodyum içeriğine sahip olan MSG, tuzla uygun bir etkileşim sağlayarak lezzet üzerindeki etkiyi arttırmaktadır. Tuz miktarı düşük seviyelerde kullanılsa bile MSG'ın ürünün lezzetini arttırdığı bildirilmiştir. Böylece, tüketici MSG ilave edilmiş gıdaları lezzetli bir şekilde tüketirken daha az tuz kullanıp daha az sodyum almaktadır (6).

Bu çalışmada balık çorbası yapımında kullanılan levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1785) ülkemizde en çok üretimi ve ihracatı yapılan ekonomik bir çiftlik balığı türüdür (7). Türkiye İstatistik Kurumunun verilerine göre 2015 yılında yetiştiricilikle üretilen levrek miktarının yaklaşık 75 bin ton olduğu bildirilmiştir (8). Dondurulmuş Avrupa deniz levreği ihracat miktarı 2013 yılı verilerine göre yaklaşık 76 bin ton iken, taze soğutulmuş Avrupa deniz levreği ihracat rakamı yaklaşık 162 bin ton olup, canlı deniz levreği ihracat değeri ise yaklaşık 11 bin ton olarak sunulmuştur (9). Hamsi (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) ise Karadeniz'den en çok yakalanan ve tüketimi yapılan ekonomik balık türlerimizden biridir (10). Avlama miktarının 2015 yılında 90885.9 ton olduğu bildirilmiştir (8). Taze soğutulmuş hamsi balığı ihracatı 2013 yılı verilerine göre 67289 kg, dondurulmuş hamsi balığı ihracat rakamı ise 996260 kg olarak belirtilmiştir (9).

Hazır balık çorbası tüketicilere pratik yemek olarak sunulan ve gittikçe daha popüler hala gelen

tüketime hazır yemeklerden biridir. Ekonomik değerde üretilen levrek balığı atıklarının ülkemizde çorba yapımında kullanılarak değerlendirilmesi en iyi seçeneklerden birini oluşturmaktadır. Hamsi köftesi, ülkemizde geleneksel olarak en çok tüketilen hamsi ürünlerinden bir tanesidir. Avcılığı en çok yapılan balık türlerinden birisi olduğu için balık köftesi yapımında kullanılan en uygun balık türlerinden biridir. Birçok çalışma çeşitli gıdaların lezzeti üzerindeki MSG ve tuzun etkileşimini incelemiştir. Bu çalışmada tuz miktarının azaltılması amaçlanarak, MSG ve MSG'ın, tuz ile olan etkileşiminin balık çorbası ve balık köftesinin duyuşal özelliklerine olan etkisi incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada kullanılan levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) ve hamsi (*Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758) balıkları İstanbul yerel balık pazarından temin edilmiştir. Soğuk zincir koşulları altında laboratuvara getirilen balık örnekleri aynı gün içerisinde kullanılmıştır. Balık atığı çorbası Mol (11) tarafından önerilen yöntemle göre hazırlanmışken, balık köftesi ise Kilinc (12) ve Yerlikaya (13) tarafından önerilen formülasyonlar baz alınarak yapılmıştır. Çorba ve köfte gruplarına % 0.1 ve 0.8 (w/w) arasında değişen miktarlarda MSG, % 0.6 ve 1 (w/w) arasında değişen miktarlarda tuz ilave edilmiştir (6, 14-16). Levrek balıklarının filetosu çıkartılarak iç organlar atılmış; kafa, kemik ve kuyruk kısmı kullanılmak üzere ayrılmıştır. Ayrılan kafa, kemik ve kuyruk atıklarından MSG içeren iki farklı çorba grubu oluşturulmuş ve her grup için 230 g atık kullanılmıştır. İki grubun da içine 35 g havuç, 45 g soğan, 3 g mantar, 3 g maydanoz ve 9 g un ilave edilmiştir. Gruplar MSG içermelerine göre isimlendirilmiş olup % 0.3 tuz + % 0.3 MSG içeren grup "TM1" ve % 0.4 tuz + % 0.2 MSG içeren grup "TM2" olarak kodlanmıştır. Her bir çorba grubu çelik tencerede 1 litre su ile 35 dakika kaynatılmıştır (Çizelge 1). Hamsi balıklarının ise baş, kılçık ve kuyruk kısmı ayrılmış, iç organları temizlenmiş, derili kelebek filetoları çıkarılmıştır. Ayrılan filetolar kan ve iç organ atıklarından uzaklaştırılmak için akan musluk suyu altında iyice yıkanmıştır. Suları uzaklaştırılan

filetolar homojenizatör (Retsch, GM 200, Germany) yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Balık köftesi yapımında geleneksel köfte harcı tarifi kullanılmıştır. Yaklaşık 800 g köfte harcı için 500 g homojenize hamsi filetosu, 145 g beyaz ekmek kırıntısı, 85 g soğan, 52 g yumurta, 18.5 g maydanoz, 2.5 g karabiber ve 2.5 g kırmızı pul biber kullanılmıştır. Elde edilen bu köfte harcı iyice yoğurulduktan sonra 250 gramlık tartımlarla iki grup oluşturulmuştur. % 0.8 MSG içeren grup "M", % 0.5 tuz + % 0.5 MSG ilave edilen grup ise "TM" olarak kodlanmıştır (Çizelge 1). Her bir köfte grubu harcına köfte şekli verilerek teflon tavada kızartılmıştır. Yapılan ürünlerin formülleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. Referans örnek olarak kullanılan balık çorbasında % 0.6 oranında tuz, balık köftelerinde ise % 1 oranında tuz kullanılmıştır.

## Yöntem

### Duyusal analiz

Balık çorbası ve balık köftesi grupları deneyimli panelistler tarafından eşlenmiş karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir (14, 17). Duyusal değerlendirmeden doğru sonuç alabilmek için on tane eğitimli, altı temel tada duyarlılığı belirlenmiş, uzman, 30 - 45 yaş aralığında panelistler kullanılmıştır. Duyusal değerlendirme sırasında panelistlere damak temizleyici olarak

su ve tuzsuz kraker verilmiştir. Panelistlere test protokolü açık bir şekilde izah edilmiştir ve gerekli oryantasyonlar yapılmıştır. Çorba grupları cam bardaklarda, köfteler de dilimlenerek (4.5 x 3 cm) sıcak olarak sunulmuştur. Çalışmada eşlenmiş karşılaştırma testi amacıyla kullanılan duyusal çizelge Komata (18) ile Yamaguchi ve Kimizuka (14) tarafından sunulmuş formdan modifiye edilerek oluşturulmuştur (Çizelge 3). Çorba ve köfte grupları kendi içinde aroma, temel tatlar, lezzet özellikleri ve genel tercih ve açısından değerlendirilmiştir. Aynı ürünün farklı iki grubu ise referans örneğe göre değerlendirilmiş olup, gruplar (TM1-TM2 ve M-TM) kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Panelistler, duyusal parametreleri beş puan üzerinden (kesinlikle az, kısmen az, neredeyse aynı, kısmen fazla, kesinlikle fazla) değerlendirmiştir ve her değer sonuçları bu puanların ortalamaları olarak verilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 21.0 (SPSS Inc. Chicago, IL) programında uygulanmıştır. Çorba (TM1-TM2) ve köfte (M-TM) gruplarının ortalama sonuçları, kendi aralarında bağımsız örneklem T testi yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel önem  $P < 0.05$  olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. Çorba ve köfte gruplarının tuz ve MSG içeriği.  
Table 1. Salt and MSG content of fish soup and fish ball groups.

Gruplar Groups	Tuz/MSG içeriği Salt/MSG content	Gruplar Groups	Tuz/MSG içeriği Salt/MSG content
Balık çorbası <i>Fish soup</i>		Balık köftesi <i>Fish ball</i>	
T S	% 0.6 tuz NaCl	T S	%1 tuz
TM1 SM1	%0.3 tuz + %0.3 MSG	M M	%0.8 MSG
TM2 SM2	%0.4 tuz + %0.2 MSG	TM SM	%0.5 tuz + %0.5 MSG

Çizelge 2. Balık çorbası ve balık köftesi formülasyonu.  
Table 2. The formulations of fish soup and fish ball.

Malzemeler <i>Materials</i>	Miktar <i>Amount</i>	Malzemeler <i>Materials</i>	Miktar <i>Amount</i>
Balık çorbası <i>Fish soup</i>		Balık köftesi <i>Fish ball</i>	
Levrek atığı <i>Sea bass waste</i>	230 g	Hamsi fileto <i>Anchovy fillet</i>	500 g
Havuç <i>Carrot</i>	35 g	Beyaz ekmek kırıntısı <i>Bread crumb</i>	145 g
Soğan <i>Onion</i>	45 g	Soğan <i>Onion</i>	85 g
Mantar <i>Mushroom</i>	3 g	Yumurta <i>Egg</i>	52 g
Maydanoz <i>Parsley</i>	3 g	Maydanoz <i>Parsley</i>	18.5 g
Un <i>Flour</i>	9 g	Karabiber <i>Black pepper</i>	2.5 g
		Kırmızı pul biber <i>Red pepper</i>	2.5 g



Çizelge 3. Balık çorbası ve balık köftesi için eşlenmiş kıyaslama testinin değerlendirme çizelgesi.  
Table 3. Evaluation sheet of paired comparison test for fish soup and fish ball.

Panelistin adı-soyadı <i>Panelist name-surname:</i>	Tarih <i>Date:</i> / /				
Ürün <i>Product:</i>	Saat <i>Hour:</i>				
894 numaralı örneği 343 numaralı örneğe göre kıyaslayınız. Teşekkür ederiz. <i>Compare sample 894 according to sample 343. Thank you.</i>					
Örnek kodları <i>Sample codes</i>	894	343			
	<i>Farklılık Difference</i>				
	Kesinlikle az <i>Certainly less</i> 1	Kısmen az <i>Slightly less</i> 2	Neredeyse aynı <i>Almost same</i> 3	Kısmen fazla <i>Slightly more</i> 4	Kesinlikle fazla <i>Certainly more</i> 5
<b>AROMA AROMA</b>					
Genel aroma (zayıf/güçlü) <i>Whole aroma weak/strong</i>					
Balığımsı <sup>1</sup> (zayıf/güçlü) <i>Fish-like weak/strong</i>					
Sebzemsi (zayıf/güçlü) <i>Vegetable-like weak/strong</i>					
Kabul edilebilirlik <i>Acceptability</i>					
<b>TEMEL TAT BASIC TASTE</b>					
Genel tat (zayıf/güçlü) <i>Whole taste weak/strong</i>					
Tuzlu (zayıf/güçlü) <i>Saltiness weak/strong</i>					
Tatlı (zayıf/güçlü) <i>Sweetness weak/strong</i>					
Ekşi (zayıf/güçlü) <i>Sour weak/strong</i>					
Acı (zayıf/güçlü) <i>Bitter weak/strong</i>					
<b>LEZZET ÖZELLİKLERİ FLAVOR CHARACTERS</b>					
Ağızda kalma sürekliliği (kısa/uzun) <i>Continuity short/long</i>					
Ağız kaplayan (zayıf/güçlü) <i>Mouthfulness weak/strong</i>					
İlk etki (konsantre-yoğun, baskın çarpıcı) (zayıf/güçlü) <i>Impact concentrated-heavy, punch weak/strong</i>					
İçim yumuşaklığı <sup>2</sup> (yumuşak/sert) <i>Mildness mild/harsh</i>					
Koyuluk <sup>3</sup> (seyrek/koyu) <i>Thickness thin/thick</i>					
<b>DİĞER LEZZET OTHER FLAVOR</b>					
Baharatımsı <i>Spicy</i>					
Yağımsı <i>Oily</i>					
Balığımsı <i>Fish-like</i>					
Sebzemsi <sup>4</sup> <i>Vegetable-like</i>					
<b>GENEL TERCİH WHOLE PREFERENCE</b>					
Lezzetlilik <i>Palatability</i>					

<sup>1,2,3,4</sup>: Balık köftesi için bu değerler sırayla etimsi-köftemsi, sertlik, kıvam ve ransid olarak değerlendirilmiştir.

<sup>1,2,3,4</sup>: These values were evaluated as meaty-patty, hardness, consistency, rancid for fish ball, respectively.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

MSG ilave edilen çorba gruplarının MSG ilave edilmemiş gruba göre eşlenmiş karşılaştırma duyuşal değerlendirme sonuçları Çizelge 4'te gösterilmiştir. MSG ilave edilen köfte gruplarının MSG ilave edilmemiş gruba göre eşlenmiş karşılaştırma duyuşal değerlendirme sonuçları ise Çizelge 5'te verilmiştir.

Balık çorbasının TM1 ve TM2 gruplarının genel aroma, balığımsı aroma, sebzemsi, kabul edilebilirlik, genel tat, ağızda kalma sürekliliği, ağızı kaplayan, ilk etki, yumuşak içim, koyuluk duyuşal özellikleri referans örnekle "neredeşeyse aynı" bulunmuştur. Her iki grubun (TM1-TM2) tuzlu, ekşi, acı baharatımsı ve yağımsı parametreleri referans örneğe göre "kısmen az" olarak bulunmuştur. TM1 grubunun tatlı ve sebzemsi özellikleri referans örnek ile "neredeşeyse aynı" bulunurken, TM2 grubunun bu özellikleri "kısmen az" olarak belirtilmiştir. Diğer lezzet başlığı altındaki balığımsı parametre, TM1 grubu için referans örneğe göre "kısmen az" olarak bulunurken, TM2 grubu için "neredeşeyse aynı"

olarak tespit edilmiştir. Bu parametre açısından iki grup arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Lezzet açısından genel tercih yapıldığında TM1 grubu referans örneğe göre "neredeşeyse aynı" bulunurken, TM2 grubu ise "kısmen fazla" bulunmuştur.

Balık köftesinin M ve TM gruplarının genel aroma, balığımsı aroma, tuzlu, ekşi, acı, baharatımsı, yağımsı, balığımsı ve ransid özellikleri referans örneğe göre "kısmen az" olarak bulunmuştur. Bu grupların sertlik ve kıvam özellikleri referans örneğe göre ise "neredeşeyse aynı" olarak tespit edilmiştir. M grubunun etimsi-köftemsi, kabul edilebilirlik, genel tat, tatlı, ağızda kalma sürekliliği, ağızı kaplayan ve ilk etki özellikleri referans örneğe göre "kısmen az" olarak bulunurken, TM grubunun bu özellikleri ise "neredeşeyse aynı" olarak bulunmuştur. Genel tat ve tatlı parametreleri açısından bu iki grup arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Genel tercih olarak lezzet açısından M grubu referans örneğe göre "kesinlikle az" olarak bulunurken, TM grubu "neredeşeyse aynı" olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. Balık çorbası gruplarının eşlenmiş kıyaslama testi sonuçları.

Table 5. The results of paired comparison test for fish soup groups.

	TM1 SM1	TM2 SM2
<b>AROMA AROMA</b>		
Genel aroma <i>Whole aroma</i>	3.30 <sup>a</sup> ±0.95	3.40 <sup>a</sup> ±1.08
Balığımsı <i>Fish-like</i>	3.10 <sup>a</sup> ±1.29	3.70 <sup>a</sup> ±1.06
Sebzemsi <i>Vegetable-like</i>	3.00 <sup>a</sup> ±0.94	2.60 <sup>a</sup> ±1.08
Kabul edilebilirlik <i>Acceptability</i>	3.10 <sup>a</sup> ±0.99	3.50 <sup>a</sup> ±0.85
<b>TEMEL TEST BASIC TASTE</b>		
Genel tat <i>Whole taste</i>	3.50 <sup>a</sup> ±0.71	3.30 <sup>a</sup> ±1.16
Tuzlu <i>Salty</i>	2.10 <sup>a</sup> ±0.99	2.00 <sup>a</sup> ±1.05
Tatlı <i>Sweet</i>	3.30 <sup>a</sup> ±0.68	2.80 <sup>a</sup> ±0.42
Ekşi <i>Sour</i>	2.70 <sup>a</sup> ±0.68	2.90 <sup>a</sup> ±0.32
Acı <i>Bitter</i>	2.80 <sup>a</sup> ±0.63	2.80 <sup>a</sup> ±0.63
<b>LEZZET ÖZELLİKLERİ FLAVOR CHARACTERS</b>		
Ağızda kalma sürekliliği <i>Continuity</i>	3.70 <sup>a</sup> ±0.68	3.60 <sup>a</sup> ±0.84
Ağızı kaplayan <i>Mouthfulness</i>	3.60 <sup>a</sup> ±0.84	3.20 <sup>a</sup> ±0.79
İlk etki (konsantrasyon-yoğun, baskın çarpıcı) <i>Impact concentrated-heavy, punch</i>	3.80 <sup>a</sup> ±0.92	3.50 <sup>a</sup> ±0.85
İçim yumuşaklığı <i>Mildness</i>	3.40 <sup>a</sup> ±1.08	3.60 <sup>a</sup> ±0.84
Koyuluk <i>Thickness</i>	3.00 <sup>a</sup> ±0.82	3.30 <sup>a</sup> ±0.48
<b>DİğER LEZZET OTHER FLAVOR</b>		
Baharatımsı <i>Spicy</i>	2.70 <sup>a</sup> ±0.82	2.80 <sup>a</sup> ±1.03
Yağımsı <i>Oily</i>	2.70 <sup>a</sup> ±0.68	2.80 <sup>a</sup> ±0.42
Balığımsı <i>Fish-like</i>	2.70 <sup>a</sup> ±1.06	3.70 <sup>a</sup> ±0.68
Sebzemsi <i>Vegetable-like</i>	3.10 <sup>a</sup> ±0.74	2.80 <sup>a</sup> ±0.63
<b>GENEL TERCİH WHOLE PREFERENCE</b>		
Lezzetlilik <i>Palatability</i>	3.80 <sup>a</sup> ±0.92	4.10 <sup>a</sup> ±0.74

<sup>a,b</sup>: Aynı satırda yer alan küçük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli ( $P < 0.05$ ) olduğunu göstermektedir.

<sup>a,b</sup>: Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 5. Balık köftesi gruplarının eşlenmiş kıyaslama testi sonuçları.  
Table 6. The results of paired comparison test for fish ball groups.

	M M	TM SM
<b>AROMA AROMA</b>		
Genel aroma <i>Whole aroma</i>	2.30 <sup>a</sup> ±0.95	2.80 <sup>a</sup> ±0.79
Balığimsı <i>Fish-like</i>	2.50 <sup>a</sup> ±1.18	2.50 <sup>a</sup> ±0.85
Etimsi-köftemsı <i>Vegetable-like</i>	2.90 <sup>a</sup> ±0.99	3.10 <sup>a</sup> ±0.74
Kabul edilebilirlik <i>Acceptability</i>	2.50 <sup>a</sup> ±1.35	3.20 <sup>a</sup> ±1.23
<b>TEMEL TEST BASIC TASTE</b>		
Genel tat <i>Whole taste</i>	2.10 <sup>a</sup> ±1.20	3.20 <sup>a</sup> ±0.79
Tuzlu <i>Salty</i>	2.00 <sup>a</sup> ±0.94	2.30 <sup>a</sup> ±0.68
Tatlı <i>Sweet</i>	2.40 <sup>a</sup> ±0.70	3.10 <sup>a</sup> ±0.57
Ekşi <i>Sour</i>	2.90 <sup>a</sup> ±0.32	2.90 <sup>a</sup> ±0.32
Acı <i>Bitter</i>	2.60 <sup>a</sup> ±0.70	2.90 <sup>a</sup> ±0.57
<b>LEZZET ÖZELLİKLERİ FLAVOR CHARACTERS</b>		
Ağızda kalma sürekliliği <i>Continuity</i>	2.40 <sup>a</sup> ±1.08	3.30 <sup>a</sup> ±0.95
Ağızı kaplayan <i>Mouthfulness</i>	2.70 <sup>a</sup> ±1.25	3.30 <sup>a</sup> ±0.95
İlk etki (konsantre-yoğun, baskın, çarpıcı) <i>Impact concentrated-heavy, punch</i>	2.60 <sup>a</sup> ±0.97	3.10 <sup>a</sup> ±0.99
Sertlik (kolay çiğnenebilirlik) <i>Hardness chewiness</i>	3.10 <sup>a</sup> ±0.32	3.30 <sup>a</sup> ±0.68
Kıvam (kalınlık) <i>Consistency thickness</i>	3.00 <sup>a</sup> ±0.47	3.30 <sup>a</sup> ±0.68
<b>DİĞER LEZZET OTHER FLAVOR</b>		
Baharatımsı <i>Spicy</i>	2.00 <sup>a</sup> ±0.82	2.30 <sup>a</sup> ±0.48
Yağimsı <i>Oily</i>	2.70 <sup>a</sup> ±0.82	2.80 <sup>a</sup> ±0.42
Balığimsı <i>Fish-like</i>	2.30 <sup>a</sup> ±0.95	2.50 <sup>a</sup> ±0.53
Ransid <i>Ransid</i>	2.90 <sup>a</sup> ±0.57	2.90 <sup>a</sup> ±0.38
<b>GENEL TERCİH WHOLE PREFERENCE</b>		
Lezzetlilik <i>Palatability</i>	1.90 <sup>a</sup> ±1.45	3.10 <sup>a</sup> ±1.37

<sup>a</sup> <sup>b</sup>: Aynı satırda yer alan küçük harfler gruplar arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli ( $P < 0.05$ ) olduğunu göstermektedir.

<sup>a</sup> <sup>b</sup>: Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

Tat, tüketicilerin bir gıda ürününü satın almalarını etkileyen en önemli faktörlerden biridir (19). Sodyum, gıda ürünlerinin tadını ve diğer duysal özelliklerini geliştirirken, diğer taraftan fazla alımıyla kronik bazı hastalıklara yol açmaktadır (20). Sodyum, büyük çoğunlukla da klorür tuzu (NaCl) olarak tüketilmekte ve bu sodyumun en az %75 oranındaki alımı ise işlenmiş gıdalara eklenen NaCl'den olduğu tahmin edilmektedir (21). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kalp ve damar hastalıklarının önüne geçilmesi için günlük tuz alımının kişi başına 5 gramdan az olmasını önermektedir (22). Türkiye'de günlük tuz tüketimi ise 18 gram olup, tavsiye edilen değer üç katıdır (23). Besinlerle alınan tuz miktarı kan basıncı seviyesinin ve tüm kalp ve damar hastalıkları riskinin önemli bir belirleyicisidir (24). Tuz alımının orta derecede azaltılması kan basıncı üzerinde önemli bir etki yaratmaktadır (25). Bu yüzden, Sağlık Bakanlığı gıdaların daha düşük tuzlu tüketilmesi için gıda endüstrisiyle iş birliği ve

halkın aşırı tuz tüketiminin önüne geçmek için bilinçlendirme çalışmalarına başlamıştır. Ancak, tuzu azaltırken gıdanın lezzetini korumak oldukça zor olabilmektedir. Bu sorunu gidermek için yeni formülasyonlarla kullanılacak lezzet arttırıcılara gerek duyulmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada farklı ürün gruplarında lezzet arttırıcı olarak MSG'ın etkisi çalışılmıştır.

Bu çalışmada balık çorbalarına ilave edilen MSG'ın referans örneğiyle karşılaştırılmasına göre, aroma, temel test ve lezzet özellikleri üzerine etkisi bulunmazken, lezzet açısından genel tercihi arttırdığı görülmüştür. Bu sonuçlar, balık, su ürünleri, et, sebze ve karma ürünlerde MSG ve benzer umami içeren maddelerin oldukça etkili lezzet arttırıcılar olduğunu bildiren çalışmalarla benzerlik göstermektedir (14, 26-28). Balığimsı tat, TM1 grubunda referans örneğe göre azalmış olup, TM2 grubunda değişmemiştir. TM2 çorba grubu TM1 çorba grubuna göre daha çok beğenilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre,

balık çorbasında %33 oranında tuzu azaltmanın, %50 oranında azaltmaya göre daha çok tercih edildiğini göstermektedir. Çorbalarda tuz miktarının yaklaşık olarak % 40 oranında azalması, sodyum miktarının da %12'lik bir düşüşü ile sonuçlanmaktadır (26). Bellisle (6) çorbalarda lezzet etkilenmeksizin sodyum miktarında % 40'lık bir azaltmanın, % 0.6 - 0.8'lik MSG ilavesiyle yapılabileceğini belirtmiştir. Bu bağlamda, bu literatür verileri çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Umami katkıları, çorbalarda olumlu lezzet değişikliklerine neden olmaktadır (29). Çalışmamıza benzer olarak, çeşitli çorbalara ilave edilen MSG ve benzeri umami katkıları çorbaların genel lezzet özelliklerini olumlu şekilde arttırmıştır (26, 29, 30). Çalışmada, uygun oranlarda MSG ile birlikte %33 - 50 daha az tuz ilave edilen çorbaların lezzet özelliği referans örneğe göre artarken, aynı grubun tuzluluk etkisinin referans örneğe göre azalmış olduğu gözlenmiştir. Belli miktarlarda tuz ile birlikte daha düşük oranlarda MSG ilavesinin çorbaların hedonik derecelendirmede lezzetini direkt arttırdığı bildirilirken (28), tuzluluğun çorba için beğenin belirlenmesinde bir kriter olmadığı ifade edilmiştir (31). Yapılan çalışmalarda farklı oranlarda MSG ve tuz kullanılmış çorbaların, bu çalışmaya benzer şekilde lezzetliliği artarken, tuzluluk etkisinin azaltıldığı bildirilmiştir (15, 28, 31, 32).

Bu çalışmada yalnızca MSG ilave edilen balık köftelerinin aroma, temel test ve lezzet özellikleri artmamış olup, aynı zamanda genel tercih olarak lezzetlilik düşük bulunmuştur. Tuz olmadan sadece MSG kullanımı köftelerin lezzet özelliklerini düşürmüştür. Her iki balık köftesi grubunun tuzluluk etkisi referans örneğe göre azalmış olarak belirlenmiştir. Balık köftelerinde belli oranda tuz ile kullanılan MSG'ın, genel tadı arttırdığı görülmüştür. Bu kombinasyonun, lezzet özellikleri üzerine etkisinde istatistiksel olarak fark bulunmazken, belli oranda tuz ile eklenen MSG'lı köfteler (TM), sadece MSG ilave edilen gruba (M) göre daha çok beğenilmiştir. Tuzun MSG ile birlikte kullanılması balık köftelerindeki genel beğeniyi arttırmıştır. Benzer sonuçlar başka çalışmalar tarafından da bildirilmiştir (27, 29, 31, 33). Tuzla

birlikte belli oranlarda kullanılan MSG'ın köftelerdeki lezzeti arttırırken tuzluluk etkisini azalttığı bildirilmiştir. Farklı çalışmalar bu bulgularla benzer sonuçlar elde etmişlerdir (15, 28, 31, 32).

Bu bağlamda hem çorba hem de köfte ürün grupları için MSG kullanımı, ürünlere normalden daha az miktarlarda tuz eklenebilmesine olanak sağlamıştır. Çalışmamıza benzer olarak, tavuk suyuyla yapılan bir çalışmada MSG miktarının artması ve tuz miktarının azaltılması hedonik skala değeri açısından sadece tuz kullanılarak yapılan örnekle benzer olduğu belirtilmiştir (33). Başka bir çalışmada sonuçlarla benzer olarak, çorbalarda optimal miktarda kullanılan MSG ile birlikte kullanılan NaCl seviyesinin düşürülmesi önerilmiştir. Böylece düşük sodyum miktarının çorbalarda lezzet açısından en yüksek puanı aldığı bildirilmiştir (28). Farklı çalışmalarda tuz ile birlikte MSG kullanıldığında, sadece tuz kullanımına göre daha az miktardaki tuz ilave edilerek aynı lezzetin sağlandığı bildirilmiştir (28, 33). Hem balık çorbası hem de balık köftesinde, tuz ile kombine olarak kullanılan MSG'ın ürünlerin genel beğenisine olan etkisi daha fazla olmuştur. Gıdalarda maksimum lezzet için, MSG ve NaCl arasında dengeleyici bir ilişki bulunmaktadır. Tuz oranı azaltıldığında daha fazla MSG'ye ihtiyaç duyulurken, MSG oranı azaltıldığında da daha fazla tuz oranına ihtiyaç duyulmaktadır (28).

Sonuç olarak bu çalışmada, balık çorbası ve balık köftesinde kullanılan MSG'ın, düşük sodyumlu çorba ve köftelerin tat ve lezzetini artırıp geliştirdiği gözlenmiştir. Bu sonuçlarla FDA (34) tarafından güvenli (GRAS) olarak kabul edilen MSG'ın gıdalardaki kullanımını, aynı zamanda sodyum miktarının düşürülmesine yönelik talebi karşılamak açısından yararlı olabilecektir. Bu çalışmanın sonuçları, ileride su ürünleri ile yapılacak farklı ürünler için tuzdaki sodyum içeriğine alternatif olabilecek lezzet artırıcılar ve MSG'ın kullanımında ve karşılaştırmasında veri kaynağı sağlayacaktır.

### Teşekkür

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, BEK-56138 kodlu proje tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Jinap S, Hajeb P. 2010. Glutamate: Its applications in food and contribution to health. *Appetite*, 55, 1-10.
2. Yamaguchi S, Ninomiya K. 2000. Umami and food palatability. *J Nutr*, 130, 921-926.
3. Prescott J, Young A. 2002. Does information about MSG (monosodium glutamate) content influence consumer ratings of soups with and without added MSG? *Appetite*, 39, 25-33.
4. Walker R, Lupien JR. 2000. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J Nutr*, 30, 1049-1052.
5. Wakita A, Sarukuro N, Kimura Y, Shikanai S, Iwamoto T, Uneyama T, Yamamoto S. 2013. Dietary salt and health: umami seasoning as an attempt to reduce salt intake. *J Nutr Food Sci*, S10: 008.
6. Bellisle F. 1998. Nutritional effects of umami in the human diet. *Food Rev Int*, 14, 309-319.
7. Ersoy B, Yanar Y, Küçükgülmez A, Çelik M. 2006. Effects of four cooking methods on the heavy metal concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785). *Food Chem*, 99, 748-751.
8. TÜİK. 2016. Su ürünleri istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> (Erişim tarihi 22 Aralık 2016).
9. TÜİK. 2014. *Su Ürünleri İstatistikleri 2013*. Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, Ankara, Türkiye, 61 s.
10. Karaçam H, Kutlu S, Köse S. 2002. Effect of salt concentrations and temperature on the quality and shelf-life of brined anchovies. *Int J Food Sci Technol*, 37, 19-28.
11. Mol S. 2005. Preparation and the shelf-life assessment of ready-to-eat fish soup. *Eur Food Res Technol*, 220, 305-308.
12. Kilinc B. 2009. Microbiological, sensory and color changes of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) patties during refrigerated storage. *J Muscle Foods*, 20, 129-137.
13. Yerlikaya P, Gokoglu N, Uran H. 2005. Quality changes of fish patties produced from anchovy during refrigerated storage. *Eur Food Res Technol*, 220, 287-291.
14. Yamaguchi S, Kimizuka A. 1979. Psychometric studies on the taste of monosodium glutamate. In: *Glutamic Acid: Advances in Biochemistry and Physiology*, Filer Jr LJ (chief ed), Raven Press, New York, USA, pp. 35-54.
15. Roininen K, Lahteenmaki L, Tuorila H. 1996. Effect of umami taste on pleasantness of low salt soups during repeated testing. *Physiol Behav*, 60, 953-958.
16. Luscombe-Marsh ND, Smeets AJPG, Westerterp-Plantenga MS. 2008. Taste sensitivity for monosodium glutamate and an increased liking of dietary protein. *Br J Nutr*, 99, 904-908.
17. MEB. 2010. *Gıda Teknolojisi Duyusal Test Teknikleri*. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, Türkiye, 72 s.
18. Komata Y. 1990. Umami taste of seafoods. *Food Rev Int*, 6, 457-487.
19. Drewnowski A, Darmon N. 2005. The economics of obesity: Dietary energy density and energy cost. *Am J Clin Nutr*, 82, 265-273.
20. Smith-Spangler CM, Juusola JL, Enns EA, Owens DK, Garber AM. 2010. Population strategies to decrease sodium intake and the burden of cardiovascular disease. *Ann Intern Med*, 152 (8), 481-487.
21. Moller KK, Rattray FP, Bredie WLP, Hoier E, Ardo Y. 2013. Physicochemical and sensory characterization of cheddar cheese with variable NaCl levels and equal moisture content. *J Dairy Sci*, 96, 1953-1971.
22. WHO. 2012. *Guideline: Sodium Intake for Adults and Children*. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland.
23. TC Sağlık Bakanlığı. 2015. Türkiye Kalp ve Damar Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı Eylem Planı (2015-2020). TC Sağlık Bakanlığı, Ankara.
24. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala NBK, Cappuccio FP. 2009. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: Meta-analysis of prospective studies. *Br Med J*, 2009 Nov 24, 339: b4567.
25. He FJ, MacGregor GA. 2009. A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. *J Hum Hypertens*, 23, 363-384.

26. Leong J, Kasamatsu C, Ong E, Hoi JT, Loong MN. 2016. A Study on sensory properties of sodium reduction and replacement in asian food using difference fom control test. *Food Sci Nutr*, 4 (3), 469-478.
27. Yamaguchi S. 1998. Basic properties of umami and its effects on food flavour. *Food Rev Int*, 14, 139-176.
28. Yamaguchi S, Takashashi C. 1984. Interaction of MSG and NaCl on saltiness and palatability of clear soups. *J Food Sci*, 49, 82-85.
29. Barylko-Pikielna N, Kostyra E. 2007. Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect. *Food Qual Prefer*, 18, 751-758.
30. Carter BE, Monsivais P, Drewnowski A. 2011. The sensory optimum of chicken broths supplemented with calcium di-glutamate: A possibility for reducing sodium while maintaining taste. *Food Qual Prefer*, 22, 699-703.
31. Ball P, Woodward D, Beard T, Shoobridge A, Ferrier M. 2002. Calcium diglutamate improves taste characteristics of lower-salt soup. *Eur J Clin Nutr*, 56, 519-523.
32. Okiyama A, Beauchamp GK. 1998. Taste dimensions of monosodium glutamate (MSG) in a food system: Role of glutamate in young American subjects. *Physiol Behav*, 65, 177-181.
33. Chi SP, Chen TC. 1992. Predicting optimum monosodium glutamate and sodium chloride concentrations in chicken broth as affected by spice addition. *J Food Process Pres*, 16, 313-326.
34. FDA. 2012. Questions and answers on monosodium glutamate (MSG). <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm328728.htm> (Accessed 22.12.2016).

## ISPARTA'DA ÜRETİLEN EŞEK SÜTÜNÜN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve Şahintürk\*, Zübeyde Öner

Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta/ Türkiye

Geliş / *Received*: 08.12.2016; Kabul / *Accepted*: 07.03.2017; Online baskı / *Published online*: 31.03.2017

Şahintürk, M., Öner, Z. (2017). Isparta'da üretilen eşek sütünün kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2017) 42 (4): 348-354 doi: 10.15237/gida.GD16105

### Öz

Bu çalışmada 13 adet eşek sütünün kimyasal özelliklerinden kuru madde (%), yağ (%), pH ve titrasyon asitliği (°SH) değerleri belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analizlerden toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB), laktik asit bakterileri (LAB), koliform grup bakteri, enterokok, stafilokok/ mikrokok ve *Staphylococcus aureus* analizleri gerçekleştirilmiştir. Eşek sütünün protein profili Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemi ile belirlenmiştir. Eşek sütlerinde pH, titrasyon asitliği, kuru madde ve yağ değerleri sırasıyla 7.16-7.62, 2.0-3.5, 8.42-9.82, 0.40-0.95 aralıklarında değişim göstermiştir. Örneklerin toplam mezofil aerob bakteri sayısı 3.12-7.48 log kob/mL, laktobasil ve laktokok sayısı 3.35-5.58 log kob/mL, 4.3-6.93 log kob/mL, enterokok 3.55-5.01 log kob/mL, koliform grup bakteri sayısı 3.51-6.45 log kob/mL, stafilokok/mikrokok sayısı 3.53-6.31 log kob/mL olarak saptanmıştır. Tüm süt örneklerinde *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Eşek sütü, fiziksel özellikler, kimyasal özellikler, SDS-page

## DETERMINATION OF CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF DONKEY'S MILK PRODUCED IN ISPARTA

### Abstract

In this study, dry matter (%), fat (%), pH and titratable acidity (°SH) values were determined from chemical properties of 13 donkey's milk. Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), lactic acid bacteria (LAB), coliform group bacteria, enterococci, staphylococcus/micrococcus and *Staphylococcus aureus* analyses were performed. Donkey's milk protein profile determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-page) method. pH, titratable acidity, dry matter and fat values ranged from 7.16 to 7.62, 2.0 to 3.25, 8.42 to 9.82, 0.40 to 0.95 respectively. The total mesophilic aerob bacteria counts of the samples were determined 3.12-7.48 log-cfu/mL, *Lactobacilli* and *Lactococci* 3.35-5.58 log-cfu/mL, 4.3-6.93 log-cfu/mL, *Enterococci* spp 3.55-5.01 log-cfu/mL, Coliform group bacteria counts 3.51-6.45 log-cfu/mL and *Staphylococcus/micrococcus* 3.53-6.31 log-cfu/mL. *Staphylococcus aureus* was not detected in all milk samples.

**Keywords:** Donkey milk, physical properties, chemical properties, SDS-page

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ mervesahintrk@hotmail.com,

☎ (+90) 507 546 2823,

☎ (+90) 246 211 1538

## GİRİŞ

Süt, bebekler ve yetişkinler için önemli besin bileşenlerini içeren, bağışıklık sistemini koruyucu, biyolojik olarak aktif bileşenleri barındıran bir gıda maddesidir (1). Son yıllarda, inek haricindeki memeli hayvanların (keçi, eşek, kısrak, deve) sütlerinden anne sütüne en yakın olanı belirlemek için çalışılmaktadır. Eşek sütü fonksiyonel içeriğinden ve anne sütüne benzerliğinden dolayı inek sütü yerine önerilmektedir. İçerdiği yüksek oranda serum proteinleri, esansiyel yağ asitleri, immüoglobülinler, laktoferrin ve lizozim gibi bileşenler sayesinde sağlık açısından önemli gıdalar arasında görülmektedir. Yağ asitlerinden linolenik ve linoleik asitleri yüksek düzeyde bulundurması eşek sütünün kolesterol düşürücü aktiviteye sahip olmasını sağlamaktadır. Ayrıca böbrek sağlığını koruma, damar sertliğini önleme, bağışıklık sistemi hastalıklarını engelleme ve akciğer tümörüne karşı etkili olduğu yönünde yapılan çalışmalar bulunmaktadır (2). Bileşiminde yüksek oranda bulunan lizozim ve laktoferrin etkisiyle bakteri yükünün az olması da onu avantajlı kılan özelliğidir. Vitamin ve mineral madde yönünden zengin olan eşek sütü yaşlanmayı geciktirici özelliğe sahip olmasının yanında, kimyasal bileşiminin anne sütüne benzerlik göstermesi ve kazeinle serum proteinleri arasında iyi bir dengenin bulunması onu çok yönlü bir besin kaynağı haline getirmektedir (3).

Bu çalışmada; ülkemiz coğrafyasında yaşayan eşeklerin sütlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra protein profilinin diğer sütler ile mukayesesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada 13 adet eşek sütü örneği Isparta'da bulunan Hayat Eşek Çiftliği'nden temin edilmiş ve numuneler steril şartlar altında laboratuvara getirilmiştir.

### Yöntem

#### Kimyasal Analizler

Laboratuvara getirilen eşek sütlerinde önce mikrobiyolojik analizler için numune alınmış daha sonra kimyasal analizlerden toplam kuru

madde, pH, titrasyon asitliği ve yağ analizleri yapılmıştır. Kimyasal analizlerden kuru madde içeriği (%), yağ içeriği (%) ve titrasyon asitliği (°SH) TS 1018 çiğ süt standardında belirtilen yöntemle tespit edilmiştir (4). Örneklerin pH değeri ise WTW İnoLab dijital pH metre kullanılarak belirlenmiştir.

#### Mikrobiyolojik Analizler

Analizi yapılacak örneklerden uygun dilüsyonlar hazırlanarak toplam bakteri sayısı için Plate Count Agar (PCA), laktik asit bakterilerinden laktokoklar için M17 agar, laktobasiller için Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar, koliform grubu bakteri için Eosin Metilen Blue Agar (EMB), stafilkok/mikrokok ve *Staphylococcus aureus* için Baird Parker Agar (BPA), enterokoklar için Azide Dextrose Agar isimli besiyerlerine ekim yapılarak uygun sıcaklık ve sürede inkübasyona bırakılmıştır (5).

#### Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

Eşek sütünün protein profilinin belirlenmesinde %30 akrilamid çözeltisi, %10 SDS, %10 amonyum per sulfat, 1.5 M Tris-HCl (pH 8,8) ve 1.0 M Tris-HCl (pH 6,8) kullanılmıştır (6). Jeller hazırlandıktan sonra 15 µL örnek ve 10 µL standart yüklenmiştir. Hazırlanan elektrofrez düzeneği 100 V sabit akım altındaki sistemde yaklaşık 3 saat boyunca yürütülmüştür. Oluşan bantların optik dansitometresi ve yaklaşık moleküler ağırlıkları ImageJ 1.45 ve Gel Jel Analyzer 2010 programları ile hesaplanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Kimyasal Analiz Sonuçları

Kuru madde miktarı laktasyon periyodu boyunca değişkenlik gösterir. Ayrıca hayvan yaşının etkisi, yemin etkisi, hayvanların psikolojik durumu ve bakımın etkisi kuru madde miktarını etkilemektedir. Çizelge 1'de görüldüğü üzere eşek sütünün kuru madde içeriği ortalama %9.19 olarak belirlenmiştir. Eşek sütünün toplam kuru madde miktarı genel olarak kısrak sütüne (%10.2-11.0) benzer olup, anne sütüne (%11.7-12.9) ve inek sütüne (%12.5-13.0) oranla daha düşüktür (7). Di Renzo ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada eşek sütünün kuru madde içeriğinin %10.1, keçi sütünün ise %14.6 olduğunu rapor etmişlerdir (8).



Çizelge 1. Eşek sütünün kimyasal analizleri (n=13)

Table 1. Chemical analysis of donkey Milk (n=13)

Kuru Madde (%) Dry Matter (%)	Yağ (%) Fat (%)	Asitlik (°SH) Acidity (°SH)	pH pH
9.19±0.39	0.58±0.18	2.68±0.41	7.35±0.11

Eşek sütü, düşük doymuş yağ asidi oranı ve içerdiği esansiyel yağ asitleri ile insan metabolizmasının temel fonksiyonları için önemli bir besin kaynağıdır. Eşek sütünün yağ içeriği ortalama %0.58 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Ortalama yağ miktarı kısırak sütü (%1.2) ile benzerlik gösterirken anne sütü (%3.5-4.0) ve inek sütünden (%3.5-3.9) oldukça düşüktür (9, 10). Yapılan çalışmalarda yağ içeriğinin 0.62 g/100 g (8), 0.57 g/100 ml (11), 0.02-2.05 g/100 g aralığında (12) olduğu bildirilmiştir. Emzirme dönemlerinde yağ içeriğinde farklılıklar gözlemlenmiştir (7).

Eşek sütünün titrasyon asitliği 2.68 °SH olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Bu veriler düşük kazein, fosfat ve sitrat içeriği ile ilişkilidir. Sütün asitliği, bileşimindeki maddelerle ilgili olduğu için, farklı bileşimdeki sütlerin asitlik dereceleri farklı olacaktır (7). Eşek sütünün titrasyon asitliği inek sütünden (6.2-8.9 °SH) ve anne sütünden (9-10 °SH) oldukça düşüktür (13). Ayrıca Salimei ve

### Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Çizelge 2'de görüldüğü gibi eşek sütlerinde toplam mezofil aerobik bakteri sayısı ortalama 5.53 log kob/mL olarak belirlenmiş ve farklı günlerde alınan eşek sütlerindeki toplam bakteri yoğunluğu 3.12-7.48 log kob/mL aralığında değişim göstermiştir. Sayımlar arasında görülen farklılıklar temizlik ve dezenfeksiyona verilen önemin değişken olduğunu göstermektedir. Salimei ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada; eşek sütünün toplam bakteri sayısının ortalama 4.46 log kob/mL olduğunu rapor etmişlerdir (7). Ivankovic ve ark. (2009) yaptığı çalışmada eşek sütünün ortalama somatik hücre sayısını 4.09 log kob/mL ve toplam bakteri sayısını 3.58 log kob/mL olarak belirlemişlerdir. Mikroorganizma ve somatik hücre sayılarının koyun, keçi ve inek sütünün değerlerinden düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durum hijyen ve meme sağlığı için olumlu veriler olarak kabul edilmiştir (14).

Çizelge 2. Eşek sütünün mikrobiyolojik sayım sonuçları (n=13) (log kob/mL)

Table 2. Microbiological counts of donkey milk (n=13) (log cfu/mL)

TMAB TMAB	Stap/Mikro Stap/Micro	Koliform Coliform	Lb. Lb.	Lc. Lc.	Enterococcus Enterococcus
5.53±0.99	4.71± 0.76	4.31±2.08	5.03± 0.65	5.84 ± 0.69	2.27± 2.23

TMAB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri, Stap/Mikro: *Staphylococcus/Micrococcus* spp, Lb: *Lactobacillus*, Lc: *Lactococcus*  
TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria, Stap/Mikro: *Staphylococcus/Micrococcus* spp, Lb: *Lactobacilli*, Lc: *Lactococci*

ark. (2004) çalışmalarında eşek sütünün ortalama titrasyon asitliği 2.72 °SH olarak belirlenmiştir (7). Eşek sütünün pH değeri 7.35 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü laktasyon periyodu boyunca çok fazla bir değişikliğe uğramamakta ve bu özelliği ile kısırak sütüne (7.18) benzerlik göstermektedir (12). Titrasyon asitliğinde belirtilen düşük kazein ve fosfat içeriği pH değeri için de geçerlidir (7). Eşek sütünün pH değeri inek sütünden (6.6-6.8) yüksek, anne sütüne (7.0-7.5) ise yakındır (10). Eşek sütünün pH değerini Malissiovo ve ark. (2016) 6.68-7.60 aralığında, Mariani ve ark. (2001) ise ortalama 7.03 olarak tespit etmişlerdir (11, 12).

Çalışmamızda *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamakla beraber stafilokok/mikrokok sayısı ortalama 4.71 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Zhang ve ark. (2008) ve Malissiova ve ark. (2016) yaptıkları çalışmalarda *S. aureus*'a rastlanmamıştır. Bununla beraber stafilokok sayısının ortalama  $1.6 \times 10^3$  kob/mL olmak üzere en çok  $3.6 \times 10^3$  kob/mL olduğunu bildirmişlerdir (3, 11). Stafilokok/mikrokoklar çığ süte pek çok kaynaktan bulaşır. En önemli bulaşma kaynağı mastitisli hayvanlardır. Sağımda ellerden gelen bir bulaşma da söz konusu olabilir. Bu sonuçlar, özensiz sağım, sağımdan sonra yetersiz soğutma, ortamın hijyen eksikliği ve yetersiz sanitasyondan kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda koliform grubu bakteri sayısı ortalama 4.34 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Saric ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada; eşek sütününün 4 °C' de 6 gün depolanması sonucu oluşan mikrobiyel değişimi incelemişler ve ilk dört gün eşek sütünde koliform grubu bakteriye rastlamamışlardır (15). Zhang ve ark. (2008) ise koliform grubu bakteri sayısını 2.13 log kob/mL olarak rapor etmişlerdir (3). Koliform grubu bakteriler gıdalarda ve doğada yaygın olarak bulunurlar. Dışkı aracılığıyla bulaşma özellikle süt ve süt ürünleri başta olmak üzere hayvansal gıdalarda oldukça fazladır. Literatürdeki bazı çalışmalarda koliform grubu bakteriye rastlanmaması ya da çalışmamızda elde ettiğimiz verilerden daha az saptanması analiz edilen eşek sütüne insan ya da hayvan dışkısı veya toprak bulaştığını, kötü ve yetersiz hijyen koşullarına işaret etmektedir.

Eşek sütlerindeki laktobasil sayısı ortalama 5.03 log kob/mL ve laktokok sayısı 5.84 log kob/mL olarak değişmektedir. Eşek sütününün mikroflorasını en yaygın temsil eden tür laktik asit bakterilerdir (16, 17). Zhang ve ark. (2008) eşek sütünde yaptıkları çalışmada laktik asit bakteri sayısının 4.24 log kob/mL olduğunu, Saric ve ark. (2012) ise söz konusu değerini 2.31 log kob/mL olduğunu belirtmişlerdir (3, 15).

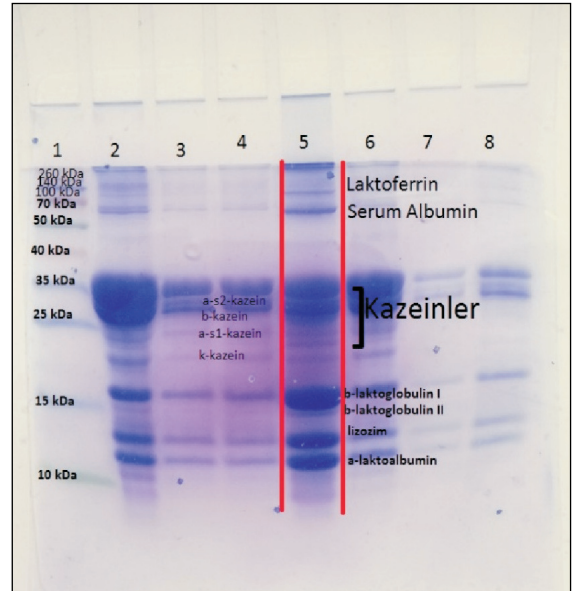
Yaptığımız çalışmada, enterokok sayısı bazı numunelerde gelişme olmamakla birlikte ortalama 2.27 log kob/mL olarak bulunmuştur. Enterokoklar her zaman, her yerde bulunabilen mikroorganizmalardır. Yeterli olmayan hijyen koşulları ile enterokoklar, yerleşik flora haline gelerek sürekli gıdalara bulaşabilirler. Fekal kontaminasyon indikatörü olarak enterokoklar sayılabilirler. Süt ürünlerinde ve diğer gıdalarda yüksek oranlarda bulunabilirler. Enterokok sayısının fazla olması hijyen eksikliğinin bir göstergesidir.

Malissiovo ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada; eşek sütününün mikrobiyel içeriğinin oldukça düşük olduğunu, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in tespit edilemediğini rapor etmişlerdir (11). Eşek sütü, bebek veya yaşlılar tarafından tercih edilecekse, beslenme gereksinimlerinin yanı sıra hijyenik açıdan da değerlendirmek gereklidir. Avrupa Birliğinin 853/2004 sayılı yönetmeliğine göre sütte 30°C'de bakteri yükünün <1500000/mL olması gerektiği Polidori ve ark. (2009) çalışmalarında belirtilmiştir (18). Avrupa ülkelerinde üretilen çiğ eşek

sütünde, gıda kaynaklı patojenler genellikle tespit edilmemiştir. Ayrıca toplam bakteri sayısı da düşüktür. Bununla birlikte eşek sütü, memenin sağlıklı olması ve hayvanların uygun hijyenik koşullarda sağılması durumunda güvenli bir gıda olduğu belirtilmiştir (19).

### Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektroferez Sonuçları

Eşek sütündeki proteinlerin elektroferez jel görüntüsü literatürdeki veriler ile benzerlik göstermektedir. Serum proteinlerinden  $\beta$ -laktoglobulin bantta baskın görünümündedir.  $\beta$ -lg'den sonra baskın olan serum proteini  $\alpha$ -laktalbumin'dir. Diğer minör serum proteinlerinden immunoglobulinler, laktoferrin ve serum albümini zayıf olarak elektroforetik jelin üst kısmında tespit edilmiştir. Eşek sütünde düşük konsantrasyonda olan bu proteinler, Coomassie Blue boyasına zor tutunmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. SDS-PAGE ile kazein ve serum proteinlerinin belirlenmesi (1. bant: Marker, 2, 3, 4, 6, 7, 8. bantlar: pH 4.6'da çöken eşek sütü kazeinleri, 5. bant: pH 4.6'da çökmeyen eşek sütü serum proteinleri)

Figure 1. SDS-PAGE of casein and whey protein bands (1.band: Marker, 2,3,4,6,7,8, bands: Caseins precipitated at pH 4.6, .5 band: whey protein fraction soluble at pH 4.6)

Çalışmamızda eşek sütündeki proteinlerin yaklaşık moleküler ağırlıkları ve serum proteinlerinin yoğunlukları tespit edilmiştir. Buna göre  $\beta$ -lg,  $\alpha$ -la, lizozim, serum albumin ve laktoferrinin yoğunlukları

sırasıyla %29.88, %16.97, %16.93, %8.57, %5.71 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü albüminli sütler grubunda olduğundan kazein fraksiyonları iz miktardadır. Kazeinlerin yaklaşık moleküler ağırlıkları 19-26 kDa aralığındadır. Benzer şekilde Malacarne ve ark. (2002), Salimei ve ark. (2004), Vincenzetti ve ark. (2008) ve Bidasolo ve ark. (2012) kazein fraksiyonlarının moleküler büyüklüğünün 30 kDa civarında olduğunu bildirmişlerdir (7, 20-22). Salimei ve ark. (2004) laktoferrin, serum albümin, lizozim,  $\alpha$ -la,  $\beta$ -lg isimli serum proteinlerinin yoğunluklarını sırasıyla %4.48, %6.18, %21.03, %22.56 ve %29.85; moleküler ağırlıklarını ise sırasıyla 75 kDa, 67 kDa, 17 kDa, 12 kDa ve 19 kDa olarak ifade etmişlerdir (7).

Eşek sütünün protein içeriği (%55 toplam protein) inek sütü ile kıyaslandığında (%80 toplam protein) daha düşüktür. Eşek sütündeki kazein fraksiyonları üzerine ilk çalışma,  $\beta$ -kazein ve  $\alpha_{s1}$ -kazeinin identifikasyonu üzerine olmuştur (20-23). Ancak yapılan bir çalışmada, proteomik yaklaşım ile  $\alpha_{s1}$ -kazein,  $\alpha_{s2}$ -kazein,  $\kappa$ -kazein ve  $\beta$ -kazeinle birlikte farklı fosforilasyon ve glikolizasyon seviyeleri tespit edilmiştir. Bu nedenle, 30 kDa civarında, elektroforetik bantlar muhtemelen dört kazein fraksiyonu içermektedir (24). Criscione ve ark. (2009) eşek ve inek sütündeki  $\alpha_{s1}$ -kazeinlerin birincil yapılarında önemli değişiklikler olduğunu ve bu özellikler ile eşek sütü alerjik reaksiyonları daha iyi tolere ettiğini belirtmişlerdir (23). Goldfarb ve ark. (1989) 125 anne sütünde iki boyutlu elektroforez sistemi kullanmışlar ve  $\alpha_{s1}$ -kazein sadece bazı süt örneklerinde saptanmıştır (25).

Yağsız eşek sütünün SDS-PAGE profili, kısırak sütüyle benzerlik göstermektedir (13,26). Potansiyel alerjenik reaksiyonların başlıca nedeni olarak gösterilen  $\beta$ -lg yüzdesi, inek sütünden daha az miktardadır ve  $\beta$ -lg toplam serum proteinlerinin %50'si kadar olabilir (27). Ayrıca eşek sütünün  $\beta$ -lg düzeyi, kısırak sütüne eşit ya da daha düşük seviyededir (28,29). Bu bulgular ile birlikte muhtemelen düşük kazein içeriği, eşek ve kısırak sütünde anti alerjenik olarak rapor edilmektedir (30-33).  $\beta$ -lg, bebeklerde ve çocuklarda asıl süt alerjeni iken; yetişkinlerde baskın alerjen olarak kazein kabul edilmektedir (34).

Araştırmada serum proteinlerinden olan laktoferrin oranı %5.71 ve lizozim ise %16.93 olarak tespit edilmiştir. Eşek sütü antimikrobiyel aktivite

gösteren iki serum proteini açısından zengindir. Bunlar laktoferrin (serum proteininin %4'ünden fazla) ve lizozim (serum proteininin yaklaşık %21'i)'dir (7). Eşek ve kısırak sütünün serum proteinlerindeki en büyük fark lizozim yüzdesidir. Eşek sütünün lizozim oranı kısırak sütünden yaklaşık %10.5 fazladır (3,21,28). İnek sütünde ise iz miktarda rastlanılmıştır (27).

## SONUÇ

Eşek sütü diğer memeli hayvanların sütleri ile karşılaştırıldığında kuru madde, yağ, asitlik değerlerinin daha düşük, pH değerinin ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik açıdan ise oldukça yüksek sayıda mikroorganizma yüküne sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum ülkemiz şartlarında, mevsimsel değişikliklerin yanı sıra, sağım şartlarının uygun olmamasından, meme ve ortam temizliğinden kaynaklanmaktadır. Sütün sağımından önce hem ortamın hem sağım makinelerinin etkin temizliğinin yapılması mikrobiyolojik yönden kaliteyi etkilemekle beraber doğru sağım ve hijyen koşulları mikroorganizma yükünü aşağıya çekecektir. Protein profili bakımından kısırak sütüne benzer özellik göstermektedir. Ancak bu konuda yapılacak daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (SDÜ\_BAP) tarafından (4440-YL1-15) desteklenmiştir. Eşek sütlerinin temin edildiği Hayat Eşek Çiftliği'ne ve SDÜ BAP birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Clare DA, Swaisgood HE. 2000. Bioactive Milk Peptides: A Prospectus. *J Dairy Sci*, 83(6): 1187-95.
2. Bidasolo BI, Ramos M, Gomez-Ruiz JA. 2012. In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion of Donkeys' Milk. Peptide Characterization by High Performance Liquid Chromatography tandem MassSpectrometry. *Int Dairy J*, 24: 146-152.
3. Zhang X, Zhao L, Jiang L, Dong M, Ren F. 2008. The Antimicrobial Activity of Donkey Milk and Its Microflora Changes During Storage. *Food Control*, 19: 1191-119.

4. Anon 2002. TS 1018 "İnek Sütü-Çiğ", Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
5. Halkman AK (ed). 2005. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık Ankara, Türkiye, 358 p.
6. Laemmli UK. 1970. Cleavage of Structural Protein During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
7. Salimei E, Fantuz F, Coppola R, Chiofalo B, Polidori P, Varisco G. 2004. Composition and Characteristics of Ass's Milk. *Anim Res*, 53: 67-78.
8. Di Renzo GC, Altieri G, Genovese F. 2013. Donkey Milk Powder Production and Properties Compared to Other Milk Powders. *Int J Dairy Sci Technol* 93 (4-5 SD): 551-564.
9. Doreau M, Martin-Rosset W. 2002a. Dairy Animals: Horse. In: Roginski, J. A. Fuquay, P. F. Fox (Eds.). In: *Encyclopedia of Dairy Sci*, London, UK: Academic Press, pp 630-637.
10. Guo HY, Pang K, Zhang XY, Zhao L, Chen SW, Dong ML, Ren FZ. 2007. Composition, Physicochemical Properties, Nitrogen Fraction Distribution, and Amino Acid Profile of Donkey Milk. *J Dairy Sci*, 90: 1635-1643.
11. Malissiova E, Arsenos G, Papademas P, Fletouris D, Manouras A, Aspri M, Nikolopoulou A, Giannopolou A, Arvanitoyannis I. 2016. Assessment of Donkey Milk Chemical Microbiological and Sensory Attributes in Greece and Cyprus. *J Soc Dairy Technol*, 69: 143-146.
12. Mariani P, Summer A, Martuzzi F, Formaggioni P, Sabbioni A, Catalano AL. 2001. Physicochemical Properties, Gross Composition, Energy Value and Nitrogen Fractions of Haflinger Nursing Mare Milk Throughout 6 Lactation Months. *Anim Res*, 50: 415-425.
13. Pagliarini E, Solaroli G, Peri C. 1993. Chemical and Physical Characteristics of Mare's Milk. *Ital J Food Sci*, 4: 323-332.
14. Ivankovic A, Ramljak J, Stulina I, Antunac N, Basic I, Kelava N. 2009. Characteristics of the Lactation, Chemical Composition and Milk Hygiene Quality of The Littoral-Dinaric Ass. *Mljekarstvo*, 59: 107-113.
15. Saric L, Saric BM, Mandic AI, Torbica AM, Tomic JM, Cvetkovic DD, Okanovic DG. 2012. Antibacterial Properties of Domestic Balkan Donkeys' Milk. *Int Dairy J*, 25: 142-146.
16. Coppola R, Salimei E, Succi M, Sorrentino E, Nanni M, Ranieri P. 2002. Behaviour of *Lactobacillus Rhamnosus* Strains in Ass's Milk. *Ann Microbiol*, 52, 55-60.
17. Sorrentino E, Di Renzo T, Succi M, Reale A, Tremonte P, Coppola R, Salimei E, Colavita G. 2010. Microbiological Characteristics of Raw Ass's Milk: Manual Vs. Machine Milking. 61st Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, Book of Abstract, 16: 44.
18. Polidori P, Beghelli D, Mariani P, Vincenzetti S. 2009. Donkey Milk Production: State of the Art. *Ital J Anim Sci*, 8(2): 677-683.
19. Pilla R, Dapra V, Zecconi A, Piccinini R. 2010. Hygienic and Health Characteristics of Donkey Milk During a Follow-Up Study. *J Dairy Res*, 77: 392-397.
20. Vincenzetti S, Polidori P, Mariani P, Cammertoni N, Fantuz F, Vita A. 2008. Donkey's Milk Protein Fractions Characterization. *Food Chem*, 106: 640-649.
21. Malacarne M, Martuzzi F, Summer A, Mariani P. 2002. Protein and Fat Composition of Mare's Milk: Some Nutritional Remarks with Reference to Human and Cow's milk. *Int Dairy J*, 12: 869-877.
22. Bidasolo BI, Ramos M & Gomez-Ruiz JA. 2012. In Vitro Simulated Gastrointestinal Digestion of Donkeys' Milk. Peptide Characterization by High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry. *Int Dairy J*, 24: 146-152.
23. Criscione A, Cunsolo V, Bordonaro S, Guastella AM, Saletti R, Zuccaro A. 2009. Donkey's Milk Protein Fraction Investigated by Electrophoretic Methods and Mass Spectrometry Analysis. *Int Dairy J*, 19: 190-197.
24. Chianese L, Calabrese MG, Ferranti P, Mauriello R, Garro G, De Simone C. 2010. Proteomic Characterization of Donkey Milk "Caseome". *J Chromatogr A*, 1217: 4834-4840.
25. Goldfarb, MF, Salvatore MS. 1989. Two Dimensional Electrophoretic Analysis of Human Milks Proteins, *Electrophoresis*, 10: 67-70.
26. Bonomi F, Iametti S, Pagliarini E, Solaroli G. 1994. Thermal Sensitivity of Mares' Milk Proteins. *J Dairy Res*: 61, 419-422.

27. Solaroli G, Pagliarini E, Peri C. 1993. Composition and Nutritional Quality of Mare's Milk. *Ital J Food Sci*, 1: 3-10.
28. Doreau M, Gaillard JL, Chobert JM, Léonil J, Egito AS, Haertlé T 2002. Composition of Mare and Donkey Milk Fatty Acids and Protein and Consequences on Milk Utilisation, Proceedings of 4°C Convegno. *Soc Ital Ippolog*, 51-71.
29. Malacarne M, Martuzzi F, Summer A, Mariani P. 2002. Protein and Fat Composition of Mare's Milk: Some Nutritional Remarks with Reference to Human and Cow's milk. *Int Dairy J*, 12: 869-877.
30. Iacono G, Carroccio A, Cavataio F, Montaldo G, Soresi M, Balsamo V. 1992. Use of Ass's Milk in Multiple Food Allergy, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 14: 177-181.
31. Businco, L, Gianpietro PG, Lucenti P, Lucaroni F, Pini C, Di Felice G. 2000. Allergenicity of Mare's Milk in Children with Cow's Milk Allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 105: 1031-1034.
32. Carroccio A, Cavataio F, Montaldo G, D'Amico D, Alabrese L, Iacono G. 2000. Intolerance to Hydrolysed Cow's Milk Proteins in Infants: Clinical Characteristics and Dietary Treatment. *Clin Exp Allergy*, 30: 1597-1603.
33. Curadi MC, Gianpietro PG, Lucenti P, Orlandi M. 2001. Use of Mare Milk in Pediatric Allergology, Proceedings of 14th Congress ASPA (Associazione Scientifica di Produzioni Animali), Firenze, Italy, 647- 649.
34. Carroccio A, Cavataio F, Iacono G. 1999. Crossreactivity Between Milk Proteins of Different Animals. *Clin Exp Allergy* 29: 1014-1016.

## **GAZLI İHLAMUR ÇAYI İÇECEĞİNİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Bige İncedayı\***

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 28.01.2017; Kabul / Accepted: 28.03.2017; Online baskı / Published online: 04.04.2017

İncedayı, B. (2017). Gazlı ıhlamur çayı içeceğinin bazı özelliklerinin araştırılması. *GIDA* (2017) 42 (4): 355-363  
doi: 10.15237/gida.GD17025

### **Öz**

Bu çalışmada bitki çaylarına alternatif yeni bir bitki çayı içeceği üretimi planlanmış ve elde edilen ürünün fizikokimyasal bileşiminin yanı sıra, toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan kapasitesi ve antioksidanların biyoalınabilirliğinin ortaya konması hedeflenmiştir. Bu amaçla içerisinde %1 oranında ıhlamur içeren ekstrakta, sakkaroz, organik asitler (sitrik asit ve askorbik asit), doğal limon aroması ve koruyucu maddeler (potasyum sorbat ve sodyum benzoat) eklenerek, ıhlamur çayı içeceği (8 briks) üretilmiştir. Elde edilen ürün filtre edildikten sonra 200 mL'lik cam şişelere doldurulmuş ve gazlanarak kapatılmıştır. Bitki çayı içeceğinin diğer minerallere nazaran, K ve Ca mineralleri yönünden daha zengin olduğu ortaya konmuştur. Toplam fenolik madde miktarı yönünden değerlendirildiğinde, hammaddede bulunan polifenollerin, ekstraksiyon sonrasında, yaklaşık %3 düzeyinde içeceğe geçtiği belirlenmiştir. İçeceğin antioksidan kapasitesinin CUPRAC yöntemiyle, antioksidan özellik taşıyan bileşenlerin biyoalınabilirliğinin ise FRAP yöntemiyle daha yüksek düzeyde saptanabildiği ortaya konmuştur. Söz konusu bileşenlerin fizyolojik fonksiyonlara katılması için canlı tarafından alınan miktarının, başlangıç değerine oranı (biyoalınabilirliği) in-vitro koşullarda %1.43-36.08 arasında bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Ihlamur, antioksidan kapasite, biyoalınabilirlik

## **A RESEARCH ON SOME PROPERTIES OF CARBONATED LINDEN HERBAL TEA BEVERAGE**

### **Abstract**

In this research, production of an alternative novel herbal tea beverage was planned and evaluation of physicochemical properties, total phenolics, antioxidant capacity of the product and bioaccessibility of antioxidants was aimed. For this purpose, 1% extract of linden, sucrose, organic acids (citric and ascorbic acids), natural lemon flavor and antimicrobial agents (Na-benzoate and K-sorbate) were used and the brix value of the herbal tea beverage was adjusted to 8°. The mixture was plate filtered, filled into 200 mL glass bottles, then carbonated and sealed. The K and Ca minerals of the beverage were found higher than the others. It was determined that approximately 3% of the polyphenols of dried linden were transferred to the beverage after extraction. The highest antioxidant capacity and bioaccessible antioxidants were obtained in CUPRAC and FRAP assays, respectively. The ratio of final accessed amounts of antioxidants for physical functions to initial dose, under in-vitro conditions (bioaccessibility) were changed between 1.43-36.08%.

**Keywords:** Linden, antioxidant capacity, bioaccessibility

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ bige@uludag.edu.tr,

☎ (+90) 224 294 1504,

☎ (+90) 224 294 1402

## GİRİŞ

Ihlamur, *Tiliaceae* familyasından *Tilia* cinsini oluşturan ağaç türüdür. Küçük yapraklı (*Tilia cordata*) ve büyük yapraklı (*Tilia platphyllos*) ihlamur tedavi amaçlı kullanılırken, *Tilia vulgaris* (linden) türü ise daha çok bitki çayı olarak tüketilmektedir (Albayrak vd., 2012). Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda tıbbi ve aromatik bitkilerin içerdiği biyoaktif bileşenlerin sağlık açısından önemli olduğunun vurgulanması, bu bitkilerin tüketimini ve değerini daha da arttırmıştır (Usal ve Özde, 2001; Özgüven vd., 2005; Karakaya ve El, 2006). Ihlamur, sedatif, trankilizan, diüretik, ekspektoran ve terletici, anksiyolitik, antistres, sindirime yardımcı ve spazm giderici ajan olarak kullanılmaktadır (Aydın vd., 1992; Viola vd., 1994; Yıldırım vd., 2000; Federici vd., 2005; Ernest, 2006). Bu etkiler ağırlıklı olarak ihlamurun içerdiği müsilaj, flavonoidler ve yağlardan kaynaklanmaktadır (Toker vd., 2001; Wichtl, 2004; Manuele vd., 2008).

Ihlamur bitkisiyle ilgili yapılan çalışmalar daha çok bitkinin antioksidan kapasitesi (Albayrak vd., 2012; Toydemir vd., 2015), fenolik madde miktarı (Atoui vd., 2005; Horzic vd., 2009), mineral madde içeriği ve ağır metal düzeyi (Bilgic Alkaya vd., 2015; Tercan vd., 2016) ile mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkisi (Gönül ve Karapınar, 1987; Albayrak vd., 2012) üzerinedir. Bitkinin çay formuna yönelik yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Literatürde özellikle içecek formunda üretimin yapıldığı ve bileşiminin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bitki çaylarının antioksidan özellik gösteren maddeler yönünden biyoalınabilirliği de, fazla tüketilen bir bitki çayı olması nedeniyle, ihlamur için oldukça önem taşımakta olup, işlenmiş üründe in-vitro biyoalınabilirlik ya da in-vivo biyoyararlılık çalışması bulunmamaktadır. Biyoyararlılık, gıdanın sindirilmesi ile alınan bileşiğin, metabolik ve fizyolojik fonksiyonlar için kullanılan veya depolanan kısmı olarak tanımlanmaktadır. Yani gıdadaki mevcut bileşenlerin sindirim sisteminde emilen miktarıdır (House, 1999). Biyoalınabilirlik ise bir madde ya da elementin fraksiyonlarının bir kısmının vücut tarafından absorbe edilmesi şeklinde ifade edilmektedir. Biyoalınabilirlik ve biyoyararlılık konusunda yapılan güncel çalışmalar, gıdalarla alınan besin öğelerinin tamamının biyolojik olarak kullanılmadığını ortaya koymuştur. Biyoalınabilirlik

gıdanın fiziksel özelliği, kimyasal bileşimi ve bireysel sindirim kapasitesi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Brun vd., 2001; Sandström, 2001).

Bitkiler yaygın olarak demlenmeye hazır poşetler halinde tüketilmekte ya da aktarlardan kurutulmuş halde alınan bitki yaprak, sap, kök, tohum gibi kısımlardan geleneksel metotlarla çay hazırlanmaktadır. Ancak her bitki çeşidinin demleme yöntem ve parametrelerinin farklılık göstermesi ve yapılan bilinçsiz uygulamalar, beklenen faydaların en aza inmesine, hatta önemli sağlık risklerine neden olabilmektedir. Bu nedenle geleneksel yöntemlerdeki hataları önlemek, üretimi standardize etmek, bitki çaylarının her dönem ve ortamda sevilerek tüketilebilmelerine olanak tanımak, içecek sektörü için yeni ve üreticiler için ise katma değeri yüksek son ürün elde etmek üzere söz konusu çalışma planlanmıştır. Genellikle kış aylarında ve sıcak olarak tüketilen ihlamur çayının içecek formuna getirildikten sonra gazlanarak üretimi, her mevsim tüketiminin sağlanmasının ötesinde, ferahlatıcı ve sindirimi kolaylaştırıcı özelliğinin geliştirilmesine ve ürünün mikrobiyel açıdan güvence altına alınmasına da katkı sağlayacaktır. Elde edilen ürün fizikokimyasal özellikleri, mineral madde miktarı, antioksidan kapasite ve fenolik madde içerikleri ile antioksidanların biyoalınabilirliği açısından irdelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada materyal olarak ihlamur ekstraktı kullanılmıştır. Bu bitkinin yapılan ön denemeler sonucunda bitki çayı içeceği üretimine uygun bulunması ve ayrıca ülkemizde ve dünyada bitki çayı olarak en yaygın tüketilen bitkilerden biri olması, materyal olarak seçilmesinin başlıca sebeplerini oluşturmuştur. Ihlamur bitkisi, Bursa'da bitki çayları üreten bir firmadan kurutulmuş şekilde temin edilmiştir.

### Yöntem

Genel olarak bitki ekstraksiyonunda infüzyon (demleme) ve dekoksasyon (kaynatma) yöntemleri uygulanmaktadır. Günlük tüketimde kullanılan poşet çaylarda, poşet içerisinde yer alan bitki/bitki karışımları kaynar su ile demlenmektedir. Bu



yaygın uygulama örneğinden hareketle ihlamurun ekstraksiyonunda tüketiciler tarafından genelde tercih edilen bu yöntem kullanılmıştır. Bitki ekstraktı (%1) eldesini takiben, gazlı bitki çayı içeceği üretilmiştir. Bu amaçla ekstrakta sakkaroz, organik asit, doğal limon aroması ve koruyucu ilave edilerek, bitki çayının suda çözünür kurumadde değeri 8 brikse getirilmiştir. Ürün plakalı filtreden geçirilmiş ve gazlama prosesi öncesi CO<sub>2</sub> gazının çözünürlüğünü arttırmak üzere soğutulmuştur. Daha sonra 200 mL'lik cam şişelere dolum yapılmış, gazlama işlemi gerçekleştirilmiş ve kapatılarak analiz edileceği zamana kadar oda sıcaklığında depolanmıştır. Isıl işlemin yer almadığı gazlı içecek üretiminde kullanılan CO<sub>2</sub> miktarı, ürünün mikrobiyel güvence altına alınması açısından yeterli olmamaktadır. Bu nedenle ürüne antimikrobiyel madde ilave edilmesi gerekmektedir. Söz konusu yaygın uygulamadan hareketle, bu çalışmada da gazlı bitki çayı içeceği üretimi için, koruyucu madde olarak sodyum benzoat (E211) ve potasyum sorbat (E202) kullanılmıştır. Gazlı ihlamur çayı içeceği üretiminde kullanılan girdilerin miktarları, patentli bir ürün olması nedeniyle verilememektedir.

### **Analiz Yöntemleri**

Bitki çayı içeceğinde RA-500 model KEM marka dijital refraktometre ile suda çözünür kuru madde (briks), potansiyometrik yöntemle toplam asitlik, Sevencompact pH/Ion Mettler Toledo marka pH metre ile pH, Shimatzu UV 1208 model spektrofotometre ile askorbik asit, HunterLab Colour Analyzer (MSEZ4500L; HunterLab, Virginia, USA) ile renk (*L,a,b*) ve Hach 2100Q marka türbidimetre ile bulanıklık analizleri yapılmıştır. Ayrıca Fe, Ca, Mg, K ve Na minerallerinin miktarlarının saptanabilmesi için NMKL (2007) metodu kullanılmış ve analiz 7500CX (Agilent, Santa Clara, ABD) model ICP-MS (indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi) cihazında gerçekleştirilmiştir.

İhlamur bitkisinin ve gazlı ihlamur içeceğinin toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu ayırıcı kullanılarak, örnek absorbansının, kontrol örneğine karşı 725 nm'de okunması ve hazırlanan gallik asit kurvesi ( $R^2=0.9835$ ) yardımıyla elde edilen formülden "gallik asit eşdeğeri (GAE)" cinsinden hesaplanması ile saptanmıştır (Singleton ve Rossi, 1965; Mahdavi vd., 2010).

Antioksidan kapasite tayin yöntemleri, antioksidan maddelerin etkinliğini bir kimyasal reaksiyonu prensip olarak, güvenilir ve çabuk bir şekilde ölçmeyi amaçlamaktadır. Bu bağlamda özellikle mevcut koşullarda ve in-vitro koşullarda bir gıdanın antioksidan kapasitesinin belirlenebilmesi için birkaç metodun birlikte kullanılması önerilmektedir (Frankel ve Meyer, 2000). Bu çalışmada antioksidan kapasite tayininde DPPH (Katalinic vd., 2006), FRAP (Benzie ve Strain, 1996) ve CUPRAC (Apak vd., 2006) metotları kullanılmıştır. Buna göre;

DPPH yönteminde, 515 nm'de yapılan spektrofotometrik okuma sonuçlarına göre aşağıdaki eşitlik kullanılarak %inhibisyon değeri saptanmış ve sonuçlar kalibrasyon grafiği yardımıyla µmol troloks/mL örnek cinsinden hesaplanmıştır.

$$\% \text{Inhibisyon} = [(A_{\text{tanık}} - A_{\text{örnek}}) / (A_{\text{tanık}})] \times 100$$

FRAP yönteminde, 595 nm'de saptanan absorbans sonuçlarına göre, kalibrasyon grafiğine ait denklem kullanılarak troloks eşdeğeri cinsinden antioksidan kapasite miktarı saptanmıştır.

CUPRAC yönteminde, 450 nm'de bulunan absorbans değerlerine göre, ilgili denklem kullanılarak µmol troloks/mL örnek cinsinden sonuç belirlenmiştir.

### **Antioksidan Kapasite Tayini için In-vitro Sindirim Prosedürü**

İhlamur çayı içeceğinin biyoalınabilir antioksidan kapasite miktarını saptamak için kullanılan ekstrakt, Glahn vd. (1998)'nin fenolik madde enzimatik ekstraksiyon prosedürüne göre, bazı modifikasyonlar yapılarak hazırlanmıştır. Söz konusu çalışmada belirtildiği üzere, aynı ekstrakt antioksidan maddelerin biyoalınabilirliğini ortaya koymak amacıyla da kullanılmaktadır. Buna göre içecek numunesi laboratuvar koşullarında hazırlanmış yapay mide ve bağırsak ortamlarında bekletilmiş ve gerçekleşen enzimatik ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrakta, antioksidan kapasite yöntemleri uygulanarak, biyoalınabilir miktarlar saptanmıştır.

Bu amaçla 1 mL ihlamur içeceği üzerine, mide ortamını simüle etmek amacıyla, 10 mL saf su ve 0.5 mL pepsin enzimi (20 g/L, 0.1 mol/L HCL'de) ilave edilmiştir. Ortam pH'sı 5 mol/L HCL ile 2'ye ayarlandıktan sonra örnek, 37°C'de 1 saat çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir.



Süre sonunda 1M NaHCO<sub>3</sub> ilavesiyle pH 7.2'ye getirilerek mide sindirimi durdurulmuş ve bağırsak ortamının simülasyonuna geçilmiştir. Bunun için 0.5 g pankreatin ve 3 g safra tuzu tartılarak 250 mL'lik ölçü balonuna alınmış, 0.1 M NaHCO<sub>3</sub> çözeltisiyle hacme tamamlanmış ve bu safra/ pankreatin solüsyonundan 2.5 mL alınarak, ortama eklenmiştir. Daha sonra 2.5 mL NaCl (120 mmol/L)/ KCl (5 mmol/L) çözeltilerinden ilave edilerek, karışım 37°C'de 2 saat bekletilmiş ve süre sonunda 3500 rpm' de 10 dakika süresince santrifüjlenmiştir. Elde edilen enzimatik ekstrakt, yukarıda bahsedilen 3 farklı antioksidan kapasite analizine tabi tutulmuştur. Biyoalınabilir antioksidanların oranı (%), in-vitro koşullarda elde edilen enzimatik ekstraktın antioksidan kapasitesinin, başlangıç miktarına oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmada hammadde olarak kullanılan kurutulmuş ıhlamur bitkisinin nem miktarı 9.73±0.04 g/100g olarak bulunmuştur. Akış (2010) yaptığı çalışmada, aynı bitkinin nem içeriğini 7.6±0.35 g/100g olarak saptamıştır. Bulunan değerler TS 3223 (2009) standardında belirtilen limit değere (yapraklı çiçek ıhlamurda en fazla %11) de uygundur.

İhlamur çayı içeceğine (ıhlamur içeceğine) ait analiz sonuçları sırasıyla Çizelge 1, Çizelge 2 ve

Çizelge 1. İhlamur içeceğine ait fizikokimyasal analiz sonuçları

Table 1. Physicochemical analysis results of linden beverage	
Briks (g/100g) <i>Brix</i>	8.00±0.00
Toplam asitlik (g/100mL)* <i>Total acidity</i>	0.22±0.00
pH	3.23±0.11
Askorbik asit (mg/100mL) <i>Ascorbic acid</i>	27.39±0.36
<i>L</i>	14.93±0.30
<i>a</i>	-5.13±0.73
<i>b</i>	4.06±0.11
<i>a/b</i>	-1.26±0.21
Bulanıklık (NTU) <i>Turbidity</i>	2.89±0.14

\*: sitrik asit cinsinden

Çizelge 2. İhlamur içeceği üretiminde kullanılan su ve ıhlamur ile ürüne ait mineral madde analiz sonuçları

Table 2. Mineral contents of water, linden herb and the product

	Kullanılan su (mg/L) <i>Water used in process (mg/L)</i>	Hammadde (mg/kg) <i>Raw-material (mg/kg)</i>	Ürün (mg/L) <i>Product (mg/L)</i>
Fe	0.03	50.05±0.62	0.21±0.00
Ca	13.0	15300±0.09	42.15±0.57
Mg	1.72	2483.96±55.49	17.61±0.10
K	0.51	14100±0.06	115.14±0.98
Na	14.3	191.53±4.79	18.06±0.06

Çizelge 3'te gösterilmiştir. İhlamur içeceğinin suda çözünür kurumadde ve toplam asitlik değerleri, üretim sırasında ilave edilen asit ve diğer girdilere bağlı olarak beklenen değerlerde bulunmuştur (Çizelge 1). pH değeri 3.23 olarak saptanmış olup, bu değer Çopur vd. (2016) tarafından ıhlamur çayı içeceklerinde saptanan 3.11 pH değeri ile de benzerlik göstermektedir.

İçeceğin bileşiminde yer alan askorbik asit, antioksidan kaynağı ve koruyucu madde olarak eklenmiş, ayrıca ürünün asitlik değerine de katkı sağlamıştır (Kitchens ve Owens, 2007; Riachi ve De Maria, 2015). Aynı zamanda sitrik asitle birlikte tat-lezzet dengesinin oluşmasına katkıda bulunmuştur. Çopur vd. (2016) pastörize edilmiş ıhlamur içeceklerinde askorbik asit miktarını 15.58±0.17 mg/100mL olarak saptamış olup, sonuç ısıtma işlem uygulaması sonucu gerçekleşen yıkımla birlikte daha düşük bulunmuştur. Çalışmada saptanan değer, Özcan Sinir vd. (2016) tarafından gazlı funda içeceklerinde bulunan değerle uyum göstermektedir. Costa vd. (2012), yeşil çayın tek kullanımlık poşet formunda ve %100 ekstraktında askorbik asit miktarını sırasıyla 21.4±0.1 mg/100mL ve 15.4±3.0 mg/100mL olarak bildirmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuç, literatürdeki poşet çay verisine yakın bulunmuştur. Tamer vd. (2016), ıhlamur ekstraktıyla zenginleştirdikleri limonatalarda bu değeri 597.9 mg/kg olarak saptamış olup, sonuç, limonatadan gelen askorbik asit miktarıyla birlikte yaklaşık 2 kat daha yüksek çıkmıştır. Çizelge 1'deki renk değerleri (a ve b) incelendiğinde, ıhlamur içeceğinin yeşil-sarı tonlarında olduğu görülmektedir. Üretim sırasında her ne kadar filtrasyon işlemi yapılmışsa da, özellikle depolama süresince içekte bir miktar bulanıklık oluşumu gözlenmiştir. Bu durum polifenollerin zaman içerisinde metaller ve proteinler ile kompleks oluşturmasından kaynaklanabilmektedir (Beveridge, 1997; Cemeroglu vd., 2004; Siebert, 2006; Kola, 2013). Cemeroglu (2009)'a göre bulanıklık düzeyi açısından içecekler;

"parlak berrak, kristal berrak: 0-1.0 NTU, berrak: 1.1-2.0 NTU, opak: 2.1-2.5 NTU, hafif bulanık: 2.6-5.0 NTU, bulanık: 5.1-10 NTU, aşırı bulanık: 20 NTU'dan büyük" olarak sınıflandırılmaktadır. Bu değerlendirmeye göre gazlı bitki çayı içeceği hafif bulanık sınıfta yer almaktadır.

Sembratowicz ve Rusinek-Prystupa (2014), bitkisel hammaddelerin mikro ve makro elementler açısından oldukça zengin olduğunu ve bu bitkilerden elde edilen çayların da mineral içeriğinin yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle bitki çaylarının diyetle yer alması, günlük mineral alımını desteklemek üzere son derece önem taşımaktadır. Üründe bulunan mineraller, üretimde kullanılan su ve bitkiden kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda ürün formülasyonunda kullanılan düşük miktardaki potasyum sorbat ve sodyum benzoatın da K ve Na içeriğini az da olsa etkileyebileceği düşünülmektedir. İhlamur içeceği'nin özellikle potasyum yönünden oldukça zengin olduğu ve söz konusu mineralin büyük oranda ihlamur bitkisinden geçtiği (kullanılan suda düşük miktarda bulunmaktadır) görülmektedir (Çizelge 2). Potasyum vücutta ozmotik basınç ilişkilerinin ve asit-baz dengesinin sürdürülmesinde rol oynamakta, diğer elementlerle birlikte kas aktivitesine etki etmekte, transfosforilasyon gibi belirli metabolizma tepkimelerinin gerçekleşmesini sağlamakta ve sindirim salgılarının üretiminde yer almaktadır (Samur, 2008). Elde edilen içekte infüzyon oranının %1 olması nedeniyle, mineral içerikleri hammaddeye göre farklı düzeylerde düşüş göstermiştir. Pytlakowska vd. (2012), 10 dk ve 30 dk demleme ile elde edilen ihlamur infüzyonunun Fe içeriğini sırasıyla  $1.52 \pm 0.03$   $\mu\text{g/g}$  ve  $1.12 \pm 0.02$   $\mu\text{g/g}$  (mg/kg kurumadde), Ca içeriğini  $15.8 \pm 0.2$  mg/kg ve  $13.7 \pm 0.2$  mg/kg, Mg miktarını  $56.2 \pm 0.6$  mg/kg ve  $69.5 \pm 0.4$  mg/kg, K miktarı  $398 \pm 2$  mg/kg ve  $689 \pm 8$  mg/kg, Na miktarı  $176 \pm 1$  mg/kg ve  $185 \pm 2$  mg/kg olarak belirlemiştir. Sonuçlar arasındaki farklılık, infüzyon parametrelerinin farklılığına ve kullanılan çeşme suyundan geçebilecek mineral madde miktarına bağlı olabilir. Sembratowicz ve Rusinek-Prystupa (2014), farklı bitki çaylarının Fe içeriklerinin  $83.50-405.43$  mg/kg kurumadde arasında değiştiğini bildirmiştir. %3 oranında bitki içeren ekstraktların yüksek Fe içeriğinin, çaylardaki bitki konsantrasyonunun yüksek olmasından ve

sonucun kurumadde üzerinden verilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Gıdaların bileşiminde bulunan fenolik maddeler, antioksidan özellik taşımaları nedeniyle beslenme ve sağlık açısından önem taşıyan bileşiklerdir (Javanmardi vd., 2003; Sabela vd., 2012). Bitkisel çaylar fenolik maddelerin alımında önemli kaynaklardır (Shahidi, 2000; Shikanga vd., 2010). İhlamur bitkisinin ve içeceği'nin toplam fenolik madde miktarı sırasıyla  $7415.56 \pm 28.50$  mg GAE/100g ve  $220.96 \pm 7.68$  mg GAE/100mL olarak saptanmıştır. Akış (2010), aynı bitkide toplam fenolik madde miktarını, bu çalışmada elde edilen sonuca yakın ( $5112$  mg GAE/100g) bulmuştur. Özcan Sinir vd. (2016), gazlı funda içeceği'nde bu değeri  $174.06 \pm 24.53$  mg GAE/100mL olarak saptamış olup, sonuçlar birbirine yakın bulunmuştur. Albayrak vd. (2012) ihlamur infüzyonu ve dekoksiyonunda toplam fenolik madde miktarını sırasıyla  $32.36 \pm 0.2$  mg GAE/g ve  $33.49 \pm 0.5$  mg GAE/g olarak belirlemiştir. Sonuçların bu çalışmada elde edilen verilerden daha yüksek bulunmuş olması, ekstrakte edilen ihlamur konsantrasyonunun daha yüksek olmasıyla (%5 ve %10) ilişkilendirilmiştir. Analiz parametreleri arasındaki farklılıklar da sonuçlara yansımış olabilir. Chen vd. (2007) farklı bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarını  $64.95-185.04$  mg GAE/g aralığında bulmuştur. Söz konusu çalışmada saptanan yüksek değerler, ekstrakt oranının %10 ve ekstraksiyon süresinin 30 dk olmasıyla açıklanabilir. Naithani vd. (2006), Hindistan' da tüketilen farklı bitki çaylarının %20 metanollü ekstraktında toplam fenolik madde miktarının  $786-5366$  mg GAE/100 g arasında değiştiğini belirtmiştir. İçerisinde 1-35 adet arasında değişen farklı bitkilerin yer aldığı karışık bitki çaylarında yüksek bulunan bu değer, metanolle ekstraksiyonun daha yüksek verimle gerçekleştirilmesinden ve karışımda yer alan yüksek fenolik içeriğine sahip bitkilerden kaynaklanmış olabilir. Guimarães vd. (2011), melisa, rezene ve nane bitkilerinin karışımından elde ettikleri çayların depolama sürecinde toplam fenolik ve antioksidan potansiyelindeki değişimi araştırmış ve ilk etapta elde edilen çayların toplam fenolik madde miktarını  $236-438$  mg GAE/g arasında bulmuştur. Ekstraksiyon oranının yüksek olması (%1-1.8) ve bitkilerin fenolik içeriklerindeki farklılıklara bağlı olarak, sonuçlar bu çalışmadan daha yüksek çıkmıştır.  $75$  °C' de 3 dk boyunca

Çizelge 3. Ihlamur içeceğine ait antioksidan kapasite analiz sonuçları  
Table 3. Antioxidant capacity results of linden beverage

DPPH ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	24.44 $\pm$ 0.27	FRAP ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	30.13 $\pm$ 0.75 ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	CUPRAC	45.37 $\pm$ 2.52
DPPH Enzimatik Ekstrakt ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ ) <i>Enzymatic Extract</i> ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	0.35 $\pm$ 0.04	FRAP Enzimatik Ekstrakt ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ ) <i>Enzymatic Extract</i> ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	10.87 $\pm$ 0.90	CUPRAC Enzimatik Ekstrakt ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ ) <i>Enzymatic Extract</i> ( $\mu\text{mol trolox/mL}$ )	3.61 $\pm$ 1.03
DPPH Biyoalınabilirlik (%) <i>Bioaccessibility (%)</i>	1.43	FRAP Biyoalınabilirlik (%) <i>Bioaccessibility (%)</i>	36.08	CUPRAC Biyoalınabilirlik (%) <i>Bioaccessibility (%)</i>	7.96

ekstrakte edilen %0.8 konsantrasyonundaki yeşil çayda ise toplam fenolik madde miktarı 22.9 mg GAE/100 mL olarak saptanmıştır (Costa vd., 2012). Sonuçların, bu çalışmada elde edilen sonuçtan farklı olması, hammadde ve infüzyon parametreleri arasındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Tamer vd. (2016), ihlamur ekstraktıyla zenginleştirdikleri limonatalarda bu değeri 389.48 $\pm$ 3.21 mg GAE/100mL olarak saptamış olup, sonuç, limonata bileşiminde bulunan polifenollerden dolayı bu çalışmadan daha yüksek bulunmuştur.

Bitkisel çayların yararlı etkilerinden en önemlisi, antioksidan aktivite göstermeleri ve içerdikleri polifenoller ile serbest radikalleri uzaklaştırma özellikleridir (Almajano vd., 2008). Gazlı ihlamur içeceğinin antioksidan kapasitesinin, daha çok içermiş olduğu polifenoller ve üretim sırasında eklenen askorbik asitten kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İçeceğin antioksidan kapasitesi belirlendikten sonra, ayrıca in-vitro koşullarda gastrointestinal sindirim ortamı oluşturulmuş ve sindirim sonrası antioksidan özellik taşıyan bileşenlerin biyoalınabilirlik düzeyleri de saptanmıştır. Farklı yöntemlerle yapılan antioksidan kapasite analiz sonuçlarına göre, CUPRAC yönteminin antioksidan özellik gösteren bileşenleri analiz etmede daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir (Çizelge 3). Söz konusu bileşenlerin fizyolojik ekstraktından elde edilen biyoalınabilirlik değerinin ise FRAP yöntemiyle, diğerlerine göre daha yüksek bulunduğu görülmektedir. Bu durum Özcan Sinir vd. (2016)'nin gazlı funda içeceklerinde bulunduğu biyoalınabilirlik sonuçlarıyla paralellik göstermiştir. Sonuçlar Çopur vd. (2016)'nin bulunduğu değerlerle de uyum içerisindedir. Horzic vd. (2009) 100°C'de infüze ettikleri ihlamur ekstraktının antioksidan kapasitesini DPPH yöntemiyle %67.92 $\pm$ 2.8 olarak saptamıştır. Yıldız (2007),

yapmış olduğu çalışmada, *Tilia rubra* türü ihlamur bitkisinin toplam antioksidan kapasitesini, %70 metanollü ekstrakt ve katı bitki hidrolizatında CUPRAC yöntemiyle sırasıyla 660  $\mu\text{mol trolox/g}$  ve 680  $\mu\text{mol trolox/g}$  bitki olarak bildirmiştir. Ekstraksiyon yöntemindeki farklılığa bağlı olarak sonuç, bu çalışmada elde edilen CUPRAC antioksidan kapasite miktarından daha yüksek bulunmuştur. Albayrak vd. (2012) ihlamur bitkisinde metanol ile hazırlanan ve infüzyon ile dekoksasyon uygulamaları sonucu elde edilen ekstraktlarda DPPH yöntemiyle toplam antioksidan kapasite miktarlarını sırasıyla, 12.08 mg askorbik asit (AA) eş değeri/g, 18.66 mg AA eş değeri/g ve 17.71 mg AA eş değeri/g olarak belirlemiştir. Costa vd. (2012) 75°C' de 3 dk boyunca ekstrakte ettikleri %0.8 konsantrasyonundaki yeşil çayda bu değeri 61.6 mg TE/100mL olarak bulmuştur. Literatür verileri analiz yöntemindeki ve hesaplamadaki farklılıklardan dolayı değişkenlik göstermektedir.

Sonuç olarak, bitki çayları içerdikleri biyoaktif bileşenler ve bunların beslenme ve sağlık üzerine olan olumlu etkilerinden dolayı geniş bir kesim tarafından sıklıkla tüketilmektedir. Bu çayları içecek formuna dönüştürerek tüketime sunmak, hem içecek sektöründeki gazlı ürün portföyüne yeni bir ürün kazandırmak, hem de insanların istediği zaman alternatif yararlı bir içeceğe ulaşabilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışma sonuçları içeceğin mineral maddeler, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite ile antioksidanların biyoalınabilirliği yönünden zengin olduğunu ve ürünün günlük ihtiyaçların bir kısmını karşılamak üzere her kesim tarafından istenen dönemde tüketilebileceğini göstermektedir. Bu çalışma benzer ürünlerin üretilmesine ve bu ürünlerin bileşiminde yer alan her bir bileşenin yararlılık düzeylerinin saptanmasına yönelik gelecek çalışmalara ışık tutacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiş bir projenin (QUAP(Z) - 2012/20) ürünüdür. Ayrıca bu içecek, patent alınarak koruma altına alınmıştır (2012/09534). Her hakkı, patent sahiplerine aittir.

## KAYNAKLAR

1. Akış, T. (2010). Piyasada çay olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik yapılarının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir, 227 s.
2. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Albayrak, S. (2012). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Extracts of Some Medicinal Herbs Consumed As Tea and Spices in Turkey. *J Food Biochem*, 36 (5), 547-554.
3. Almajano, M.P., Carbo, R., Lopez Jimenez, J.A., Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem*, 108, 55-63.
4. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *Int J Food Sci Nutr*, 57 (5-6), 292-304.
5. Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions; their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem*, 89, 37-36.
6. Aydın, S., Öztürk, Y., Baser, K.H.C., Kırimer, N., Kurtar Öztürk, N. (1992). Effects of *Alcea pallida* L (A) and *Tilia argentea* Desf Ex Dc infusions on swimming performance in mice. *Phytother Res*, 6, 219-220.
7. Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239, 70-76.
8. Beveridge, T. (1997). Haze and Cloud in Apple Juices. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 37 (1), 75-91.
9. Bilgic Alkaya, D., Karaderi, S., Erdogan, G., Kurt Cucu, A. (2015). Determination of heavy metals in herbal teas marketed in Istanbul. *Marmara Pharm J*, 19 (2), 136-140.
10. Brun, L.A., Maillet, J., Hinsinger, P., Pepin, M. (2001). Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environ Pollut*, 111, 293-302.
11. Cemeroglu, B. (2009). *Meyve ve sebze işleme teknolojisi: 1*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Bizim Grup Basımevi, Ankara, 707 s.
12. Cemeroglu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M. (2004). Meyve ve sebzelerin bileşimi. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi*, Cilt I, Cemeroglu, B. (ed.), Bizim Büro Basımevi, Ankara, s. 1-188,
13. Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L. (2007). Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chem*, 104, 1418-1424.
14. Costa, A.S.G., Nunes, M.A., Almeida, I.M.C., Carvalho, M.R., Barroso, M., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P. (2012). Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT - Food Sci Technol*, 49, 324-328.
15. Çopur, O., Tamer, C., Suna, S., Özcan Sinir, G., İncedayı, B. (2016). Evaluation of Physicochemical Properties, Bioaccessibility of Phenolics and Antioxidant Activity of Linden Herbal Tea Beverage. 16<sup>th</sup> International Nutrition & Diagnostics Conference (INDC). October 3-6, 2016. Prague, *Czech Republic*. p. 27.
16. Ernest, E. (2006). Herbal remedies for anxiety: a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedicine*, 13, 205-208.
17. Federici, E., Multari, G., Gallo, F.R., Palazzino, G. (2005). Herbal drugs: from traditional use to regulation. *Ann Ist Super Sanita*, 41, 49-54.
18. Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agr*, 80, 1925-1941.
19. Glahn, R.P., Lee, O.A., Yeung, A., Goldman, M.I., Miller, D.D. (1998). Caco-2 cell ferritin formation predicts nonradiolabeled food iron availability in an in vitro digestion/Caco-2 cell culture model. *J Nutr*, 128, 1555-1561.
20. Gönül, Ş.E.A., Karapınar, M. (1987). Inhibitory effect of linden flower (*Tilia flower*) on the growth of foodborne pathogens. *Food Microbiol*, 4 (1), 97-100.
21. Guimarães, R., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C. (2011). Infusions and decoctions of mixed herbs used in folk medicine: Synergism in antioxidant potential. *Phytother Res*, 25, 1209-1214.

22. Horzic, D., Komes, D., Belscak, A., Ganic, K.K., Ivekovic, D., Karlovic, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chem*, 115 (2), 441-448.
23. House, W.A. (1999). Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. *Field Crops Res*, 60, 115-141.
24. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chem*, 83, 547-550.
25. Karakaya, S., El, S.N. (2006). Total Phenols and Antioxidant Activities of Some Herbal Teas and In Vitro Bioavailability of Black Tea Polyphenols. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23 (1), 1-8.
26. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94, 550-557.
27. Kitchens, M., Owens, B.M. (2007). Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the in vitro erosion characteristics of dental enamel. *J Clin Pediatr Dent*, 31, 153-159.
28. Kola, O. (2013). Meyve Suyu, İçecek ve Benzeri Ürünler. Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi. 7-10 Kasım 2013. Adana.
29. Mahdavi, R., Nikniaz, Z., Rafrat, M., Jouyban, A. (2010). Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices. *Pakistan J Nutr*, 9 (10), 968-972.
30. Manuele, M.G., Ferraro, G., Anesini, C. (2008). Effect of *Tilia x viridis* Flower Extract on the Proliferation of a Lymphoma Cell Line and on Normal Murine Lymphocytes: Contribution of Monoterpenes, Especially Limonene. *Phytother Res*, 22, 1520-1526.
31. Naithani, N., Nair, S., Kakkar, P. (2006). Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. *Food Res Int*, 39, 176-181.
32. NMKL (2007). Trace elements - As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. NMKL 186, 2007.
33. Özcan Sinir, G., Suna, S., Tamer, C.E., İncedayı, B., Çopur, Ö.U. (2016). Antioxidant activity, total phenolic content and physicochemical properties of carbonated *Erica arborea* herbal tea beverage. II International Conference on Food Chemistry and Technology. November 14–16, 2016, Las Vegas, NV, USA. p.40.
34. Özgüven, M., Sekin, S., Gürbüz, B., Şekeroğlu, N., Ayanoglu, F., Ekren, S. (2005). Tütün, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimi ve Ticareti, VI. Teknik Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
35. Pytlakowska, K., Kita, A., Janoska, P., Polowniak, M., Kozik, V. (2012). Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chem*, 135, 494-501.
36. Riachi, L.G., De Maria, C.A.B. (2015). Peppermint antioxidants revisited. *Food Chem*, 176, 72-81.
37. Sabela, M.I., Gumede, N.J., Singh, P., Bisetty, K. (2012). Evaluation of Antioxidants in Herbal Tea with a Laccase Biosensor. *Int J Electrochem Sci*, 7, 4918-4928.
38. Samur, G. (2008). *Vitaminler Mineraller ve Sağlığımız*. Klas Matbaacılık, ISBN: 978-975-590-243-2. Ankara, 32 s.
39. Sandström, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr*, 85(2), 181–185.
40. Sembratowicz, I., Rusinek-Prystupa, E. (2014). Effects of Brewing Time on the Content of Minerals in Infusions of Medicinal Herbs. *Pol J Environ Stud*, 23 (1), 177-186.
41. Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44, 158-163.
42. Shikanga, E.A., Combrinck, S., Regnier, T. (2010). South African Lippia herbal infusions: total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities. *South Afr J Bot*, 76, 567-571.
43. Siebert, K.J. (2006). Haze formation in beverages. *LWT - Food Sci Technol*, 29, 987-994.
44. Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16, 144-158.
45. Tamer, C.E., Yekeler, F.Z., Çopur, Ö.U., İncedayı, B., Suna, S. (2016). A study of fortification of lemonade with herbal extracts. *Food Sci Technol*, Campinas, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.06016>, in press.

46. Tercan, H.S., Ayanoglu, F., Bahadirli, N.P. (2016). Determination of Heavy Metal Contents and Some Basic Aspects of Widely Used Herbal Teas in Turkey. *Revista De Chimie*, 67 (5), 1019-1022.
47. Toker, G., Aslan, M., Yeşilada, E., Memişoğlu, M., Ito, S. (2001). Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal *Tiliae flos* and Turkish lime species for quality assessment. *J Pharm Biomed Anal*, 26, 111-121.
48. Toydemir, G., Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Firatligil-Durmus, E., Sunay, A.E., Samanci, T., Boyacioglu, D. (2015). Effects of Honey Addition on Antioxidative Properties of Different Herbal Teas. *Pol J Food Nutr Sci*, 65 (2), 127-135.
49. TS 3223 (2009). Ihlamur Standardı. 8 s.
50. Usal, G., Özde, A.A. (2001). Türkiye'nin tıbbi bitkiler ihracat potansiyeli. *GIDA*, 10: 78-79.
51. Viola, H., Wolfman, C., Destein, M.L., Wasowski, C., Pena, C., Medina, J.H., Paladini, A.C. (1994). Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligands from *Tiliatomentosa* (tiliceae). *J Ethnopharmacol*, 44, 47-53.
52. Wichtl, M. (2004). *Tiliae flos*. Lime flower. In: Wichtl M (ed) *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals Medpharm*. Scientific Publishers Stuttgart, CRC Press London, New York, 611-613.
53. Yıldırım, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A.A., Algur, Ö.F., Bilaloğlu, V. (2000). Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Tilia* (*Tilia Argentea* Desf Ex DC), Sage (*Salvia Triloba* L.), and Black Tea (*Camellia Sinensis*) Extracts. *J Agric Food Chem*, 48, 5030-5034.
54. Yıldız, L. (2007). Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini. Yüksek Lisans Tezi, İÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programı, İstanbul, 130 s.

## **ÇEMEN EKSTRAKTI VE TİMOL İÇEREN FİMLERLE KAPLANAN KÖFTELERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**Emin Burçin Özvural\***

Çankırı Karatekin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Çankırı

Geliş / Received: 08.12.2016; Kabul / Accepted: 25.02.2017; Online baskı / Published online: 06.04.2017

Özvural, EB. (2017). Çemen ekstraktı ve timol içeren filmlerle kaplanan köftelerin bazı kalite özelliklerinin incelenmesi. *GIDA* (2017) 42 (4): 364-371 doi: 10.15237/gida.GD16104

### **Öz**

Bu çalışmada %0.5 ve %1 çemen ekstraktı (Ç0.5 ve Ç1) ile %0.5 ve %1 timol (T0.5 ve T1) içeren çözeltiler ile kaplanan köfte örneklerinin 4°C'de 10 günlük depolama süresi boyunca belirli aralıklarla nem, pH, TBARS ve renk analizleri yapılarak, örnekler birbirleriyle ve kaplama yapılmayan köfte (Kontrol 1) ve antioksidan özellikli katkı içermeyen çözeltiyle kaplanan köfte (Kontrol 2) örnekleriyle karşılaştırılmıştır. Çalışmada, kaplama çözeltilerindeki toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite miktarları da belirlenmiştir. Tüm örneklerde pH değerinin depolama boyunca arttığı gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Köftelerin TBARS değerlerinin depolama süresince arttığı ( $P < 0.05$ ), depolamanın sonunda Ç1, T0.5 ve T1'in diğer örneklere göre daha az oksidasyona uğradığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). L\*, a\* ve b\* açısından depolamanın başında örnekler arası farklılık görülmediği ( $P > 0.05$ ), sonunda ise T1 örneğinin L\* değerinin kontrole göre daha düşük ( $P < 0.05$ ), diğer örneklerle ise benzer olduğu belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Çalışma sonucunda timol ilave edilen çözeltilerle kaplanan köftelerin depolamada daha dayanıklı olduğu, bunu çemen ekstraktı içeren çözeltiyle kaplanan ürünlerin izlediği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Çemen ekstraktı, timol, yenilebilir kaplama (film), köfte.

## **EVALUATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF THE PATTIES COATED WITH FILMS INCLUDING FENUGREEK EXTRACT AND THYMOL**

### **Abstract**

In this study, moisture, pH, TBARS and colour analysis of beef patties coated with solutions including 0.5% and 1% fenugreek extract (Ç0.5 and Ç1) and 0.5% and 1% thymol (T0.5 and T1) were conducted at certain time intervals during storage at 4°C for 10 days and the treatments were compared to each other and also to uncoated patty (control 1) and coated patty without antioxidant (control 2). In the study, total phenolic content and antioxidant activity of the coating solutions were also determined. It was observed that pH values of all the treatments increased during storage ( $P < 0.05$ ). TBARS values increased ( $P < 0.05$ ) over time and it was found that Ç1, T0.5 and T1 had lower values than the others in terms of oxidation at the end of storage ( $P < 0.05$ ). No significant differences were observed among the L\*, a\* and b\* values of the treatments at the beginning of storage ( $P > 0.05$ ), however in the end, L\* value of T1 was lower than control, but similar to others ( $P > 0.05$ ). Consequently, the patties coated with solutions including thymol were more resistant to quality deterioration than others and the patties treated with encapsulated fenugreek extract were found to be the second most resistant.

**Keywords:** Fenugreek extract, thymol, edible coating (film), patty

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

bozvural@karatekin.edu.tr,

(+90) 376 218 9500 /8355,

(+90) 376 218 9500

## GİRİŞ

Yenilebilir kaplamalar protein, polisakkarit ve lipid bazlı olabilir ve gıdanın yüzeyine ince bir film olarak uygulanan materyallerdir (1). Bu tarz biyo-polimer bazlı filmler nem geçirgenliğini, mikroorganizma konsantrasyonunu ve fire bozulmasını azaltarak, flavoru koruyarak ve yağ oksidasyonunu geciktirerek gıdaların kalitesini koruyabilmektedir (1-4). Bu özelliklerinin yanında, kaplamalar, kararmayı önleyici ajanlar, renklendiriciler, flavorlar, baharatlar, çeşitli antimikrobiyal bileşikler ve antioksidanlar gibi gıda katkı maddelerinin taşıyıcısı olarak da kullanılarak ürün raf ömrünün uzatılmasında görev alabilir (1-5). Son yıllarda, antimikrobiyal ve antioksidan özellikli maddelerin yenilebilir kaplamalara ilave edilerek depolama sırasında kalitenin korunmasına yönelik çalışmalar dikkat çekmektedir. Ayrıca, tüketici istekleri de dikkate alınarak son zamanlardaki çalışmalarda sentetik koruyucular yerine doğal bileşenler kullanılmaktadır (3).

Aljinik asidin bir tuzu olan ve kahverengi deniz alginden izole edilen aljinat,  $\beta$ -D-mannuronik asit ve  $\alpha$ -L-guluronik asitin oluşturduğu lineer bir polimerdir (2, 3, 6-8). Aljinatın kendine özgü kolloidal özellikleri olup,  $\text{CaCl}_2$  çözeltisiyle muamele edildiğinde  $\text{Ca}^{+2}$  ile çapraz bağlanma yaparak güçlü jel ve çözünmeyen polimerler oluşturabilir (3, 6, 7, 9).

Çemen otu (*Trigonella foenum-graecum L.*) Leguminosae ailesinin senelik bir bitkisidir. Bu bitkinin tohumları Asya, Afrika ve Akdeniz ülkelerindeki insanlar tarafından günlük diyetinde kullanılmaktadır (10). Çemen otunun polifenolik bileşikler yönünden zengin bir içeriğe sahip olmasından dolayı antioksidan özelliği yüksektir. Bunun dışında, kanseri önleme, anti alerjik, anti diyabetik ve kolesterol düşürme gibi pek çok yararlı etkiye de sahiptir (10-13).

Timol (2-izopropil-5-metil fenol) Origanum, Thymus, Coridothymus, Thymbra, Satureja ve Lippia türlerinden elde edilen esansiyel yağlardaki fenolik bir monoterpendir ve nesillerden beri gıda koruyucusu olarak kullanılmaktadır (14, 15). Timolün antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve parazit önleyici etkileri kanıtlanmıştır (14-16). Timol, istenmeyen pek çok yan etkileri bulunan sentetik antioksidanlardan olan bütillenmiş hidroksi toluen ve bütillenmiş hidroksi anizola alternatif olarak kullanılabilir (16). Antioksidan özelliği sahip timolün Avrupa Komisyonunun

2002/113/EC kararıyla genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) katkıları statüsünde bir tat koku maddesi olduğu bildirilmiştir (17).

Bu çalışmada, farklı oranlarda çemen ekstraktı ve timol içeren aljinat bazlı filmlerle kaplanan köftelerin buzdolabı koşullarında (+4°C) depolanmaları sırasında gösterdikleri kalite özelliklerinin incelenmesi ve filmlere ilave edilen bu katkıların ürün raf ömrünün uzatılmasındaki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada kullanılan dana kıyma süpermarketten alınmış tuz eklenmiş (% 1, w/w) ve kaplama işleminin daha kolay yapılabilmesi için köfte şekline getirilmiştir. Kaplama çözeltilerinin oluşturulmasında sodyum aljinat (Acros, China), kalsiyum klorür (Sigma-Aldrich, Germany) ve gliserol kullanılmıştır. Kaplama formülasyonlarının oluşturulmasında çemen ekstraktı (Alfasol, Türkiye) ve timol (Sigma-Aldrich, Germany) kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde analizi için Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Switzerland) çözeltisi, sodyum karbonat (Sigma-Aldrich, France) ve gallik asit (Sigma-Aldrich, China) kullanılmıştır. Antioksidan aktivite analizi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma-Aldrich, Germany) kullanılarak belirlenmiştir. Lipid oksidasyonunun belirlenmesinde 2-tiyobarbitürik asit (Sigma-Aldrich, Germany), perklorik asit (%70-72, Merck, Darmstadt, Germany) ve bütillenmişhidroksianizol (BHA, Merck, Japan) kimyasalları kullanılmıştır.

### Kaplanmış Köfte Örneklerinin Oluşturulması

Köfte örneklerine uygulanan kaplama çözeltisi formülasyonları Çizelge 1'de verilmiştir. Köfteler öncelikle sodyum aljinat (%1,5, w/v), gliserol (%1, w:v) ve çemen ekstraktı ya da timol içeren çözeltiye daldırılmıştır. Çözeltiden çıkarılan ve üzerindeki fazla kaplama çözeltisi sızdırılan köfte örnekleri kalsiyum klorür çözeltisine daldırılarak kaplama materyalinin jelleşmesi sağlanmıştır.

### Kaplamada Kullanılan Çözeltilerde Yapılan Analizler

#### Toplam fenolik madde analizi

Çözeltilerdeki toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir (18).



Çizelge 1. Köfte formülasyonları  
Table 1. Formulation of patties

Örnek - Treatment	Kaplama içeriği - Coating content
K1	Kontrol 1: Kaplama uygulanmayan köfte örneği <i>Control 1: Uncoated patty</i>
K2	Kontrol 2: Antioksidan özellikli katkı içermeyen çözeltiyle kaplanan köfte örneği <i>Control 2: Patty coated with solution including no antioxidant additive</i>
Ç0.5	%0.5 çemen ekstraktı içeren çözeltiyle kaplanan köfte örneği <i>Patty coated with solution including 0.5% fenugreek extract</i>
Ç1	%1 çemen ekstraktı içeren çözeltiyle kaplanan köfte örneği <i>Patty coated with solution including 1% fenugreek extract</i>
T0.5	%0.5 timol içeren çözeltiyle kaplanan köfte örneği <i>Patty coated with solution including 0.5% thymol</i>
T1	%1 timol içeren çözeltiyle kaplanan köfte örneği <i>Patty coated with solution including 1% thymol</i>

#### Antioksidan aktivite analizi (DPPH analizi)

Örneklerin antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) analizi uygulanarak belirlenmiştir (19). Ancak, yapılan ön denemelerde kaplamaların yoğun viskozitesi sebebiyle deney yapılmasının olanaksızlaştığının görülmesinden dolayı, analiz kaplama çözeltilerindekiyle eşit miktarda ekstraktın suda çözülerek hazırlandığı çözeltilerde gerçekleştirilmiş ve çemen ekstraktı ve timolün antioksidan aktivite gücü belirlenmeye çalışılmıştır.

#### Köfte Örneklerine Uygulanan Analizler

Buzdolabında (+4°C) 10 gün depolanan kaplanmış köfte örneklerinde depolamanın başında ve sonunda nem analizi ile depolamanın 0, 3, 7 ve 10. günlerinde pH, TBARS ve renk analizleri yapılmıştır. Depolamanın 10. günde kesilmesinin sebebi bazı örneklerde kokuşmanın başlamasıdır. Analizler iki kez tekrarlanmış, tekrarlanan analizlerde iki paralel uygulama yapılarak, toplamda her analizde her örnek için dört veri elde edilmiştir. Elde edilen verilerin aritmetik ortalamaları alınarak çizelgelerde ortalama değerler sunulmuştur.

#### Nem ve pH analizi

Örneklerin % nem miktarları etüvde kurutma yöntemiyle belirlenmiştir. Nem değerleri etüvde 125°C'de 2 saat kurutma işlemine tabi tutulan örneklerin kurutma öncesi ve sonrası elde edilen ağırlıklarının farkları kullanılarak hesaplanmıştır (20). Örneklerin pH değerleri pH elektrodunun örneğe daldırılması ve değerlerin okunması şeklinde belirlenmiştir (21).

#### TBARS analizi

Köfte örneklerinin TBARS (2-tiyobarbitürik asit) değerleri perklorik asitle (%70-72) ekstraksiyon yöntemi uygulanarak mg malonaldehit/kg örnek olarak belirlenmiştir (22).

#### Renk analizi

Köftelerin renk değerleri Lovibond (Lovibond RT series, Reflectance Tintometer, USA) renk cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Siyah ve beyaz taban kullanılarak kalibre edilen cihazla CIE L\* parlaklık, a\* kırmızılık, b\* sarılık değerleri köftenin rastgele seçilen yüzeylerinden okuma yaparak belirlenmiştir.

#### İstatistiksel analiz

Çalışmadaki verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Minitab 16 programında ANOVA yöntemi uygulanarak örnekler arasındaki farklar ve depolama süresince örneklerde meydana gelen değişimler değerlendirilmiş ve ortalamalar Tukey testi ile karşılaştırılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

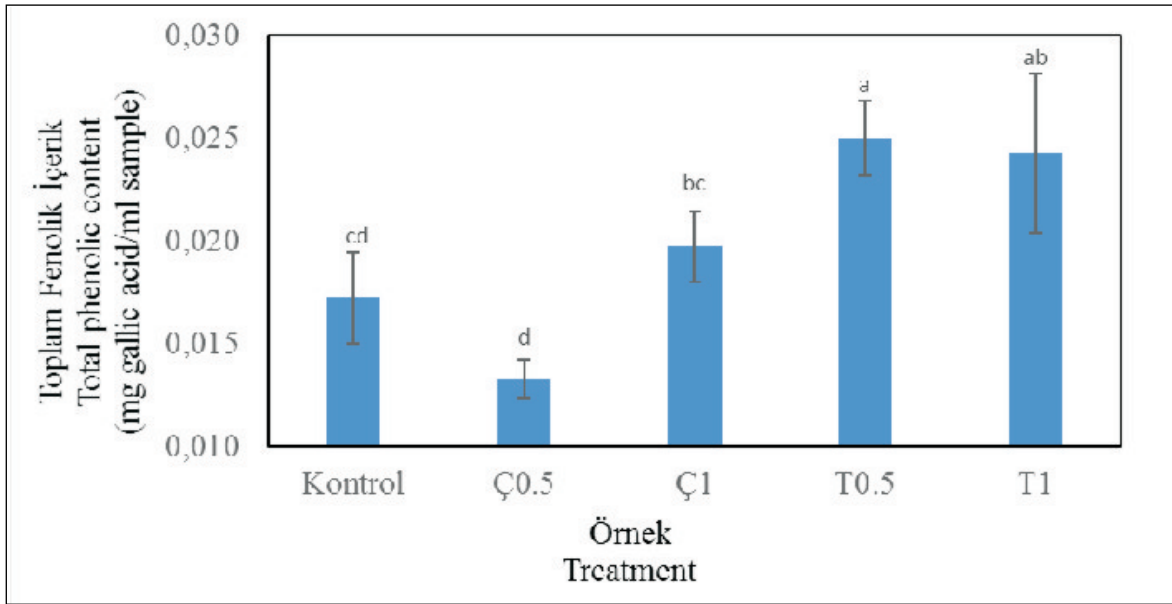
Kaplama çözeltilerindeki toplam fenolik madde içeriği Şekil 1'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlarda %0.5 ve %1 timol içeren kaplamalar en yüksek toplam fenolik madde içeriğine sahiptir ( $P < 0.05$ ). Beklenildiği üzere %1 çemen ekstraktı içeren kaplamanın toplam fenolik madde içeriği %0.5 çemen ekstraktı içeren kaplama örneğinden daha yüksek bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

DPPH sönümlenme analizi çemen ekstraktı ve timol içeren çözeltilerin antioksidan aktivitesinin

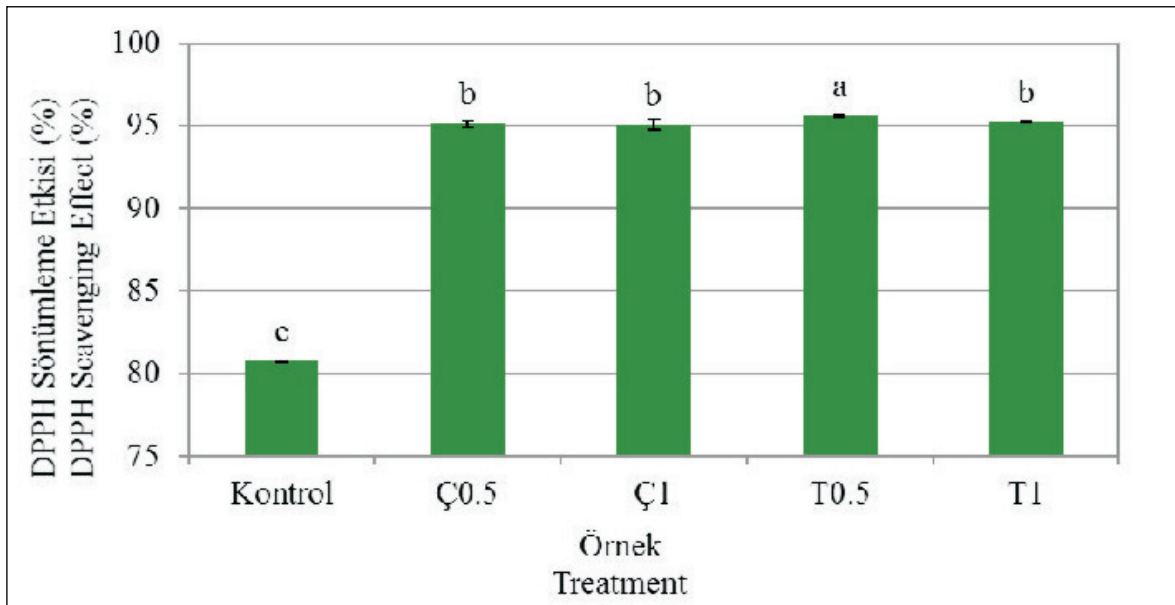
belirlenmesi için uygulanmıştır. Bu analizle stabil bir serbest radikal olan DPPH, antioksidanların etkinliği ölçüsünde koyu mor rengi açılarak sarı renge döner ve absorbans değerlerinde düşme gözlenir. Çemen ekstraktı ve timol kullanılan çözeltilerde antioksidan aktivite %95 dolaylarındadır ve kontrol örneğe göre yaklaşık %20 daha fazla etki göstermiştir (Şekil 2).

4°C'da 10 gün depolanan köftelerin % nem sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde

(Çizelge 2), 0. günde Ç0.5 haricindeki köftelerin nem değerlerinin benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir ( $P > 0.05$ ). 10. günde ise tüm örneklerin nem içerikleri arasında önemli seviyede farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). 0. ve 10. günler arası istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde Ç0.5 haricindeki örneklerin nem değerleri depolamanın son günü olan 10. günde artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Bu durum, örneklerin saklandığı kabın hava geçirgenliği sebebiyle zaman içinde örneklerin



Şekil 1. Kaplama çözeltilerindeki toplam fenolik madde içeriği  
Figure 1. Total phenolic content of coating solutions



Şekil 2. Sulu ekstrakt çözeltilerinde DPPH sönümlenme etkisi (%)  
Figure 2. DPPH scavenging effect in aqueous extract solutions

havadaki nemi absorblamasından dolayı kaynaklanmış olabilir. Buradaki durumun aksine, Song ve ark. (3), sodyum aljinat ve kalsiyum klorür kullanarak hazırladıkları ve farklı antioksidanlar kattıkları filmleri balıklara uyguladıkları çalışmada, ürünlerin raf ömrü boyunca nem kaybederek ağırlıklarının azaldığını belirtmişlerdir.

4°C'da 10 gün depolanan köftelerin pH analizi sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. 0. ve 3.günde örnekler arasında önemli seviyede farklar görülürken ( $P < 0.05$ ), 7. ve 10. günlerde ise örnekler arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Örnek pH'larında 10 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler incelendiğinde ise, K1'in pH değerinin depolamanın 0., 3. ve 7. günlerinde benzer olduğu ( $P > 0.05$ ), fakat 10. günde artış gösterdiği görülmüştür ( $P < 0.05$ ). K2'nin pH değeri depolama süresince değişmemiştir ( $P > 0.05$ ). Ekstrakt içeren diğer tüm örneklerin pH değerlerinin 0., 3. ve 7. günlerde benzerlik gösterdiği ( $P > 0.05$ ), ancak Ç0.5, T0.5 ve T1 örneklerinin pH'sının 7. günden sonra 10. günde arttığı görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Ç1 ise 7. günden sonra artış gösterse de bu artış istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Örneklerin pH değerlerindeki artışın biriken bakteri metabolitlerinden ya da protein deaminasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Chidanandaiah ve ark. (8), farklı oranlarda aljinat kullanarak hazırladıkları aljinat-kalsiyum interaksyonu ile oluşturulmuş kaplamalarla kaplanan manda eti köftelerinin pH değerleri arasında farklılık görülmediğini, depolama süresi boyunca ise pH değerlerinin çok az yükselme gösterdiğini ve bu durumun amino asitlerin mikrobiyal yolla parçalanarak ortamda amonyum gibi alkali bileşiklerin oluşmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Ilhak ve Guran, (23) timol ve sodyum laktatı ayrı ayrı veya birlikte kullandıkları balık köftelerinin pH değerlerinde

önemli değişiklikler gözlemlenmediğini ve depolama süresince pH değerlerinin kontrol örneğine benzer şekilde çok az yükseldiğini belirlemişlerdir. Lu ve ark. (6) çalışmalarında balık (*Channa argus*) filetolarına hem nisin ve EDTA eklediklerini hem de balıkları nisin ve EDTA içeren aljinat-kalsiyumlu kaplamalarla kaplayarak 7 gün buzdolabı koşullarında depoladıklarını belirtmişlerdir. Çalışma sonuçlarında en yüksek pH değerlerine kontrol örneğinin sahip olduğunu, bunu kaplama yapılmadan nisin ve EDTA ilave edilmiş örneğin izlediğini, en düşük pH değerlerinin ise nisin ve EDTA içeren veya içermeyen kaplama yapılmış örneklerde olduğunu bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada, Lu ve ark. (7), (*Channa argus*) balık filetolarını aljinat-kalsiyum içeren filmlerle kapladıklarını ve filmlere tarçın ve nisin ilave ederek örnekleri buzdolabı koşullarında 15 gün depoladıklarını bildirmişlerdir. Çalışmada kaplama yapılmayan kontrol örneğinin en yüksek pH artışını gösterdiğini, sadece aljinat-kalsiyum içeren kaplamayla nisin katılan kaplamada kontrolden daha düşük pH değerlerinin ölçüldüğünü, sadece tarçın katılan ile tarçın ve nisin bir arada katıldığı aljinat-kalsiyum içerikli kaplamalara sahip örneklerin pH değerlerinin ise depolama süresi boyunca çok büyük artışlar göstermediğini belirlemişlerdir.

4°C'da 10 gün depolanan köftelerin TBARS analiz sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. 0.günde tüm örneklerin benzerlik gösterdiği görülmüştür ( $P > 0.05$ ). 10. günde K1, K2 ve Ç0.5'in birbirine benzerlik gösterdiği ( $P > 0.05$ ) ve diğerlerinden sayısal değer olarak büyük olduğu görülür. T0.5 ve T1 ile Ç1 benzerlik göstermiş ( $P > 0.05$ ) ve bu örneklerin TBARS değerleri diğer örneklerin TBARS değerlerinden daha düşük bulunarak ( $P < 0.05$ ) daha az lipid oksidasyonuna uğradığı belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca ise, K1 örneğinin değerlerinin 3. ve 10. günlerde benzerlik

Çizelge 2. 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin % nem sonuçları  
Table 2. Moisture % results of patties stored at 4°C for 10 days

Örnek Treatment	Depolama süresi (gün) - Storage time (day)	
	0	10
K1	64.53 <sup>ab</sup>	76.39 <sup>aA</sup>
K2	63.09 <sup>ab</sup>	72.37 <sup>aA</sup>
Ç0.5	69.17 <sup>aA</sup>	75.08 <sup>aA</sup>
Ç1	63.48 <sup>ab</sup>	76.91 <sup>aA</sup>
T0.5	62.81 <sup>ab</sup>	76.24 <sup>aA</sup>
T1	63.54 <sup>ab</sup>	71.59 <sup>aA</sup>

<sup>a,b</sup> Aynı kolondaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>a,b</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A,B</sup> Aynı satırdaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>A,B</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

Çizelge 3. 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin pH analizi sonuçları  
Table 3. pH results of patties stored at 4°C for 10 days

Örnek Treatment	Depolama süresi (gün)- Storage time			
	0	3	7	10
K1	5.67 <sup>aB</sup>	5.58 <sup>aB</sup>	5.58 <sup>aB</sup>	6.39 <sup>aA</sup>
K2	5.63 <sup>bcA</sup>	5.51 <sup>abA</sup>	5.68 <sup>aA</sup>	5.90 <sup>aA</sup>
Ç0.5	5.62 <sup>cAB</sup>	5.48 <sup>bB</sup>	5.48 <sup>aB</sup>	5.68 <sup>aA</sup>
Ç1	5.63 <sup>bcAB</sup>	5.44 <sup>bB</sup>	5.63 <sup>aAB</sup>	6.08 <sup>aA</sup>
T0.5	5.65 <sup>abcAB</sup>	5.49 <sup>abAB</sup>	5.67 <sup>aB</sup>	6.30 <sup>aA</sup>
T1	5.65 <sup>abAB</sup>	5.50 <sup>abB</sup>	5.55 <sup>aB</sup>	5.98 <sup>aA</sup>

<sup>a-c</sup> Aynı kolondaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>a-c</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A-B</sup> Aynı satırdaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>A-B</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

gösterdiği ( $P > 0.05$ ) ve 10. günde sayısal değer olarak en yüksek seviyeye ulaştığı gözlemlenmiştir. K2 örneğinin 0., 3. ve 7. günlerde TBARS değeri açısından değişim göstermediği ( $P > 0.05$ ), 10. günde ise arttığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Çemen ekstraktı içeren örnekler için depolama sonunda başlangıca göre önemli oranda artış görülmüştür ( $P < 0.05$ ). T0.5 depolama süresince artış göstermiş, fakat bu artış istatistik açıdan önem taşımamaktadır ( $P > 0.05$ ). T1'in TBARS değeri 7. günden itibaren artış göstermiş ( $P < 0.05$ ), 7. ve 10. günlerde ise benzer değerler sergilemiştir ( $P > 0.05$ ). Bilindiği üzere lipid oksidasyonu ürünlerin raf ömrü açısından arzu edilmeyen olaylardan biridir. Bu çalışmada, bir bitki ekstraktı ve antioksidan özellik gösteren bir madde kaplama formülasyonu içerisinde köftelere uygulanmış ve bu iki materyalin üründe oluşan lipid oksidasyonuna ve ürün raf ömrüne olan etkileri TBARS sayısı ile belirlenerek araştırılmaya çalışılmıştır. Her ne kadar TBARS değerleri depolama süresince bütün örneklerde yükselme eğilimi gösterse de, tüm örneklerde aynı seviyede bir yükseliş söz konusu değildir. Depolamanın başındaki ve sonundaki değerler incelendiğinde, antioksidan etkili maddelerin ürünlerin lipid oksidasyonunu baskıladığı ve özellikle timolün en yüksek antioksidan etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun ürün raf ömrü üzerinde oldukça etkili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde yapılan benzer çalışmaların pek çoğunda antioksidan madde içeren kaplamaların lipid oksidasyonu üzerinde bu çalışmadaki gibi olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Lu ve ark. (6) depolama süresince tüm örneklerin tiyobarbitürik asit değerlerinin arttığını ve nisin ve EDTA içeren veya bunları içermeyen kaplamalı örneklerin TBARS değerlerinin kaplama yapılmayan örneklerden düşük olduğunu bildirmişlerdir. Lu

ve ark. (7), balık filetoalarını tarçın ve nisin içeren aljinat-kalsiyum çözeltileriyle kapladıkları çalışmada, depolama süresi boyunca en yüksek tiyobarbitürik asit değerlerinin kaplama yapılmamış kontrol örneğinde gözlemlendiğini, bunu sadece aljinat-kalsiyum içeren kaplamalı örneğin izlediğini, en düşük değerlerin ise tarçın ve nisini bir arada içeren örnekte gözlemlendiğini bulmuşlardır. Chidanandaiah ve ark. (8), köfteleri aljinat-kalsiyumla kapladıkları çalışmalarında TBARS değerlerinin lineer olarak yükseldiğini bildirmişlerdir. Hettiarachchy ve ark. (24), çemen ekstraktı içeren hem çiğ hem de pişmiş köftelerin TBARS değerlerinin kontrolden daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 5 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin renk değerlerini göstermektedir. Elde edilen verilere göre 0. ve 3. günde tüm örneklerin L\* değerleri arasında önemli derecede farklılık görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). 10.günde K1 sayısal olarak en yüksek değeri alsa da T1 hariç, diğerleriyle benzerlik gösterir ( $P > 0.05$ ). T1'in parlaklık değeri ise diğer örneklerinkinden daha düşüktür ( $P < 0.05$ ). Depolama süresince bakıldığında ise K1'in parlaklık değeri depolama süresince değişim göstermezken ( $P > 0.05$ ), diğer örneklerde önemli seviyede değişiklikler bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). T1'de parlaklık 10. günde en düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin a\* değeri sonuçları incelendiğinde (Çizelge 5) 0.,3. ve 10. günlerde örnekler arasında önemli derecede farklılık bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ) 7. günde Ç0.5 hariç diğer örneklerin a\* değerleri ile K1 arasında benzerlik görülmektedir ( $P > 0.05$ ). Depolama süresince K1, T0.5 ve T1 örneklerinin a\* değerleri değişim göstermemiştir ( $P > 0.05$ ). Diğer örneklerin a\* değerlerinde ise depolama süresi boyunca önemli seviyede farklılıklar gözlemlenmiştir

Çizelge 4. 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin TBARS analiz sonuçları (mg malonaldehit/kg örnek)  
Table 4. TBARS analysis results of patties stored at 4°C for 10 days (mg malonaldehyde/kg treatment)

Örnek Treatment	Depolama süresi (gün) –Storage time (day)			
	0	3	7	10
K1	0.37 <sup>aB</sup>	0.72 <sup>aAB</sup>	0.56 <sup>abB</sup>	1.12 <sup>aA</sup>
K2	0.41 <sup>aB</sup>	0.46 <sup>bB</sup>	0.51 <sup>abcB</sup>	0.98 <sup>abA</sup>
Ç0.5	0.22 <sup>aC</sup>	0.38 <sup>bcBC</sup>	0.44 <sup>abcB</sup>	1.01 <sup>abA</sup>
Ç1	0.23 <sup>aC</sup>	0.42 <sup>bcB</sup>	0.59 <sup>aAB</sup>	0.67 <sup>bcA</sup>
T0.5	0.30 <sup>aA</sup>	0.25 <sup>aA</sup>	0.41 <sup>bcA</sup>	0.32 <sup>caA</sup>
T1	0.21 <sup>aC</sup>	0.25 <sup>bcB</sup>	0.38 <sup>aA</sup>	0.32 <sup>caB</sup>

<sup>a,c</sup> Aynı kolondaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>a,c</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A,C</sup> Aynı satırdaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>A,C</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

( $P < 0.05$ ). Köftelerin b\* değeri sonuçlarına göre (Çizelge 5) 0., 7. ve 10. günlerde tüm örneklerin b\* değerleri arasında önemli derecede farklılık görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). 3. günde T0.5 haricindeki tüm örnekler K1 ile benzerlik göstermiştir ( $P > 0.05$ ). Örneklerin b\* değerleri depolama süresi boyunca incelendiğinde, T1 dışındaki tüm örneklerin b\* değerleri depolama boyunca önemli derecede değişmemiştir ( $P > 0.05$ ).

Çalışmanın sonucuna genel olarak bakıldığında, oksidasyon yönünden en iyi koruyucu etkiyi timol içeren çözeltinin gösterdiği, bunun ardından ise çemen ekstraktı içeren çözeltinin etkili olduğu bulunmuştur. Herhangi bir antioksidan madde içermeyen çözeltiyle örnekleri kaplamanın koruyucu özellik gösterdiği gözlenmiş olmasına rağmen, antioksidan içeren filmlerin daha iyi etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Daha ayrıntılı etkilerin belirlenmesi için bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çizelge 5. 4°C'da 10 gün depolanan köftelerin renk değerleri  
Table 5. Colour values of patties stored at 4°C for 10 days

Gün Day	Örnek-Treatment						
	K1	K2	Ç05	Ç1	T0.5	T1	
L*	0	42.40 <sup>aA</sup>	44.35 <sup>aAB</sup>	45.53 <sup>aA</sup>	44.11 <sup>aA</sup>	46.07 <sup>aA</sup>	44.10 <sup>aA</sup>
	3	43.27 <sup>aA</sup>	42.68 <sup>aAB</sup>	39.95 <sup>abB</sup>	39.77 <sup>abB</sup>	42.12 <sup>aAB</sup>	42.74 <sup>aA</sup>
	7	44.58 <sup>abA</sup>	45.85 <sup>aA</sup>	44.42 <sup>abA</sup>	42.51 <sup>abAB</sup>	46.59 <sup>aA</sup>	41.22 <sup>bA</sup>
	10	44.50 <sup>aA</sup>	40.76 <sup>abB</sup>	41.88 <sup>abAB</sup>	39.73 <sup>abB</sup>	40.36 <sup>abB</sup>	36.74 <sup>bB</sup>
a*	0	8.72 <sup>aA</sup>	7.51 <sup>aB</sup>	6.81 <sup>aB</sup>	8.56 <sup>aAB</sup>	8.26 <sup>aA</sup>	8.23 <sup>aA</sup>
	3	8.05 <sup>aA</sup>	9.80 <sup>aA</sup>	9.05 <sup>aA</sup>	9.92 <sup>aA</sup>	9.00 <sup>aA</sup>	8.60 <sup>aA</sup>
	7	9.88 <sup>aA</sup>	7.78 <sup>abB</sup>	6.74 <sup>bB</sup>	7.61 <sup>abB</sup>	7.39 <sup>abA</sup>	9.10 <sup>abA</sup>
	10	7.22 <sup>aA</sup>	7.74 <sup>aB</sup>	7.48 <sup>abB</sup>	8.37 <sup>aAB</sup>	8.53 <sup>aA</sup>	8.12 <sup>aA</sup>
b*	0	11.27 <sup>aA</sup>	12.64 <sup>aA</sup>	11.33 <sup>aA</sup>	12.58 <sup>aA</sup>	13.20 <sup>aA</sup>	13.37 <sup>aAB</sup>
	3	11.67 <sup>baA</sup>	13.30 <sup>abA</sup>	11.99 <sup>abA</sup>	12.28 <sup>abA</sup>	14.06 <sup>aA</sup>	11.97 <sup>abB</sup>
	7	12.62 <sup>aA</sup>	12.57 <sup>aA</sup>	13.12 <sup>aA</sup>	12.19 <sup>aA</sup>	12.52 <sup>aA</sup>	14.25 <sup>aA</sup>
	10	12.28 <sup>aA</sup>	11.49 <sup>aA</sup>	13.08 <sup>aA</sup>	13.48 <sup>aA</sup>	13.37 <sup>aA</sup>	13.50 <sup>aAB</sup>

<sup>a,b</sup> Aynı satırdaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>a,b</sup> Means in the same row with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>A,B</sup> Aynı kolondaki farklı üstel harflere sahip örnekler arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )

<sup>A,B</sup> Means in the same column with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

3. Song Y, Liu L, Shen H, You J, Luo Y. 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22: 608-615.
4. Guerreiro AC, Gago CML, Faleiro ML, Miguel MGC, Antunes MDC. 2015. The effect of alginate-based edible coatings enriched with essential oils constituents on *Arbutus unedo* L. fresh fruit storage. *Postharvest Biol Tec*, 100: 226-233.
5. Rojas-Graü MA, Raybaudi-Massilia RM, Soliva-Fortuny RC, Avena-Bustillos RJ, McHugh TH, Mart n-Belloso O. 2007. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biol Tec*, 45: 254-264.
6. Lu F, Liu D, Ye X, Wei Y, Liu F. 2009. Alginate-calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4°C. *J Sci Food Agric*, 89: 848-854.
7. Lu F, Ding Y, Ye X, Liu D. 2010. Cinnamon and nisin in alginate-calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. *LWT - Food Sci Technol*, 43: 1331-1335.
8. Chidanandaiah, Keshri RC, Sanyal MK. 2009. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4±1°C) storage. *J Muscle Foods*, 20: 275-292.
9. De'Nobili MD, Soria M, Martinefski MR, Tripodi VP, Fissore EN, Rojas AM. 2016. Stability of L-(+)-ascorbic acid in alginate edible films loaded with citric acid for antioxidant food preservation. *J Food Eng*, 175: 1-7.
10. Benayad Z, Gomez-Cordovés C, Es-Safi NE. 2014. Identification and quantification of flavonoid glycosides from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) germinated seeds by LC-DAD-ESI/MS analysis. *J Food Compos Anal*, 35: 21-29.
11. Belguith-Hadriche O, Bouaziz M, Jamoussi K, Simmonds MSJ, El Feki A, Makni-Ayedi F. 2013. Comparative study on hypocholesterolemic and antioxidant activities of various extracts of fenugreek seeds. *Food Chem*, 138: 1448-1453.
12. Kenny O, Smyth TJ, Hewage CM, Brunton NP. 2013. Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. *Food Chem*, 141: 4295-4302.
13. Bogdanovic A, Tadic V, Ristic M, Petrovic S, Skala D. 2016. Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) and calculating of extracts solubility. *J Supercrit Fluid*, 117: 297-307.
14. Kavooosi G, Dadfar SMM, Purfard AM. 2013. Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing. *J Food Sci*, 78 (2): E244-E250.
15. Marchese A, Erdogan Orhan I, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Gortzi O, Izadi M, Nabavi SM. 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem*, 210: 402-414.
16. Llana-Ruiz-Cabello M, Gutiérrez-Praena D, Puerto M, Pichardo S, José , Cameán AM. 2015. In vitro pro-oxidant/antioxidant role of carvacrol, thymol and their mixture in the intestinal Caco-2 cell line. *Toxicol in Vitro*, 29: 647-656.
17. Ramos M, Beltrán A, Peltzer M, Valente AJM, del Carmen Garrig s M. 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. *LWT - Food Sci Technol*, 58: 470-477.
18. Barut Uyar B, Gezmen-Karadağ M, Şanlıer N, Günyel S. 2013. Toplumumuzda sıklıkla kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde miktarlarının saptanması. *GIDA*, 38 (1): 23-29.
19. Siripatrawan U, Harte BR. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocoll*, 24: 770-775.
20. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official methods of analysis of the AOAC., Washington, USA.
21. Vural H ve Öztan A. 1996. Et ve ürünleri kalite kontrol laboratuvarı uygulama klavuzu. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No:36, Ankara, Türkiye, 236s.
22. Ulu H. 2004. Evaluating of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. *Meat Sci*, 67: 683-687.
23. İlhak OI, Guran HS. 2014. Combined antimicrobial effect of thymol and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* in fish patty. *J Food Safety*, 34: 211-217.
24. Hettiarachchy NS, Glenn KC, Gnanasambandam R, Johnson MG. 1996. Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) for ground beef patties. *J Food Sci*, 61 (3): 516-519.

## **FERMENTE ET MODEL SİSTEMİ İÇERİSİNDE KUŞBURNU (*ROSA CANINA L.*) MEYVESİ KULLANIMI**

**Cem Okan Özer\***

Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,  
Nevşehir/ Türkiye

Geliş / Received: 15.02.2017; Kabul / Accepted: 25.03.2017; Online baskı / Published online: 14.04.2017

Özer, C.O. (2017). Fermente et model sistemi içerisinde kuşburnu (*Rosa canina L.*) meyvesi kullanımı. *GIDA* (2017) 42 (4): 372-381 doi: 10.15237/gida.GD17021

### **Öz**

Bu çalışmada, taze ve kurutulmuş kuşburnu ilavesinin fermente et model sisteminde fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırma bulguları taze ve kurutulmuş kuşburnu ilavesinin tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve pH değerlerini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalttığını göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Fermentasyonun başlangıcında %10 taze kuşburnu ilave edilen grubun en yüksek  $L^*$  değerine sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Kuşburnu ilavesinin fermantasyon süresi sonunda belirlenen nem, protein, yağ ve kül değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Ayrıca, kuşburnu ilavesinin maya, küf, toplam mezofilik aerob ve koliform bakteri sayısı üzerine bir etkisi olmadığı belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar kuşburnu ilavesinin fermente et model sisteminde lipid oksidasyonunu sınırlandırma amacı ile kullanılabileceğini ve son üründe herhangi bir kalite problemine sebep olmadığını göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fermente et, kuşburnu, kalite kriterleri

## **THE USE OF ROSE HIP FRUIT (*ROSA CANINA L.*) IN FERMENTED MEAT MODEL SYSTEM**

### **Abstract**

The effects of fresh and dried rosehip addition on the physicochemical and microbiological properties of fermented meat model system were investigated. Addition of fresh and dry rosehip significantly decreased thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and pH values compared to control group ( $P < 0.05$ ). While higher  $L^*$  values were determined in batter with 10% fresh rosehip compared to other treatment groups at the beginning of the fermentation ( $P < 0.05$ ). The addition of rosehip in batter showed non-significant effects on moisture, protein, fat and ash levels in batters after fermentation ( $P > 0.05$ ). The addition of rosehip did also not affect yeast, mold, total mesophilic aerobic and coliform counts ( $P > 0.05$ ). The results of this study demonstrated that rosehip can be used in fermented meat model system to inhibit lipid oxidation without posing any quality problems.

**Keywords:** Fermented meat, rosehip, quality parameters

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ cemokanozer@nevsehir.edu.tr,

© (+90) 384 228 1000-15077,

☎ (+90) 384 228 1123

## GİRİŞ

Et ve et ürünlerinde kalite ve kabul edilebilirliği olumsuz yönde etkileyen ve raf ömrünün kısalmasına neden olan en önemli etkenlerin başında lipit oksidasyonu gelmektedir. Et içerdiği doymamış yağ asitleri ve hem demir gibi metal iyonları nedeniyle oksidatif bozulmaya karşı oldukça duyarlı bir gıdadır. Lipit oksidasyonu neticesinde et ve et ürünlerinde istenmeyen renk, lezzet ve koku oluşumu, besin değerinde kayıplar, su kaybı, toksik özellikteki maddelerin oluşumu ve raf ömrünün kısalması söz konusu olmaktadır (Contini vd., 2014). Et ve et ürünlerinde meydana gelen bu istenmeyen değişimlerin oluşumu sentetik (yapay) ve doğal antioksidan bileşenlerin kullanımı ile geciktirilebilmektedir. Ancak, son yıllarda tüketicilerde sentetik bileşenlerin gıda ürünlerinde kullanımı ve bu bileşenlerin tüketimine yönelik ortaya çıkan endişeler çalışmaların doğal kaynaklar üzerine odaklanmasına neden olmuştur (Vossen vd., 2012).

Doğal antioksidanların kaynağı ve kullanımı ile ilgili yapılan pek çok araştırma geniş biyoaktivite profiline sahip olan bitki ve baharatların gıda ürünlerinde doğal antioksidan maddeler olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Çoban vd., 2010). Bu amaçla pek çok bitkisel antioksidan kaynağının et ürünlerinde kullanım imkânlarına yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Ganhao vd., 2010, Duthie vd., 2013, Verma vd., 2013, Bukvicki vd., 2014, Kurcubic vd., 2014). Yüksek fenolik bileşen ve askorbik asit içeriği nedeniyle kuşburnu meyvesinin de antioksidan bileşen olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir (Demir vd., 2001, Ganhao vd., 2010).

Ganhao vd. (2010) domuz etinden üretilen hamburger köftelerinde kuşburnu ekstraktı kullanımının lipit ve protein oksidasyonunu geciktirdiğini belirtmiştir. Vossen vd. (2012) yaptıkları çalışmada domuz etinden üretilen soslerde kuşburnu ekstraktı kullanımının sodyum askorbat ve sodyum nitrit kadar olmasa da protein oksidasyonunu yavaşlattığını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar kuşburnunun içerdiği fenolik bileşenlerin kompleks gıda sistemlerinde antioksidan olarak kullanılabilmesini belirtmişlerdir. Kuşburnu içerisinde bulunan prosiyanidin ve kateşin gibi fenolik bileşenlerin radikal yakalama ve metal şelatlama aktivitesi ile antioksidan özellik gösterdiği ve özellikle protein oksidasyonunun engellenmesinde

etkili olabileceği belirtilmektedir (Estevez vd., 2010, Ganhao vd., 2010, Estevez vd., 2011, Vossen vd., 2012).

Bu çalışma kapsamında taze kuşburnu meyvesi ile liyofilizasyon ve konvansiyonel yöntemlerle kurutulmuş kuşburnu meyvelerinin fermente et model sisteminde sığır etinin fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Kuşburnu meyveleri ve tozlarının hazırlanışı

Çalışmada Gümüşhane ili, Kelkit ilçesinde yetiştirilen *Rosa canina* L. türü kuşburnu meyveleri kullanılmıştır. Hasattan sonra hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılan meyveler et sisteminde kullanılmak üzere hazırlanmıştır. Hazırlanan parçalanmış taze meyve ve kurutulmuş öğütülmüş örneklerde pH, nem, yağ, kül, protein, toplam şeker, diyet lif miktarı, askorbik asit miktarı ve toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir. Ayrıca antioksidan aktivite tayinleri kapsamında ABTS+ radikal süpürücü ve DPPH radikal tarama aktivitesi analizleri yapılmıştır.

Fermente et model sisteminde kullanılacak taze meyveler çekirdeklerinden ayrıldıktan sonra bir parçalayıcı ile parçalanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Kurutulmuş örnekler ise, meyveler çekirdeklerinden ayrıldıktan sonra tane halinde kabin tipi kurutucuda (Yücebaş Makine Tic. Ltd. Şti., İzmir) durgun sıcak kuru hava ile 50 °C ortam sıcaklığında kurutulmuştur. Liyofilizasyon yöntemi ile kurutulan meyveler ise -80 °C sıcaklık ve 0.01 mbar basınç altında (Operon, OPR-FDU-8612, Kore) kurutulmuştur. İki yöntemde de kurutma işlemi nem oranı yaklaşık %10'a ulaşıncaya kadar tamamlanmıştır. Her iki yöntemle de kurutulan meyveler öğütücü yardımıyla öğütülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

### Et materyali ve fermente et model sisteminin hazırlanışı

Çalışmada kullanılan sığır eti (*Longissimus dorsi*) yerel bir marketten (Kavdırlar Et Ürünleri, Nevşehir) temin edilmiştir. Kaba yağ ve bağ dokuları mümkün olduğunca ayrıldıktan sonra, kıyma haline getirilerek kullanılan etin yağ oranı % 20'ye standardize edilmiştir.



Fermente et model sistemi steril petri kutuları içerisinde 50'şer g kıyma kullanılarak oluşturulmuştur. Kontrol grubu (K) içerisine kuşburnu ilave edilmez iken diğer gruplarda %10 oranında parçalanmış taze kuşburnu meyvesi (A grubu), %10 oranında liyofilizasyon yöntemi ile kurutulmuş kuşburnu meyvesi (B grubu) ve %10 oranında konvansiyonel yöntem ile kurutulmuş kuşburnu meyvesi (C grubu) ilave edilmiştir. Ayrıca tüm gruplara  $10^7$  log kob/g düzeyinde starter kültür karışımı (*Lactobacillus curvatus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus* ve *Pediococcus pentosaceus*) ilave edilmiştir. Hazırlanan et hamuru %90 bağıl nem ve 24 °C ortam sıcaklığında 72 saat süre ile fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyon sonrası örnekler +4 °C'de 72 saat süre ile depolanmıştır.

Çalışma ile kuşburnu ilavesinin fermantasyon ve depolama sürecinde et model sisteminin pH, renk (L\*, a\*, b\*), nem, kül, protein, yağ değerleri, lipit oksidasyonu düzeyi ve mikrobiyal gelişimi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. pH, renk ve TBARS analizleri fermantasyon işlemi sırasında 12'şer, depolama işlemi sırasında ise 24'er saat zaman aralıkları ile yapılmıştır.

#### Kimyasal kompozisyon analizleri

Taze kuşburnu meyvesi ve tozları ile fermente et örneklerinde kül, nem, protein, yağ ve diyet lif miktarı (%) analizleri AOAC (1995) ve AOAC (2000)'e göre gerçekleştirilmiştir.

#### Askorbik asit (C vitamini) analizi

Askorbik asit miktarı, 2,6 diklorofenolindofenol çözeltisinin indirgenmesine dayanan spektrofotometrik yöntem ile saptanmıştır. 1 g örnek tartılarak 25 mL % 0.4'lük okzalik asit ilave edilip çalkalanarak, okzalik asitle 100 mL'ye tamamlandıktan sonra filtre edilmiştir. Filtrattan 1 mL alınarak üzerine 9 ml 2,6 diklorofenolindofenol çözeltisi ilave edilmiş ve 1 mL filtrat + 9 mL damıtık su ile hazırlanan şahide karşı absorbansı okunmuştur. Okunan absorbans değeri; 1 mL okzalik asit çözeltisi + 9 mL damıtık suya karşı okunan absorbans değerinden çıkartılarak ve askorbik asit çözeltisiyle hazırlanan standart eğriden gidilerek askorbik asit miktarı (mg/100g) hesaplanmıştır (Regnell, 1976).

#### Antioksidan kapasite özellikleri

**DPPH radikal tarama aktivitesi:** DPPH analizi Brand-Williams vd. (1995)'e göre gerçekleştirilmiştir. Beş farklı konsantrasyonda hazırlanan metanolik ekstraktlardan 0.025 mL alınarak 0.975 mL DPPH ile karıştırılmıştır. Reaksiyonun dengeye ulaşması için 120 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta bekletilip daha sonra 517 nm de absorbansı ölçülmüştür (Genesys-10 UV/VIS, Thermo Spectronic, Rochester, ABD). DPPH radikal süpürücü aktivite (%) aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır;

$$\% \text{ DPPH} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{Kontrol}} - \text{Absorbans}_{\text{örnek}} / \text{Absorbans}_{\text{Kontrol}}) \times 100}{1}$$

**ABTS+ radikal süpürücü aktivitesi:** 2,2/-azinobis (3-ethylbenzothiazoneline-6-sulfonic acid) (7 mM) ile potasyum persülfat (2.45 mM) 16 saat reaksiyona bırakılarak ABTS+ radikalleri geliştirilmiştir. Bu çözelti 734 nm de 0.7 ( $\pm 0.02$ ) absorbans verecek şekilde %98'lik etil alkolle seyreltilmiştir. Ekstraktlar analiz sonucunda absorbansları önceden hazırlanan standart kurveye ait absorbans aralığında olacak şekilde 4 farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlar ABTS+ solüsyonu ile karıştırılıp 6 dakika 25-30 °C'de tutularak, süre sonunda absorbansları ölçülmüştür. Absorbanstaki azalma trolox eşdeğeri (TEAC) olarak hesaplanmıştır ( $\mu\text{mol trolox/g}$ ) (Re vd., 1999).

#### Toplam fenolik madde analizi

Kuşburnu meyvesi ve tozlarının toplam fenolik içeriği Singleton vd. (1965) tarafından bildirilen Folin-Ciocalteu metodu ile belirlenmiştir. Meyve örneğinden 400 mg alınmış ve üzerine 10 mL metanol/kloroform (5:1) karışımı eklenmiş ve karıştırılmıştır. Hazırlanan ekstraksiyondan 100  $\mu\text{L}$  alınmış ve üzerine 4.5 mL saf su eklenmiştir. Daha sonra 100  $\mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu reaktifi (1 N) ve bundan sonrada 300  $\mu\text{L}$  sodyum karbonat (% 2) çözeltisi eklenerek iyice karıştırılmıştır. 45 dakika bekletilen karışım 720 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülerek absorbansı alınmıştır. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden (mg GAE/100g) hesaplanmıştır.

### **Toplam şeker analizi**

Taze kuşburnu meyvesi ve tozlarının şeker miktarı Luff-School metodu ile saptanmıştır. 5 g örnek alınarak Carrez çözeltileriyle durultulmuş ve son hacim 250 mL'ye tamamlanarak filtre edilmiştir. Filtrat Luff çözeltisi ile kaynatılarak sodyum tiyosülfat ile titre edilmiş ve toplam şeker miktarı bulunmuştur (Cemeroğlu, 1992).

### **pH analizi**

pH ölçümü için 10 g örnek alınmış ve 100 mL distile saf su içerisinde homojenizatör kullanılarak 1 dk homojenize edildikten sonra pH metrede (Orion Model 420, Boston, ABD) pH ölçümü gerçekleştirilmiştir (Chouliara vd., 2007).

### **Mikrobiyolojik analizler**

Et model sistemi içerisinde fermantasyon öncesinde, sonrasında ve depolama sonrasında mezofil aerobik bakteri, küf ve maya, koliform grubu bakteriler ve laktik asit bakterileri sayılarının tespiti yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler için, 10 g örnek alınarak steril fizyolojik tuzlu su içerisinde homojenize edildikten sonra uygun dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 0.1 mL alınarak toplam mezofil aerobik bakteri sayımı için Plate Count Agara (PCA), küf ve maya sayımı için Potato Dextrose Agara (PDA) ve koliform grubu mikroorganizmaların sayımı için Eosin Metilen Blue (EMB) Agara, laktik asit bakterileri için De Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agara üç paralelli olacak şekilde ekim yapılmıştır. PCA besiyeri içeren petri kutuları 30 °C'de 48 saat, EMB besiyeri içeren petri kutuları 37 °C'de 48 saat, PDA besiyeri içeren petri kutuları 25 °C'de 72 saat, MRS besiyeri içeren petri kutuları 37 °C'de 48 saat süreyle inkübe edildikten sonra besiyerlerinde sayım işlemi gerçekleştirilmiştir.

### **Tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) analizi**

Örneklerde lipit oksidasyonunun takibi TBARS analizi, Kilic vd. (2003)'e göre gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar  $\mu\text{mol/kg}$  TBARS olarak belirtilmiştir.

Analiz için 2 g et örneği falkon tüpü içerisine tartılmıştır. Üzerine 12 mL trikloroasetik asit (TCA) eklenerek 15-20 saniye süreyle homojenizatör

yardımıyla homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenize örnek Whattman 1 filtre kâğıdı kullanılarak deney tüplerine filtre edilmiştir. Elde edilen süzüntüden yeni bir deney tüpü içerisine 1 mL alınarak üzerine 1 mL tiyobarbitürik asit (TBA) solüsyonu eklenmiştir. Şahit (kör) çözelti için deney tüpü içerisine 1 mL TCA ve 1 mL TBA çözeltilerinden koyulmuştur. Tüpler bu halde karıştırılıp, ağızları plastik tıpa ile gevşek olacak şekilde kapatılarak 40 dakika 100 °C'de su banyosunda (JSSB-50T, JSR Co. Ltd., Seul, Kore) tutulmuştur. Bu işlem sonunda tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulup falkon tüplerine aktarılmış ve 4100 rpm devirde 10 dakika santrifüjlenmiştir (Combi-514R, Hanil Co. Ltd., Seul, Kore). Süpernatant kısmı alınarak 532 nm dalga boyunda absorpsanları alınmıştır.

### **Renk Analizi**

Örneklerde renk ölçümü, D65 aydınlatmalı, 10° gözlemci ve 8 mm çapında aydınlatma aralığına sahip bir renk ölçüm cihazı (Minolta CR-400, Osaka, Japonya) kullanılarak, Wiegand vd. (2003)'e göre yapılmıştır. Renk ölçümünde örneklerin yüzeyinden üç farklı noktada renk ölçümü yapılmıştır. Ölçüm sonucunda CIE L\* (parlaklık), a\* (kırmızılık), b\* (sarılık) değerleri belirlenmiştir. Ölçümler öncesi cihazın kendi standardı kullanılarak kalibrasyonu yapılmıştır.

### **İstatistiksel analiz**

Fermente et model sistemine ait bütün deneme grupları tamamen şansa bağlı olarak tasarlanmış ve tüm deneme iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçları SPSS 22.0.0 (SPSS Inc., Chicago, ABD) paket programı kullanılarak, varyans analizi (One-way ANOVA) ile incelenmiş ve ortalamalar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma testi ile test edilmiştir.

## **SONUÇ VE TARTIŞMA**

Et içerisine ilave edilen taze ve kurutulmuş kuşburnu meyvelerinin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Kurutma işlemine bağlı olarak kuşburnu meyvelerinin özelliklerinde önemli değişimler olduğu tespit edilmiştir. Nem içeriğinin azalmasına bağlı olarak kurutulmuş meyveler de protein, kül, yağ, diyet lif ve şeker

oranının önemli seviyede arttığı tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Buna karşın, C vitamini miktarının da kurutma işlemiyle beraber azaldığı ve bu azalmanın liyofilizasyon yöntemi ile kurutulan meyveler de %13.2 oranında, konvansiyonel yöntemle kurutulan meyvelerde ise %66.6 oranında olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Kurutma yöntemlerinin C vitamini miktarı üzerindeki etkisine benzer sonuçlar fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite özelliklerinde de belirlenmiştir. Literatürdeki pek çok çalışma, benzer sonuçları vermekle beraber kuşburnu içeriğindeki fenolik maddelerin ve C vitamininin ısıtma, kurutma, parçalama gibi işlemler sırasında büyük kayıplara uğradığını belirtmektedir (Stralsjo vd., 2003, Erenturk vd., 2005, Ropciuc vd., 2014). Ayrıca, Adamczak vd. (2010) yaptıkları çalışmada dondurarak kurutma yöntemi uygulanan kuşburnu meyvelerinde konvansiyonel yöntemle kurutma uygulananlara kıyasla fenolik bileşenler, sitrik asit, C vitamini ve beta karoten gibi aktif bileşenlerin daha az zarara uğradığını bildirmişlerdir.

öncesi yapılan pH ölçümlerinde, kontrol grubunun (K) pH değeri ortalama 5.85 iken, kuşburnu meyvesi ilave edilen tüm gruplarda (A, B ve C grupları) pH değerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu durumun kuşburnu meyvesinin pH'sının asidik (3.79-3.90) olması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Farklı et ürünleri içerisinde meyve ve sebze tozu, ekstraktı veya posası kullanımına yönelik yapılan çalışmalarda alınan benzer sonuçlarda, pH değerindeki düşüşün asidik meyve veya sebze pH'sından dolayı gerçekleştiği bildirilmiştir (Devatkal vd., 2010, Banerjee vd., 2012, Verma vd., 2013). Fermantasyon sonunda ve depolama süresince ise kontrol grubuna ait örneklerin diğer deneme gruplarına oranla daha düşük pH değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Düşük pH değerine sahip kuşburnu meyvesi ve tozunun ilave edilmesinin starter kültür gelişimini olumsuz etkilediği ve bu nedenle et sistemi pH değerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek düzeyde kaldığı düşünülmektedir. Kuşburnu

Çizelge 1. Taze ve kurutulmuş kuşburnu meyvelerinin fizikokimyasal özellikleri  
Table 1. Physicochemical properties of fresh and dried rosehip fruits

	C vitamini C vitamin (mg/100g)	Toplam Şeker Total sugar (%)	Toplam Fenolik Madde Total phenolic content (mg GAE/100g)	Protein Protein (%)	Yağ Fat (%)	Kül Ash (%)	Nem Moisture (%)	Diyet lif Dietary fiber (%)	pH pH	DPPH radikal tarama aktivitesi DPPH radical screening activity (%)	ABTS+ radikal tarama aktivitesi ABTS+ radical scavenging activities (µmol trolox/g)
Taze meyve Fresh Fruit	756.2 <sup>a</sup>	19.7 <sup>b</sup>	1485.5 <sup>a</sup>	1.27 <sup>b</sup>	0.91 <sup>b</sup>	1.09 <sup>b</sup>	70.52 <sup>a</sup>	18.45 <sup>b</sup>	3.90 <sup>a</sup>	76.3 <sup>a</sup>	128.8 <sup>a</sup>
Liyofilize kurutma Lyophilization drying	656.6 <sup>b</sup>	34.1 <sup>a</sup>	941.3 <sup>b</sup>	1.87 <sup>a</sup>	1.28 <sup>a</sup>	2.58 <sup>a</sup>	8.84 <sup>b</sup>	23.16 <sup>a</sup>	3.79 <sup>a</sup>	42.9 <sup>b</sup>	75.5 <sup>b</sup>
Konvansiyonel kurutma Conventional drying	252.8 <sup>c</sup>	36.3 <sup>a</sup>	668.4 <sup>c</sup>	1.77 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>	2.70 <sup>a</sup>	8.65 <sup>b</sup>	23.62 <sup>a</sup>	3.81 <sup>a</sup>	23.4 <sup>b</sup>	41.8 <sup>b</sup>
Standart Hata Standart Error	0.01	0.03	0.04	0.04	0.04	0.03	0.01	0.04	0.07	0.04	0.02

a, b, c; Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )  
a, b, c; Different letters within a column are significantly different ( $P < 0.05$ )

Kuşburnu ilavesinin etlerin protein, yağ ve kül içerikleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 2). Ancak taze kuşburnu meyvesi ilavesi yüksek nem içeriği sebebiyle örneklerde tespit edilen nem miktarını artırmıştır ( $P < 0.05$ ). Fermantasyon işlemi sonrasında ise grupların nem içeriği arasında önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

Kuşburnu meyvesi ilavesi ile hazırlanan model et sisteminin fermantasyon ve depolama aşamasındaki pH değişimleri Şekil 1'de verilmiştir. Fermantasyon

ilavesinin fermantasyon ve depolama süresince et model sisteminde toplam aerobik bakteri, koliform bakteri ve maya ve küf sayısı (Çizelge 3) üzerine önemli bir etkisinin olmadığı, ancak laktik asit bakteri sayısı göz önüne alındığında kontrol grubu örneklerde laktik asit bakteri sayısının fermantasyon sonunda diğer gruplara oranla daha yüksek sayılara ulaştığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Literatürde, kuşburnunun birçok mikroorganizma üzerine antimikrobiyel etki gösterdiğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır

Çizelge 2. Kuşburnu ilave edilmiş et sistemlerinin fermentasyon ve depolama süresince kimyasal kompozisyonu  
Table 2. Chemical composition of meat systems added rosehip during fermentation and storage

	Nem (%) / Moisture (%)					Protein (%) / Protein (%)				
	K	A	B	C	Standart Hata / Standart Error	K	A	B	C	Standart Hata / Standart Error
Fermentasyon Öncesi Before Fermentation	68.35 <sup>a</sup>	70.16 <sup>a</sup>	68.16 <sup>b</sup>	67.89 <sup>b</sup>	0.62	18.65 <sup>a</sup>	18.49 <sup>a</sup>	19.06 <sup>a</sup>	18.73 <sup>a</sup>	1.02
Fermentasyon Sonrası Before Fermentation	65.20 <sup>c</sup>	66.72 <sup>a</sup>	64.87 <sup>b</sup>	64.62 <sup>b</sup>	0.91	19.30 <sup>a</sup>	19.28 <sup>a</sup>	19.31 <sup>a</sup>	19.18 <sup>a</sup>	0.98
Depolama Sonrası After Storage	66.86 <sup>b</sup>	66.90 <sup>a</sup>	64.41 <sup>b</sup>	64.34 <sup>b</sup>	1.01	19.37 <sup>a</sup>	19.35 <sup>a</sup>	19.48 <sup>a</sup>	19.36 <sup>a</sup>	0.55
	Kül (%) / Ash (%)					Yağ (%) / Fat (%)				
Fermentasyon Öncesi Before Fermentation	2.34 <sup>a</sup>	2.43 <sup>a</sup>	2.37 <sup>a</sup>	2.41 <sup>a</sup>	0.65	10.23 <sup>a</sup>	10.46 <sup>a</sup>	10.75 <sup>a</sup>	10.65 <sup>a</sup>	1.04
Fermentasyon Sonrası Before Fermentation	2.39 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>	2.46 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a</sup>	0.45	10.98 <sup>a</sup>	11.06 <sup>a</sup>	11.35 <sup>a</sup>	11.38 <sup>a</sup>	1.41
Depolama Sonrası After Storage	2.36 <sup>a</sup>	2.58 <sup>a</sup>	2.35 <sup>a</sup>	2.48 <sup>a</sup>	0.34	11.03 <sup>a</sup>	10.91 <sup>a</sup>	11.25 <sup>a</sup>	11.30 <sup>a</sup>	1.07

a, b, c; Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )  
a, b, c; Different letters within a row are significantly different ( $P < 0.05$ )

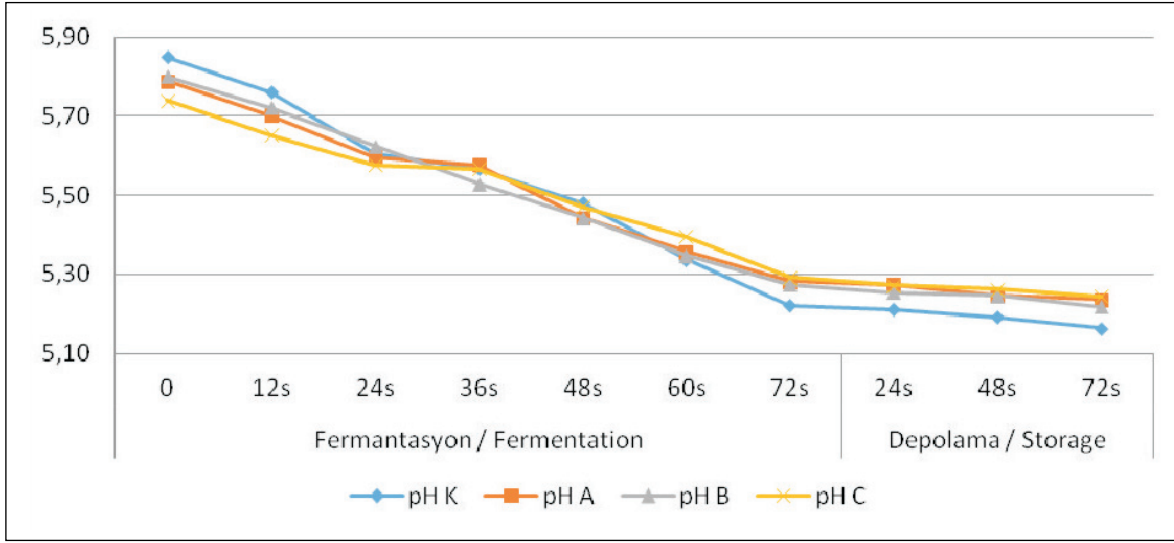
(Orhan vd., Yi vd., 2007, Yılmaz vd., 2011). Yılmaz vd. (2011) Erzurum bölgesinden elde edilen kuşburnu meyveleri ile yaptıkları çalışmada kuşburnu ekstraktlarının *Yersinia enterocolitica*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus cereus* üzerine antimikrobiyel etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca farklı çalışmalarda kuşburnu içerisindeki bileşenlerin Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* üzerinde minimum inhibisyon konsantrasyonunu azalttığı ve biyofilm oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Shiota vd., 2004, Quave vd.,

2008). Bunun yanı sıra, Agourram vd. (2013) farklı solventlerle elde edilen kuşburnu ekstraktlarının, mikroorganizmalar üzerinde farklı antimikrobiyel özellikler gösterebildiğini ve farklı kuşburnu ekstraktlarının bazı *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Lactococcus lactis* türleri üzerinde antimikrobiyel etkisinin olabildiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmaların aksine, Oyedemi vd. (2016) yaptıkları çalışmada kuşburnu ekstraktının zayıf bir antimikrobiyel olarak nitelendirilebileceği sonucuna varmışlardır.

Çizelge 3. Kuşburnu ilave edilmiş et sistemlerinin fermentasyon ve depolama süresince mikrobiyolojik özellikleri  
Table 3. Microbiological properties of meat systems added rosehip during fermentation and storage

log kob/g log cfu/g	Laktik Asit Bakterileri Sayısı Lactic acid bacteria count					Mezofilik Aerobik Bakteri Sayısı Mesophilic aerobic bacteria count				
	K	A	B	C	Standart Hata / Standart Error	K	A	B	C	Standart Hata / Standart Error
Fermentasyon Öncesi Before Fermentation	7.85 <sup>a</sup>	7.86 <sup>a</sup>	7.72 <sup>a</sup>	7.71 <sup>a</sup>	0.06	8.46 <sup>a</sup>	8.40 <sup>a</sup>	8.46 <sup>a</sup>	8.43 <sup>a</sup>	0.05
Fermentasyon Sonrası Before Fermentation	8.87 <sup>a</sup>	8.29 <sup>b</sup>	8.37 <sup>b</sup>	8.34 <sup>b</sup>	0.03	9.13 <sup>a</sup>	9.07 <sup>a</sup>	9.03 <sup>a</sup>	9.09 <sup>a</sup>	0.09
Depolama Sonrası After Storage	8.94 <sup>a</sup>	8.40 <sup>b</sup>	8.45 <sup>b</sup>	8.51 <sup>b</sup>	0.05	9.17 <sup>a</sup>	9.11 <sup>a</sup>	9.08 <sup>a</sup>	9.12 <sup>a</sup>	0.07
	Maya ve Küf Sayısı Yeast and moulds count					Koliiform Bakteri Sayısı Coliform bacteria count				
Fermentasyon Öncesi Before Fermentation	3.65 <sup>a</sup>	3.71 <sup>a</sup>	3.64 <sup>a</sup>	3.69 <sup>a</sup>	0.09	1.23 <sup>a</sup>	1.24 <sup>a</sup>	1.29 <sup>a</sup>	1.28 <sup>a</sup>	0.07
Fermentasyon Sonrası Before Fermentation	3.78 <sup>a</sup>	3.82 <sup>a</sup>	3.81 <sup>a</sup>	3.89 <sup>a</sup>	0.05	1.26 <sup>a</sup>	1.29 <sup>a</sup>	1.34 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>	0.06
Depolama Sonrası After Storage	4.11 <sup>a</sup>	4.09 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	4.16 <sup>a</sup>	0.06	1.24 <sup>a</sup>	1.21 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a</sup>	0.06

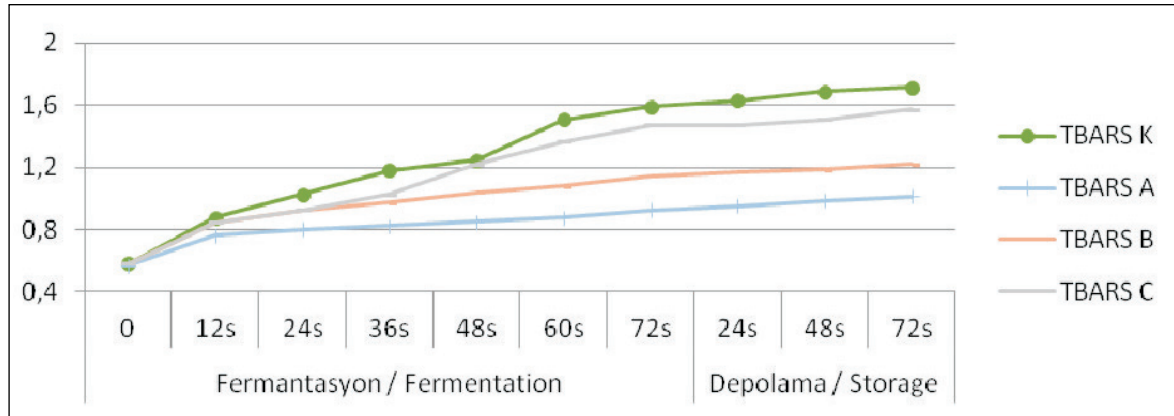
a, b, c; Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P < 0.05$ )  
a, b, c; Different letters within a row are significantly different ( $P < 0.05$ )



Şekil 1. Kuşburnu ilave edilmiş et sistemlerinin fermantasyon ve depolama süresince pH değişimleri  
Figure 1. pH changes in meat systems added rosehip during fermentation and storage

Et model sisteminde fermantasyon ve depolama süresince belirlenen TBARS düzeyleri Şekil 2'de verilmiştir. Kuşburnu ilavesinin fermente et model sisteminin TBARS düzeyine önemli seviyede etki ettiği belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Fermantasyon ve depolama süresince kuşburnu ilavesi yapılmayan kontrol grubu örneklerine ait TBARS değerlerinin daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Ayrıca A grubu örneklerin B ve C grubu örneklerle kıyasla TBARS değerlerini daha etkili şekilde azalttığı ve en az etkinin konvansiyonel yöntemle kurutulmuş üretilen kuşburnu tozu ilavesinde (C grubu) sağlandığı tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Liyofilize edilerek üretilen kuşburnu tozunun ete ilave edilmesi ile fermantasyon sonu TBARS değerlerinde kontrol grubuna kıyasla %28 oranında azalma sağlanmıştır. Bu sonuç aynı

zamanda kuşburnu örneklerinin fenolik madde ve C vitamini miktarları ile de paralellik göstermektedir. Ete ilave edilen taze kuşburnu meyvesi en yüksek fenolik madde ve C vitamini içeriğine sahipken, konvansiyonel yöntemle üretilen kuşburnu tozlarında toplam fenolik madde ve C vitamini içeriğinin önemli seviyede az olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Su vd. (2007) kuşburnunun içerdiği fenolik bileşenler ile güçlü radikal yakalama kapasitesi ve şelatlama yeteneği olduğunu belirtmiştir. Benzer sonuçların rapor edildiği çalışmalarda kuşburnu ekstraktı kullanımının hamburger köftesi ve sosis gibi ürünlerde lipit ve protein oksidasyonunun yavaşlatılmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Ganhao vd., 2010, Vossen vd., 2012).



Şekil 2. Kuşburnu ilave edilmiş et sistemlerinin fermantasyon ve depolama süresince TBARS (µmol/kg) düzeyleri  
Figure 2. TBARS (µmol/kg) levels in meat systems added rosehip during fermentation and storage

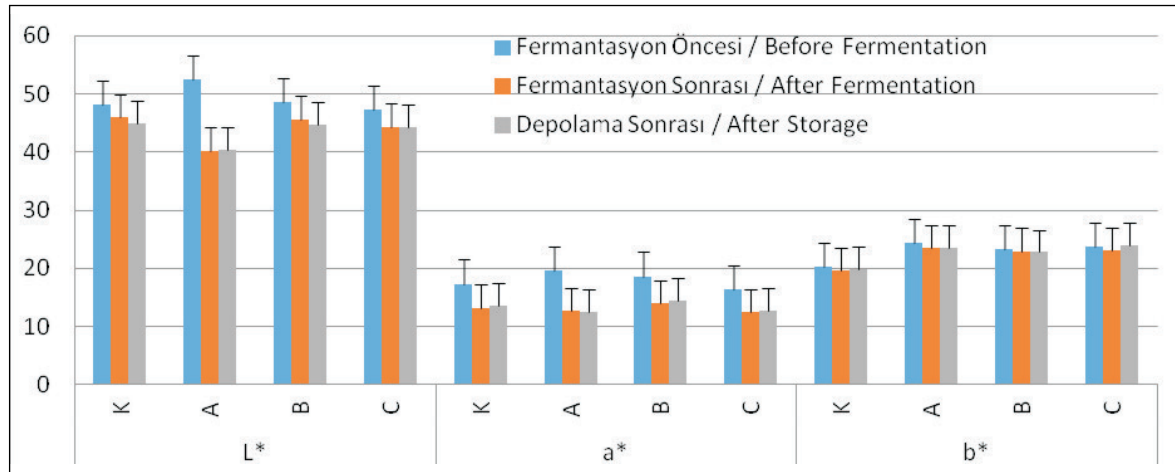
Fermente et model sistemine ait renk değerlerinde ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) fermentasyon ve depolama süresince meydana gelen değişim Şekil 3'de verilmiştir. A grubu örneklerin fermentasyon öncesi yapılan ölçümlerde en yüksek  $L^*$  (parlaklık) değerine (52.54) sahip olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Ancak fermentasyon sonrasında aynı grubun parlaklık değerinin bütün deneme grupları içerisindeki en düşük seviye (40.23) olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Kontrol grubu ile kıyaslandığında kuşburnu ilavesinin yapıldığı A ve B gruplarında  $a^*$  değeri (kırmızılık) önemli seviyede artarken (19.59 ve 18.65), C grubunda ise (16.38) azalmıştır ( $P < 0.05$ ).  $b^*$  değerleri bakımından ise kuşburnu ilavesinin  $b^*$  değerlerinin önemli seviyede artmasını sağladığı ve depolama sonunda da kuşburnu ilave edilen grupların kontrol grubuna kıyasla daha yüksek  $b^*$  değerine sahip olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Bunun yanı sıra depolama sonunda grupların  $L^*$  değerleri arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Sosis ve köfte üretiminde ilave edilen kuşburnu ekstraktlarının renk değerleri üzerine bir miktar etki ettiği ve sosis gibi sıcaklık uygulamasının yapıldığı et ürünlerinde kürlenme işlemi ile ortaya çıkan pembe rengin oluşuma katkı sağladığı bildirilmiştir (Ganhao vd., 2010, Vossen vd., 2012, Duthie vd., 2013).

## TEŞEKKÜR

NEÜBAP16F24 No'lu proje kapsamında gerçekleştirilmiş olan bu çalışma Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Adamczak, A., Buchwald, W., Zielinski, J. Mielcarek, S. (2010). The effect of air and freeze drying on the content of flavonoids,  $\beta$  -carotene and organic acids in European dog rose hips (*Rosa L. sect. Caninae DC. em. Christ.*). *Kerva Pol*, 56(1): 7-18.
2. Agourram, A., Ghirardello, D., Rantsiou, K., Zeppa, G., Belviso, S., Romane, A., Oufdou, K. Giordano, M. (2013). Phenolic content, antioxidant potential, and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. *Int J Food Prop*, 16(5): 1092-1104.
3. AOAC (1995). Official Methods of Analysis (16th ed) Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. .
4. AOAC (2000). Official Methods of Analysis (17th ed) Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. .
5. Banerjee, R., Verma, A.K., Das, A.K., Rajkumar, V., Shewalkar, A.A. Narkhede, H.P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Sci*, 91(2): 179-184.
6. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lut-Food Sci Technol*, 28(1): 25-30.
7. Bukvicki, D., Stojkovic, D., Sokovic, M., Vannini, L., Montanari, C., Pejcin, B., Savic, A., Veljic, M., Grujic, S. Mann, P.D. (2014). Satureja horvatii essential oil: In vitro antimicrobial and antiradical properties and in situ control of *Listeria monocytogenes* in pork meat. *Meat Sci*, 96(3): 1355-1360.



Şekil 3. Kuşburnu ilave edilmiş et sistemlerinin fermentasyon ve depolama süresince renk değerleri  
Figure 3. Color values of meat systems added rosehip during fermentation and storage

8. Cemeroglu, B. (1992). Meyve ve sebze işleme endüstrisinde temel analiz metotları. Biltav Yayınları, Ankara: 338-351.
9. Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I.N. Kontominas, M.G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 degrees C. *Food Microbiol*, 24(6): 607-617.
10. Contini, C., Alvarez, R., O'Sullivan, M., Dowling, D.P., Gargan, S.O.Monahan, F.J. (2014). Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat Sci*, 96(3): 1171-1176.
11. Çoban, Ö.E.Patır, B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Tek Elektronik Der*, 5(2): 7-19.
12. Demir, F.Ozcan, M. (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *J Food Eng*, 47(4): 333-336.
13. Devatkal, S.K., Narsaiah, K.Borah, A. (2010). Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Sci*, 85(1): 155-159.
14. Duthie, G., Campbell, F., Bestwick, C., Stephen, S. Russell, W. (2013). Antioxidant Effectiveness of Vegetable Powders on the Lipid and Protein Oxidative Stability of Cooked Turkey Meat Patties: Implications for Health. *Nutrients*, 5(4): 1241-1252.
15. Erenturk, S., Gulaboglu, M.S., Gultekin, S. (2005). The effects of cutting and drying medium on the vitamin C content of rosehip during drying. *J Food Eng*, 68(4): 513-518.
16. Estevez, M., Heinonen, M. (2010). Effect of Phenolic Compounds on the Formation of alpha-Aminoadipic and gamma-Glutamic Semialdehydes from Myofibrillar Proteins Oxidized by Copper, Iron, and Myoglobin. *J Agric Food Chem*, 58(7): 4448-4455.
17. Estevez, M., Ventanas, S., Heinonen, M. Puolanne, E. (2011). Protein Carbonylation and Water-Holding Capacity of Pork Subjected to Frozen Storage: Effect of Muscle Type, Premincing, and Packaging. *J Agric Food Chem*, 59(10): 5435-5443.
18. Ganhao, R., Estevez, M., Kylli, P., Heinonen, M. Morcuende, D. (2010). Characterization of Selected Wild Mediterranean Fruits and Comparative Efficacy as Inhibitors of Oxidative Reactions in Emulsified Raw Pork Burger Patties. *J Agric Food Chem*, 58(15): 8854-8861.
19. Kilic, B.Richards, M.P. (2003). Lipid oxidation in poultry doner kebab: Pro-oxidative and anti-oxidative factors. *J Food Sci*, 68(2): 686-689.
20. Kurcubic, V.S., Maskovic, P.Z., Vujic, J.M., Vranic, D.V., Veskovic-Moracanic, S.M., Okanovic, D.G.Lilic, S.V. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of *Kitaibelia vitifolia* extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. *Meat Sci*, 97(4): 459-467.
21. Orhan, D.D.Hartevioğlu, A. Kuşburnu Bitkisinin Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri.
22. Oyedemi, S., Oyedemi, B., Prieto, J., Coopoosamy, R., Stapleton, P.Gibbons, S. (2016). In vitro assessment of antibiotic-resistance reversal of a methanol extract from *Rosa canina* L. *S Afr J Bot*, 105: 337-342.
23. Quave, C.L., Plano, L.R., Pantuso, T.Bennett, B.C. (2008). Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol*, 118(3): 418-428.
24. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M.Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9): 1231-1237.
25. Regnell, C. (1976). Islenmis sebze ve meyvelerin kalite kontrolu ile ilgili analitik metotlar. *Bursa Gıda Kontrol Egıt. Aras. Ens. Yayın*,(2).
26. Ropciuc, S. Leahu, A. (2014). Influence of processing on vitamin C content of rosehip fruits. *Sci Pap Anim Sci Biotechnol*, 47(1): 116-120.
27. Shiota, S., Shimizu, M., Sugiyama, J.i., Morita, Y., Mizushima, T.Tsuchiya, T. (2004). Mechanisms of Action of Corilagin and Tellimagrandin I That Remarkably Potentiate the Activity of  $\beta$  - Lactams against Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol*, 48(1): 67-73.
28. Singleton, V.Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American J Enol Vitic*, 16(3): 144-158.



29. Stralsjo, L., Alkint, C., Olsson, M.E.Sjoholm, I. (2003). Total folate content and retention in rosehips (*Rosa* spp.) after drying. *J Agric Food Chem*, 51(15): 4291-4295.
30. Su, L., Yin, J.-J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J.Yu, L.L. (2007). Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chem*, 100(3): 990-997.
31. Verma, A.K., Rajkumar, V., Banerjee, R., Biswas, S.Das, A.K. (2013). Guava (*Psidium guajava* L.) Powder as an Antioxidant Dietary Fibre in Sheep Meat Nuggets. *Asian Austral J Anim*, 26(6): 886-895.
32. Vossen, E., Utrera, M., De Smet, S., Morcuende, D.Estevez, M. (2012). Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. *Meat Sci*, 92(4): 451-457.
33. Wiegand, C.Waloszek, G. (2003). Color Glossary A–C. [http://www.sapdesignguild.org/resources/glossaryor/index1.html#norm\\_cs](http://www.sapdesignguild.org/resources/glossaryor/index1.html#norm_cs). (Accessed 18 November 2015).
34. Yi, O., Jovel, E.M., Towers, G.N., Wahbe, T.R.Cho, D. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of native *Rosa* sp. from British Columbia, Canada. *Int J Food Sci Nutr*, 58(3): 178-189.
35. Yilmaz, S.O., Ercisli, S. (2011). Antibacterial and antioxidant activity of fruits of some rose species from Turkey. *Rom Biotech Lett*, 16(4): 6407-6411.



## THE EFFECT OF ROASTING PROCESS ON FATTY ACID COMPOSITION AND PHENOLIC CONTENT OF WHOLE FLAXSEED, FLAXSEED FLOUR AND FLAXSEED MEAL FLOUR

Evrım Özkaynak Kanmaz\*

Artvin Çoruh University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetics Department, Artvin

Geliş / Received: 04.08.2016; Kabul / Accepted: 25.01.2017; Online baskı / Published online: 14.04.2017

Özkaynak Kanmaz, E. (2017). The effect of roasting process on fatty acid composition and phenolic content of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour. *GIDA* (2017) 42 (4): 382-391 doi: 10.15237/gida.GD16081

### Abstract

In this study, the change in fatty acid composition, secoisolariciresinol diglucoside (SDG) lignan, phenolic and flavonoid contents of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour were investigated during the roasting process at 180°C for 5, 10 and 15 min. The level of  $\alpha$ -linolenic acid in flaxseed flour and flaxseed meal flour significantly ( $P < 0.05$ ) decreased 1.1 times (from 58.10 to 55.48%) and 1.4 times (from 56.13 to 40.17%) after the roasting process at 180°C for 15 min, respectively. Whole flaxseed had the highest SDG lignan content after the roasting process at 180°C for 5, 10 and 15 min. Besides, free flavonoid and free phenolic content of whole flaxseed significantly ( $P < 0.05$ ) increased 4.5 and 2.4 times after the roasting process at 180°C for 5 min, respectively.

**Keywords:** Flaxseed, roasting,  $\alpha$ -linolenic acid, SDG lignan, phenolics, flavonoids.

## TANE KETEN TOHUMU, KETEN TOHUMU UNU VE KETEN TOHUMU KÜSPESİ UNUNUNUN YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE FENOLİK BİLEŞİK İÇERİĞİNE KAVURMA İŞLEMİNİN ETKİSİ

### Öz

Bu çalışmada, tane keten tohumu, keten tohumu unu ve keten tohumu küspesi ununun yağ asidi kompozisyonu ile SDG lignan, fenolik ve flavonoid içeriğininin 180°C sıcaklıkta 5, 10 ve 15 dak kavurma işlemleri sırasındaki değişimi araştırılmıştır. Keten tohumu ununun ve keten tohumu küspesi ununun  $\alpha$ -linolenik asit düzeyleri 180°C'de 15 dak kavurma işleminden sonra istatistiksel ( $P < 0.05$ ) açıdan önemli düzeyde sırası ile 1.1 kat (%58.10'dan %55.48'e) ve 1.4 kat (%56.13'den %40.17'ye) azalmıştır. Tane keten tohumu 180°C'de 5, 10 ve 15 dak kavurma işlemlerinden sonra en yüksek SDG lignan içeriğine sahiptir. Ayrıca, tane keten tohumunun serbest flavonoid ve serbest fenolik içeriği 180°C'de 5 dak kavurma işleminden sonra istatistiksel ( $P < 0.05$ ) açıdan önemli düzeyde sırası ile 4.5 and 2.4 kat artmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Keten tohumu, kavurma,  $\alpha$ -linolenik asit, SDG lignan, fenolikler, flavonoidler.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ evrimka2000@yahoo.com,

☎ (+90) 466 215 1063 / 2127,

☎ (+90) 466 215 1064

## INTRODUCTION

Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) has health promoting effects because of its valuable nutrients. Especially phytoestrogenic (1), anticarcinogenic (2), antioxidative (1) and cardioprotective (3) effects of flaxseed were attributed to secoisolariciresinol diglucoside (SDG) lignan, phenolic acids, flavonoids and  $\alpha$ -linolenic acid. The main lignan, SDG is varied between 5.87 and 23.84 mg/g in defatted flaxseed flour (4). The percent of  $\alpha$ -linolenic acid in flaxseed is 5.5 times higher than that in the next-highest sources, walnuts and canola oil (5) and vary between 47.00-60.42% of total fatty acids (6). Flaxseed is also a rich source of phenolic acids and flavonoids (4).

Flaxseed is increasingly used as functional ingredient in food products because of these valuable bioactive compounds. Some uses of flaxseed include ready-to-eat breakfast cereals, cakes, biscuits, crackers, bagels, energy bars, salad dressings, breakfast drinks and soups. Besides, flaxseed flour is used commercially in breads and cookies. The hulls and meals were found to be higher in SDG lignan, thus these by products were also used as a functional food ingredient in breakfast cereals and bakery products (7). Especially dry heating process such as roasting, baking and extrusion have important effects on lipid quality and phenolic content of oilseeds, cereals and legumes. In the literature, there are heat treatment studies such as phenolics in roasted sesame seeds (8), fatty acids and phenolics in roasted peanut (9, 10), fatty acids in roasted sunflower seeds (11), proanthocyanidin and total phenolics in roasted cocoa beans (12), isoflavones in roasted and puffed soybean (13).

The fatty acid composition of flaxseed oil is known to consist of high levels of  $\alpha$ -linolenic acid followed by linoleic and oleic acid. The use of flaxseed oil for edible purposes, particularly as cooking oil, has been limited because of its instability, but it can be used as salad oil (14). On the other hand, nowadays, various flaxseed products are used as a functional ingredient in functional foods and generally, heat treatment is used during production of these foods as bakery products. In the literature, there are two studies about the influence of toasting on nutritious of flaxseed (15, 16). However, no studies about the

effect of roasting process on fatty acids and phenolic compounds of flaxseeds and their products have been reported. Therefore, in this study, fatty acid composition, trans fatty acids, SDG lignan, phenolic acids and flavonoids in flaxseed products (whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour) were investigated during roasting process in a conventional oven at 180°C for different heating times (0, 5, 10 and 15 min).

## MATERIALS AND METHODS

### Samples and roasting process

An oil-type brown flaxseed (TR 77705) cultivar (*Linum usitatissimum* L.) was used in this study and it was supplied from National Gene Bank of Aegean Agricultural Research Institute in İzmir, Turkey. These flaxseeds were stored at 4°C after cleaning. In this study, three flaxseed products as whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour were used. Flaxseed flour was obtained by grinding (250  $\mu\text{m}$ <) of whole flaxseed using a coffee grinder (Bosch, KM 13). Flaxseed meal was prepared using a screw press. This operation was done by feeding a screw press (6 inch) at 80°C. Flaxseed meal was also ground (250  $\mu\text{m}$ <) with a coffee grinder to obtain flaxseed meal flour just before the extraction.

Roasting process of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour were occurred in a conventional oven (Teba High-01, Inox) at 180°C for 5, 10, and 15 min. In this study, 500 gram batch was used for each roasting process and three replication was applied for each roasting time. For all flaxseed products, each replication was extracted separately and then each of the extracted oils and defatted flaxseed samples were analyzed independently. Each flaxseed product was roasted using two aluminum pan at the same time in the oven for each replication and the batch was not stirred during the roasting process to prevent the temperature changes in the oven and also the thickness of the batch was very low.

### Reagents and standards

The chemicals and reagents used in the study were n-hexane, sodium carbonate, hydrochloric acid, ammonium acetate, acetonitrile (Merck);

potassium hydroxide (Supelco); sodium hydroxide, sulphuric acid (J. T. Baker), methanol, Folin-ciocalteu phenol reagent, luteolin, standard mixture fatty acid methyl esters (Sigma-Aldrich); ferulic acid, 2-aminoethyl dipheylborinate (Fluka) and SDG (secoisolariciresinol diglucoside) lignan standard (Bosco, Hong Kong). All the chemicals and solvents were analytical or HPLC grade.

#### **Determination of fatty acid composition**

Each flaxseed sample was defatted with n-hexane using magnetic stirrer at 20°C for 1 h and the extract was filtered through rough filter paper. This process was repeated two times and n-hexane was removed with a rotary evaporator. Fatty acid composition of the flaxseed oil samples were determined using gas chromatography of fatty acid methyl esters (FAME). FAME were prepared according to the method of AOAC (17). FAME was quantified on an Agilent 5890N gas chromatograph, (Agilent Technologies Inc., Wilmington, DE, USA) and a flame ionization detector. Separation was carried out on a DB23 capillary column (30m\*250 µm, J. W. Scientific) with a film thickness of 0.25 mm. The FAME in n-hexane (2 µL) was injected into the column with a split ratio of 100:1. The injector and detector temperature were set at 250°C. The column temperature was programmed from 30 to 150°C at 20.0°C/min and then to 235°C at 6.0°C/min and was held at 230°C for 20 min (18). Identification of fatty acids was carried out using a reference standard mixture fatty acid methyl esters (Sigma-Aldrich), which is a ready to use standard.

#### **Determination of SDG lignan content**

The procedure of Özkaynak Kanmaz and Ova (19) was followed. 1 g of flaxseed samples were added into 25 mL flasks and then mixed with 4 mL of methanol, 1 mL of distilled water, and 5 mL of 2 mol/L NaOH. The flasks were sealed and shaken at room temperature on an orbital shaker for 1 h. Each hydrolysate was subsequently acidified with the addition of 5 mL of 1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The mixtures were then centrifuged at 11,000xg for 10 min and the supernatants were collected. 0.4 mL liquid phase from the supernatant was added to each of two microcentrifuge tubes, and then mixed with 0.6 mL of 100% methanol. The solution

was allowed to sit for 30 min at room temperature before re-centrifuging for 5 min at 11,000xg in order to precipitate and remove water-soluble polysaccharides and proteins. The supernatant was then filtered through a 0.45 µm filter and analysed by HPLC. Analysis of SDG lignan was performed using a HPLC-MS/MS system (API 4000) equipped with a Waters Model 600 pump, a 717 plus autosampler, an Agilent 1100 degasser, and a 996 photodiode array detector. The chromatographic separation of SDG lignan was carried out using a Zorbax Eclipse XDB-C18 extend with a guard column, 150 mmx2.1mmx5µm column (Agilent). The column was thermostated at 40°C. The injection volume was 5µL. The mobile phase consisted of 0.05 mmolL<sup>-1</sup> ammonium acetate in water (solvent A), and 0.05 mmolL<sup>-1</sup> ammonium acetate in acetonitrile (solvent B). The solvent flow was 0.2 mL/min, and a linear gradient elution was followed with 2% B for 4.50 min, and 90% B from 4.50 to 8.50 min, and 2% B 8.50 to 13.30 min. SDG lignan was identified and quantified by comparison to SDG lignan standard.

(r value: 0.9989, accuracy: 3.25%, recovery: 88-107%, level of detection (LOD): 0.0016 ppm, level of quantification (LOQ): 0.005 ppm).

#### **Determination of free and esterified phenolics**

Free phenolics from 1 g of flaxseed samples were extracted with 45 mL of 80% aqueous methanol in a shaker bath set at 40 °C for 90 min and filtered. Then, the flasks was allowed to cool to room temperature and diluted to a 50 mL volume with distilled water. The procedure of Özkaynak Kanmaz (20) was followed for the extraction of esterified phenolics and spectrophotometric determination of phenolics. Esterified phenolics from 1 g of flaxseed sample were extracted with 30 mL of 1.2 M HCl in 80% aqueous methanol (v/v) in a shaker bath set at 80°C for 1 h. The extract was cooled, filtered and diluted to a 50 mL volume with distilled water. Total phenolic acid contents of these samples were determined by spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu phenol reagent. One millilitre of solutions were mixed with 0.5 mL of Folin-ciocalteu phenol reagent. After 3 min, 15 mL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7 g/100 mL) solution was added. The solutions were mixed and diluted to 25 mL with distilled water. The extinction was measured

after 1 h at 725 nm against a reagent blank. Ferrulic acid served as a standard for preparing the calibration curve at five point.

#### **Determination of free and esterified flavonoids**

The procedure of Özkaynak Kanmaz (20) was followed for the spectrophotometric determination of free and esterified flavonoids. About 1 mL of the free and esterified phenolic extracts were mixed with 100  $\mu$ L of 1% 2-aminoethyl-diphenylborate solution, and then these solutions were diluted to a 10 mL volume with 80% methanol. Luteolin served as a standard for preparing the calibration curve at five point with assay solution in 80% methanol.

#### **Statistical analysis.**

Analyses were performed in triplicate. Results were expressed as means  $\pm$  standard deviation. One-way analysis of variance, least significant difference (LSD) and univariate analysis of variance was applied using SPSS statistical package. The statistical significance was evaluated at  $P < 0.05$  level.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Fatty acid composition of roasted flaxseed products**

The fatty acid composition of whole flaxseed had minor changes whereas, a significant ( $P < 0.05$ ) change was determined in the fatty acid composition of flaxseed meal flour during the roasting process at 180°C in this study (Table 1). Manthey et al. (21) also reported that lipid stability is a major concern when using milled flaxseed as a food ingredient. Besides, Oomah and Sitter (22) reported that flaxseed hull oils consisted minor amounts of free fatty acids between 1.4 and 2.6%.

In this study,  $\alpha$ -linolenic acid of roasted whole flaxseed was found to be more stable than roasted flaxseed flour at 180°C for 5, 10 and also 15 min. The level of  $\alpha$ -linolenic acid in flaxseed flour and flaxseed meal flour significantly ( $P < 0.05$ ) decreased 1.1 times (from 58.10 to 55.48%) and 1.4 times (from 56.13 to 40.17%) during the roasting process at 180°C for 15 min (Table 1). Both Manthey et al. (21) and also Schorno et al. (23) reported that

$\alpha$ -linolenic acid is mostly affected by oxidation because autoxidation reaction rate increases with the number of double bonds present in a fatty acid. However, Epaminondas et al. (15) reported that the level of  $\alpha$ -linolenic acid in whole flaxseed did not vary with toasting process at 160°C for 15 min. On the other hand, the percentage of oleic acid in flaxseed meal flour significantly ( $P < 0.05$ ) increased 1.6 times (from 17.08 to 27.61%) during the roasting process at 180°C for 15 min whereas, the level of oleic acid in whole flaxseed was not affected with roasting process in this study. Also, the ratio of n-6/n-3 in flaxseed meal flour increased 1.3 times (from 0.28 to 0.37) during the roasting process at 180°C for 15 min (Table 1).

The level of saturated fatty acids (SFA) in flaxseed flour and flaxseed meal flour significantly ( $P < 0.05$ ) increased 1.2 times (from 8.28 to 10.07%) and 1.4 times (from 9.45 to 13.52%) during the roasting process at 180°C for 15 min, respectively. However, a significant ( $P < 0.05$ ) decrease was determined as 1.3 times (from 71.86 to 55.05%) for polyunsaturated fatty acids (PUFA) content of flaxseed meal flour with 15 min of roasting at 180°C (Table 1). On the other hand, after the roasting process at 180°C for 5 min, PUFA fraction in unroasted flaxseed flour decreased from 72.96 to 70.72%. Bozan and Temelli (24) also reported that the oxidation process mainly involved the degradation of PUFA and the generation of free radicals. It was also reported that the toasting process exposed the lipids and other constituents to oxidative processes, especially for golden flaxseeds and also the formation of oxidation products lead to a higher thermal stability of the toasted seeds when submitted to new thermal processes (16). Besides, Yoshida et al. (9) reported that roasting time had a significant effect on fatty acids of peanut oil and significant differences in fatty acid distribution of peanut seeds were obtained for 20 and 30 min of roasting process. On the other hand, different results were obtained about the change of PUFA/SFA ratio in flaxseed products during the roasting process in this study. PUFA/SFA ratio in flaxseed meal flour decreased 1.9 times (from 7.60 to 4.07) after the roasting process at 180°C for 15 min whereas, for 5 min, 1.2 times (from 7.60 to 8.90) increase was found in

## The Effect of Roasting Process on Fatty Acid Composition...

Table 1. Fatty acids and ratios of nutritional interest obtained during roasting at 180°C for the three products of flaxseed.

Whole flaxseed				
Roasting time (min)				
Fatty acids (%)	0	5	10	15
Palmitic	4.67±0.07 <sup>ay</sup>	5.25±0.18 <sup>by</sup>	5.32±0.23 <sup>by</sup>	4.61±0.08 <sup>az</sup>
Stearic	3.61±0.09 <sup>ax</sup>	3.48±0.12 <sup>cy</sup>	3.52±0.34 <sup>ay</sup>	3.55±0.26 <sup>ay</sup>
Oleic	17.60±0.32 <sup>ax</sup>	17.55±0.29 <sup>az</sup>	17.82±0.53 <sup>ay</sup>	17.54±0.45 <sup>az</sup>
Linoleic	14.86±0.20 <sup>ay</sup>	14.91±0.09 <sup>ax</sup>	14.97±0.23 <sup>ay</sup>	14.89±0.19 <sup>ay</sup>
α-Linolenic	58.28±1.47 <sup>ax</sup>	58.10±1.01 <sup>ax</sup>	57.75±1.19 <sup>bx</sup>	57.46±0.87 <sup>bx</sup>
Σ TRANS	0.25	0.36	0.36	0.25
Oleic	0.02	0.01	0.01	0.02
Linoleic	0.06	0.05	0.05	0.05
α-Linolenic	0.17	0.30	0.30	0.18
SFA	8.28	8.73	8.84	8.16
PUFA	73.14	73.01	72.72	72.35
P/S	8.30	8.36	8.23	8.87
n-6/n-3	0.26	0.26	0.26	0.26
Flaxseed flour				
Roasting time (min)				
Fatty acids (%)	0	5	10	15
Palmitic	4.67±0.07 <sup>dy</sup>	7.02±0.16 <sup>bx</sup>	6.72±0.05 <sup>cx</sup>	7.31±0.09 <sup>ax</sup>
Stearic	3.61±0.09 <sup>ax</sup>	2.85±0.08 <sup>bz</sup>	2.78±0.11 <sup>bz</sup>	2.76±0.27 <sup>cz</sup>
Oleic	17.60±0.82 <sup>bx</sup>	18.29±0.54 <sup>ax</sup>	17.84±0.67 <sup>by</sup>	17.88±0.28 <sup>by</sup>
Linoleic	14.86±0.20 <sup>ay</sup>	14.81±0.07 <sup>ay</sup>	15.00±0.21 <sup>ay</sup>	14.98±0.28 <sup>ax</sup>
α-Linolenic	58.10±1.47 <sup>ax</sup>	55.91±0.91 <sup>bz</sup>	55.59±1.39 <sup>bx</sup>	55.48±1.13 <sup>by</sup>
Σ TRANS	0.25	0.20	0.28	0.50
Oleic	0.02	0.00	0.02	0.03
Linoleic	0.06	0.07	0.06	0.09
α-Linolenic	0.17	0.13	0.20	0.38
SFA	8.28	9.87	9.50	10.07
PUFA	72.96	70.72	70.59	70.46
P/S	8.81	7.17	7.43	7.00
n-6/n-3	0.26	0.27	0.27	0.27
Flaxseed meal flour				
Roasting time (min)				
Fatty acids (%)	0	5	10	15
Palmitic	6.70±0.15 <sup>bx</sup>	4.61±0.08 <sup>cz</sup>	4.60±0.19 <sup>cz</sup>	7.05±0.15 <sup>ay</sup>
Stearic	2.75±0.11 <sup>cy</sup>	3.60±0.21 <sup>bx</sup>	3.97±0.07 <sup>bx</sup>	6.47±0.12 <sup>ax</sup>
Oleic	17.08±0.45 <sup>cy</sup>	17.68±0.39 <sup>cy</sup>	18.93±0.25 <sup>bx</sup>	27.61±0.43 <sup>ax</sup>
Linoleic	15.73±0.14 <sup>ax</sup>	14.91±0.17 <sup>bx</sup>	15.21±0.49 <sup>ax</sup>	14.88±0.28 <sup>by</sup>
α-Linolenic	56.13±1.22 <sup>ay</sup>	56.08±1.21 <sup>ay</sup>	56.05±0.87 <sup>ax</sup>	40.17±1.09 <sup>bz</sup>
Σ TRANS	0.43	0.20	0.25	0.36
Oleic	0.01	0.01	0.00	0.08
Linoleic	0.12	0.06	0.06	0.10
α-Linolenic	0.30	0.13	0.19	0.18
SFA	9.45	8.21	8.57	13.52
PUFA	71.86	72.99	71.26	55.05
P/S	7.60	8.90	8.32	4.07
n-6/n-3	0.28	0.27	0.27	0.37

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>abcd</sup> Values with different superscript letters within a row for each flaxseed product are significantly different at  $P<0.05$

<sup>xyz</sup> Values with different superscript letters within a row for each time between flaxseed product are significantly different at  $P<0.05$

SFA: saturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids, P/S: Polyunsaturated fatty acids/saturated fatty acids, n-6: linoleic acid, n-3: α-linolenic acid

PUFA/SFA ratio for flaxseed meal flour with roasting. However, for flaxseed flour, PUFA/SFA ratio decreased 1.2 times (from 8.81 to 7.17) after the roasting process at 180°C for 5 min (Table 1).

In this study, trans fatty acids (trans oleic, trans linoleic, trans  $\alpha$ -linolenic) formation in unroasted and roasted flaxseed products were also analyzed. Trans  $\alpha$ -linolenic acids were significantly ( $P<0.05$ ) higher than trans oleic and trans linoleic acids. The highest level of total trans fatty acids in unroasted flaxseed meal flour and roasted flaxseed flour were observed as 0.43 and 0.50% after the roasting process at 180°C for 15 min, respectively (Table 1).

### Phenolic content of roasted flaxseed products

Naturally occurring phytochemicals such as polyphenols play an important role in the protection of nuts and oilseeds against fat deterioration (10). Essential fatty acids in flaxseed oil are highly susceptible to oxidation and therefore it has a very short shelf life. However, in flaxseed, lipids are protected against oxidation by various mechanisms, for example, the presence of antioxidants such as lignans (18). In most cereal grains, the majority of phenolic compounds are bound to cell wall components in the hull (25). Also, flaxseed hulls were used as a source of lignans because of their highest lignan content (26).

In this study, the results showed that the roasting process had a significant ( $P<0.05$ ) effect on SDG lignan, phenolics and flavonoids of flaxseed products. Besides, roasting process did not improve the amount of SDG lignan in flaxseed products compared to phenolics and flavonoids and all unroasted flaxseed products had the highest SDG lignan content. SDG lignan in roasted whole flaxseed was found to be more stable than

flaxseed flour and also, whole flaxseed had the highest content of SDG lignan after the roasting process at 180°C for 5, 10 and 15 min (Table 2). SDG lignan amount in whole flaxseed and flaxseed flour significantly ( $P<0.05$ ) decreased 1.3 times (from 23.84 to 19.13 mg/g defatted sample in DW) and 1.7 times (from 23.84 to 14.21 mg/g defatted sample in DW) after the roasting process at 180°C for 15 min, respectively whereas, flaxseed meal flour did not exhibit a significant ( $P<0.05$ ) decrease with roasting process. In the literature, Shahidi et al. (27) also reported that the effect of heating process on the sesamin content of coated seeds was low and the decrease generally did not exceed 20% of the original values. Lee and Lee (13) also found that total isoflavones of soybeans decreased 25.46% after 21 min of roasting at 200°C.

Also, SDG lignan amount in whole flaxseed and flaxseed flour significantly ( $P<0.05$ ) decreased 1.2 times (from 23.84 to 20.21 mg/g defatted sample in DW) and 1.3 times (from 23.84 to 18.04 mg/g defatted sample in DW) after the roasting process at 180°C for 5 min, respectively whereas, SDG lignan content of flaxseed meal flour did not change significantly ( $P<0.05$ ) in this study. However, SDG lignan content of whole flaxseed exhibited a significant ( $P<0.05$ ) decrease as 1.3 times (from 23.84 to 17.83 mg/g defatted sample in DW) after pressing process by feeding a screw press at 80°C (Table 2). SDG lignan is diglycosylated form of secoisolaricresinol (SECO) and SDG are linked by 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl units (HMG), derived from 3-hydroxy-3-methyl-glutaric acid (HMGA), to form an ester-linked biopolymer. An alkaline treatment can break the SDG-HMG link and releases free SDG and also, to obtain the aglycone form of the SECO, SDG must undergo an acidic or an enzymatic treatment in order to break the glycosidic link (28). In this study, the change in SDG lignan of

Table 2. SDG lignan content obtained during roasting at 180°C for the three products of flaxseed.

Roasting time (min)	SDG lignan (mg/g defatted sample in DW)			
	0	5	10	15
Whole flaxseed	23.84±0.21 <sup>ax</sup>	20.21±0.18 <sup>bx</sup>	20.13±0.73 <sup>bx</sup>	19.13±0.21 <sup>cx</sup>
Flaxseed flour	23.84±0.21 <sup>ax</sup>	18.04±0.87 <sup>by</sup>	16.31±2.85 <sup>cy</sup>	14.21±0.30 <sup>dz</sup>
Flaxseed meal flour	17.83±0.13 <sup>ay</sup>	17.76±0.35 <sup>ay</sup>	17.65±0.19 <sup>by</sup>	17.60±0.11 <sup>by</sup>

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>abcd</sup> Values with different superscript letters within a row are significantly different at  $P<0.05$

<sup>xyz</sup> Values with different superscript letters within a column are significantly different at  $P<0.05$

flaxseed with pressing process could be explained with the high effect of the pressure on the SDG-HMG ester link and glycosidic link of SDG lignan during screw pressing process of flaxseed. In the literature, it was also reported that glycosides were unstable at higher temperatures and longer extraction times under the high pressure during subcritical water extraction (29).

SDG lignan and other phenolic compounds in flaxseed are present in bound forms with both glucosidic and ester bonds. Phenolic compounds at high concentrations in flaxseed were hydroxycinnamic acid glucosides as ferulic acid glucoside and *p*-coumaric acid glucoside. Flaxseed also contain *p*-coumaric, *o*-coumaric, ferulic, *p*-hydroxybenzoic, gentisic, vanillic, and sinapic acids in free and/or bound forms. (30, 31). After pressing process by feeding a screw press at 80°C, free and esterified phenolic content of whole flaxseed significantly ( $P<0.05$ ) increased 3.2 times (from 249.33 to 784.78 mg ferulic acid/100 g defatted sample in DW) and 1.6 times (from 959.87 to 1522.69 mg ferulic acid/100 g defatted sample in DW), respectively (Table 3). Also, free and esterified flavonoid content of whole flaxseed significantly ( $P<0.05$ ) increased 5.0 times (from 16.41 to 82.74 mg luteolin/100 g defatted sample in DW) and 2.7 times (from 11.58 to 31.47 mg luteolin/100 g defatted sample in DW) after pressing process by feeding a screw press at 80°C, respectively (Table 4). These results could be explained with degradation of SDG lignan because of screw pressing and also heating. In the literature, it was suggested that there was a stronger binding between

hydroxycinnamic acid glucosides and HMG complex than SDG-HMG (32). These results could be also explained with the high effect of the pressure on the hydroxycinnamic acid glucosides and HMG complex during screw pressing process of flaxseed. Beejmohun et al. (32) reported that flaxseed had high amount of *p*-coumaric acid glucoside (3.7 mg/g) and ferulic acid glucoside (4.1 mg/g). In the literature, glycosides were reported to become unstable at higher temperatures (29). Also, after screw pressing process, the high increase in phenolics could be explained with breaking of the interactions between phenolic compounds and cell wall polysaccharides as cellulose, hemicellulose and pectin because natural bioactive compounds such as phenolics- especially flavonoids, are present in different forms, interacting with the cell wall polysaccharides (33). Also, it could be suggested that the releasing of free phenolics and free flavonoids from the cell wall with screw pressing process was easier than esterified phenolics and esterified flavonoids.

Besides, free phenolics in whole flaxseed and flaxseed flour exhibited a significant ( $P<0.05$ ) increase as 2.4 and 1.6 times after the roasting process at 180°C for 5 min, respectively and also, esterified phenolics of whole flaxseed and flaxseed flour significantly ( $P<0.05$ ) increased 1.8 and 1.7 times under these roasting process conditions, respectively (Table 3). Also, free flavonoids of whole flaxseed and flaxseed flour significantly ( $P<0.05$ ) increased 4.5 and 6.0 times after the roasting process at 180°C for 5 min, respectively (Table 4). The increase in free and

Table 3. The change in free and esterified phenolics of roasted flaxseed products at 180°C.

Roasting time (min)	Free phenolics (mg ferulic acid/100 g defatted sample in DW)			
	0	5	10	15
Whole flaxseed	249.33±11.10 <sup>ax</sup>	597.10±29.92 <sup>ax</sup>	575.74±35.75 <sup>ax</sup>	555.08±28.81 <sup>by</sup>
Flaxseed flour	249.33±11.10 <sup>ax</sup>	408.30±22.33 <sup>bx</sup>	417.04±25.90 <sup>bx</sup>	841.66±60.43 <sup>ax</sup>
Flaxseed meal flour	784.78±39.32 <sup>by</sup>	441.07±27.44 <sup>by</sup>	426.89±36.38 <sup>by</sup>	431.25±24.84 <sup>bx</sup>
Roasting time (min)	Esterified phenolics (mg ferulic acid/100 g defatted sample in DW)			
	0	5	10	15
Whole flaxseed	959.87±38.20 <sup>by</sup>	1677.68±99.65 <sup>ax</sup>	1677.68±79.65 <sup>ay</sup>	1665.06±100.07 <sup>ax</sup>
Flaxseed flour	959.87±38.20 <sup>by</sup>	1667.24±87.03 <sup>ax</sup>	1670.14±82.84 <sup>az</sup>	1446.12±76.79 <sup>bx</sup>
Flaxseed meal flour	1522.69±77.51 <sup>cx</sup>	1661.66±79.93 <sup>ay</sup>	1688.60±102.16 <sup>ax</sup>	1598.54±57.23 <sup>by</sup>

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>abc</sup> Values with different superscript letters within a row are significantly different at  $P<0.05$

<sup>xyz</sup> Values with different superscript letters within a column are significantly different at  $P<0.05$

Table 4. The change in free and esterified flavonoids of flaxseed products during roasting at 180°C.

Roasting time (min)	Free flavonoids (mg luteolin/100 g defatted sample in DW)			
	0	5	10	15
Whole flaxseed	16.41±0.86 <sup>cy</sup>	73.16±3.91 <sup>ay</sup>	52.28±2.20 <sup>bz</sup>	50.54±2.62 <sup>bz</sup>
Flaxseed flour	16.41±0.86 <sup>cy</sup>	98.29±7.31 <sup>ax</sup>	56.84±2.39 <sup>by</sup>	103.08±6.38 <sup>ax</sup>
Flaxseed meal flour	82.74±4.25 <sup>ax</sup>	70.40±4.23 <sup>by</sup>	59.44±3.14 <sup>cx</sup>	72.61±3.55 <sup>by</sup>
Roasting time (min)	Esterified flavonoids (mg luteolin/100 g defatted sample in DW)			
	0	5	10	15
Whole flaxseed	11.58±0.66 <sup>cy</sup>	16.82±0.28 <sup>bz</sup>	19.12±0.95 <sup>az</sup>	17.80±0.45 <sup>bz</sup>
Flaxseed flour	11.58±0.66 <sup>cy</sup>	26.16±0.69 <sup>by</sup>	30.78±1.83 <sup>ay</sup>	28.64±1.79 <sup>ay</sup>
Flaxseed meal flour	31.47±1.38 <sup>cx</sup>	40.78±2.15 <sup>ax</sup>	37.00±1.10 <sup>bx</sup>	36.82±1.37 <sup>bx</sup>

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>abc</sup> Values with different superscript letters within a row are significantly different at  $P<0.05$

<sup>xyz</sup> Values with different superscript letters within a column are significantly different at  $P<0.05$

esterified phenolics and flavonoids after the roasting process could be explained with breaking of binds in the structure of SDG lignan complex and also other polyphenolic compounds in flaxseed with heat treatment at high temperature as 180°C. Also, the increase in phenolics could be explained with breaking of the interactions between phenolic compounds and cell wall polysaccharides such as cellulose, hemicellulose and pectin because of the high temperature as 180°C during the roasting process. Jannat et al. (8) also reported that total phenolic content of sesame significantly increased during roasting process until 200°C and 20 min. However, De Brito et al. (12) found a 57% decrease of total phenolic content after toasting of cocoa beans at 150°C for 30 min. Cämmerer and Kroh (10) also reported that total polyphenol content of peanut only slightly decreased with heat treatment at 170°C.

## CONCLUSION

Consequently, the roasting process and roasting time had significant ( $P<0.05$ ) effects on the fatty acids, SDG lignan, phenolics and flavonoids of flaxseed products. It was shown that the roasting process did not improve the amount of SDG lignan in flaxseed products compared to phenolics and flavonoids so, all unroasted flaxseed products had the highest content of SDG lignan. Roasted whole flaxseed was the most nutritional flaxseed product because of the highest SDG

lignan and  $\alpha$ -linolenic acid level compared to roasted flaxseed flour and roasted flaxseed meal flour. So, whole flaxseed was suggested to be used as a functional ingredient in the functional foods especially as bakery products and other heat processed food products in the food industry.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The author gratefully acknowledge Aegean Agricultural Research Institute for flaxseed sample and Ege University Center of Drug Research & Development and Pharmacokinetic president and researchers for their technical helpings with HPLC-MS/MS. Also the author would like to thank Bükaş A. Ş. for flaxseed meal by screw press.

## REFERENCES

- Hu C, Yuan YV, Kitts DD. 2007. Antioxidant activities of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside, its aglycone secoisolariciresinol and the mammalian lignans enterodiol and enterolactone in vitro. *Food Chem Toxicol*, 45 (11): 2219-2227.
- Chen JM, Thompson LU. 2003. Lignans and tamoxifen, alone or in combination, reduce human breast cancer cell adhesion, invasion and migration in vitro. *Breast Cancer Res Treat*, 80: 163-170.
- Prasad K. 2005. Hypocholesterolemic and antiatherosclerotic effect of flax lignan complex isolated from flaxseed. *Atherosclerosis*, 179: 269-275.



4. Özkaynak Kanmaz E, Ova G. 2015. Genotypic Variation on Oil Content, Fatty Acid Composition and Phenolic Compounds in Linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Ege Üniv Ziraat Fak Derg*, 52 (3): 249-255.
5. Bloedon LT, Szapary PO. 2004. Flaxseed and Cardiovascular Risk. *Nutr Rev*, 62 (1): 18-27.
6. Choo WS, Birch J, Dufour JP. 2007. Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J Food Compos Anal*, 20: 202-211.
7. Daun J, Barthet V, Chornick T, Duguid S. 2003. Structure, composition and variety development of flaxseed. In *Flaxseed in Human Nutrition*. AOAC Press: Champaign Illinois, 1-140.
8. Jannat B, Oveisi MR, Sadeghi N, Hajimahmoodi M, Behzad M, Choopankari M, Behfar AA. 2010. Effects of roasting temperature and time on healthy nutraceuticals of antioxidants and total phenolic content in Iranian sesame seeds (*sesamum indicum* L.). *IJEHSE*, 7 (1): 97-102.
9. Yoshida H, Hirakawa Y, Tomiyama Y, Nagamizu T, Mizushima Y. 2009. Fatty acid distributions of triacylglycerols and phospholipids in peanut seeds (*Arachis hypogaea* L.) following microwave treatment. *J Food Compos Anal*, 18: 3-14.
10. Cämmerer B, Kroh L, W. 2009. Shelf life of linseeds and peanuts in relation to roasting. *LWT*, 42: 545-549.
11. Yoshida H, Hirakawa Y, Abe S. 2001. Influence of microwave roasting on positional distribution of fatty acids of triacylglycerols and phospholipids in sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.). *Eur J Lipid Sci Technol*, 103: 201-207.
12. De Brito ES, Pezoa Garcia NH, Gallão MI, Cortelazzo AL, Fevereiro PS, Braga MR. 2000. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *J Sci Food Agric*, 81: 281-288.
13. Lee S, Lee J. 2009. Effects of oven-drying, roasting, and explosive puffing process on isoflavone distributions in soybeans. *Food Chem*, 112: 316-320.
14. Wakjira A, Labuschagne MT, Hugo A. 2004. Variability in oil content and fatty acid composition of Ethiopian and introduced cultivars of linseed, *J Sci Food Agric*, 84: 601-607.
15. Epaminondas PS, Araújo KLG, Nascimento JA, Silva MCD, Rosenhaim R, Soledade LEB, Queiroz N, Souza AL, Santos IMG, Souza AG. 2011a. Influence of toasting and the seed variety on the physico-chemical and thermo-oxidative characteristics of the flaxseed oil. *J Therm Anal Calorim*, 106: 545-550.
16. Epaminondas PS, Araújo KLG, Lima de Souza A, Silva MCD, Queiroz N, Souza AL, Soledade LEB, Santos IMG, Souza AG. 2011b. Influence of toasting on the nutritious and thermal properties of flaxseed. *J Therm Anal Calorim*, 106: 551-555.
17. Anon 1998. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists, Washington D. C., USA.
18. Lukaszewicz M, Szopa J, Krasowska A. 2004. Susceptibility of lipids from different flax cultivars to peroxidation and its lowering by added antioxidants. *Food Chem*, 88: 225-231.
19. Özkaynak Kanmaz E, Ova G. 2013. The effective parameters for subcritical water extraction of SDG from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) using accelerated solvent extractor. *Eur Food Res Technol*, 237 (2): 159-166.
20. Özkaynak Kanmaz E. 2014. Subcritical water extraction of phenolic compounds from flaxseed meal sticks using accelerated solvent extractor (ASE). *Eur Food Res Technol*, 238: 85-91.
21. Manthey FA, Schorno AL, Hall CA. 2009. Effect of immature and off-colored seeds on the lipid quality of milled flaxseed. *J Food Lipids*, 16, 407-420.
22. Oomah BD, Sitter L. 2009. Characteristics of flaxseed hull oil. *Food Chem*, 114: 623-628.
23. Schorno AL, Manthey FA, Hall CA. 2010. Effect of particle size and sample size on lipid stability of milled flaxseed (*linum usitatissimum* l.). *J Food Process Preserv*, 34: 167-179.
24. Bozan B, Temelli F. 2008. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol*, 99: 6354-6359.
25. Inglett GE, Rose DJ, Chen D, Stevenson DG, Biswas A. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of extracts from whole buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) with or without microwave irradiation. *Food Chem*, 119: 1216-1219.

26. Oomah BD, Mazza G. 1997. Effect of dehulling on chemical composition and physical properties of flaxseed. *Lebensm-Wiss u-Technol*, 30: 135-140.
27. Shahidi F, Amarowicz R, Abou-Gharbia HA, Shehata A, Adel Y. 1997. Endogenous antioxidants and stability of sesame oil as affected by processing and storage. *J Am Oil Chem Soc*, 74: 143-148.
28. Sainvitu P, Nott K, Richard G, Blecker C, Jérôme C, Wathélet JP, Paquot M, Deleu M. 2012. Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol: a review. *Biotechnol Agron Soc Environ*, 16 (1): 115-124.
29. KoMJ, Cheigh CI, Chung MS. 2014. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). *Food Chem*, 143: 147-155.
30. Johnsson P, Peerlkampa N, Kamal-Eldina A, Andersson RE, Andersson R, Lundgren LN, Åman P. 2002. Polymeric fractions containing phenol glucosides in flaxseed. *Food Chem*, 76: 207-212.
31. Eliasson C, Kamal-Eldin A, Andersson R, Åman P. 2003. High-performance liquid chromatographic analysis of secoisolariciresinol diglucoside and hydroxycinnamic acidglucosides in flaxseed by alkaline extraction. *J Chromatogr A*, 1012: 151-159.
32. Beejmohun V, Fliniaux O, Grand E, Lamblin F, Bensaddek L, Christen P, Kovensky J, Fliniaux MA, Mesnard F. 2007. Microwave-assisted extraction of the main phenolic compounds in flaxseed. *Phytochem Anal*, 18: 275-282.
33. Gil-Chávez G J, Villa J A, Ayala-Zavala J F, Heredia J B, Sepulveda D, Yahia E M, González-Aguilar G A. 2013. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: An overview. *Compr Rev Food Sci Food Safety*, 12 (1): 5-23.

## **SALGINLARA NEDEN OLAN BAZI GASTROENTERİT VİRÜSLERİNİN İRDELENMESİ**

**Işıl Var\*, Çağrı Çelik**

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş / Received: 21.10.2016; Kabul / Accepted: 29.03.2017; Online baskı / Published online: 22.04.2017

Var, I., Çelik, Ç. (2017). Salgınlara neden olan bazı gastroenterit virüslerinin irdelenmesi. *GIDA* (2017) 42 (4): 392-404 doi: 10.15237/gida.GD16096

### **Öz**

Virüsler, dünya genelinde gıda kaynaklı mikrobiyolojik hastalıkların %67'sine neden olmaktadır. Gıda kaynaklı bu virüsler son on yılda gıda arzının küreselleşmesi ile birlikte daha kolay bir şekilde tüm yeryüzüne yayılmaktadır. Günümüzde özellikle 0-5 yaş çocuklarda, yaşlılarda ve hastalarda ölümlere sebep olabilen gıda kaynaklı virüslerin neden olduğu gastroenterit rahatsızlıklarının nedeni olarak son yıllarda Norovirüsler, Rotavirüsler, Adenovirüsler ve Astrovirüsler gelmektedir. Artan vaka sayıları ve meydana gelen salgınlardan dolayı alınan önlemlerin daha sağlıklı olabilmesi için bu virüslerin gıdalara ve gıda ile temas eden insanlara bulaşma yollarının irdelenmesi zorunluluk haline gelmiştir. Virüslerin bulaşma yollarına bakıldığında ise hasta insanlarla direk yolla, fekal-oral iletimi (kontamine yiyecek ve su yoluyla), öksürük damlacıkları ve hava yolu ile taşınması ile indirekt yolla bulunmaktadır. Bu derlemede, Norovirüsler, Rotavirüsler, Adenovirüsler, Astrovirüsler ve onların kontaminasyon yolu tartışılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Norovirüs, Rotavirüs, Adenovirüs, Astrovirüs

## **REVIEW OF SOME GASTROENTERITIS VIRUSES CAUSING OUTBREAKS**

### **Abstract**

Viruses cause more than 67% of all food-borne microbiological disorders worldwide. Food-borne viruses have spread among all over the earth more easily in the last decade with the globalization of food supply. Nowadays, Food-borne viruses are responsible from gastroenteritis disorders that causing deaths especially for 0-5 aged children, elderly and patients people. These viruses primarily are Noroviruses, Rotaviruses, Adenoviruses and Astroviruses. Viral transmission routes are diverse, and include direct contact with infected persons, indirect contact with contaminated surfaces, fecal-oral transmission (through contaminated food and water), droplet and airborne transmission. In this review, Gastroenteritis viruses such as Norovirus, Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus and their also contamination route are discussed.

**Keywords:** Norovirus, Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ivar@cu.edu.tr, ☎ (+90) 544 827 4245, 📠 (+90) 322 338 6614

## GİRİŞ

Dünya genelinde meydana gelen gıda kaynaklı rahatsızlıkların %67'si virüsler ile ilişkilendirilmektedir (1). Son on yılda gıda arzının küreselleşmesi ile gıda kaynaklı rahatsızlıkların hızlı bir şekilde uluslararası sınırları aşıp yayılmasına neden olmuştur (2). Gıda kaynaklı virüs salgınlarından sorumlu virüsler olarak son yıllara kadar Hepatit A ve çocuk felci (poliomyelit) bilinirken günümüzde Norovirüs, Rotavirüs, Adenovirüs, Astrovirüslerin rolleri de tartışılmaya başlanmıştır (3-5). Bu derlemede daha çok Norovirüs ve Rotavirüs değerlendirilirken, Adenovirüs ve Astrovirüslerin de gıda dâhil bulaşma yollarının ve halk sağlığı açısından önemi irdelenmeye çalışılmıştır.

## NOROVİRÜSLER

İnsanlarda gastroenterit etkeni olan önemli virüsler arasında Norovirüsler (NoV) dünya genelinde her yaş grubundaki bireyler açısından akut gastroenteritlerin birçoğunun nedeni olarak bildirilmektedir (6). NoV'lerin, virüs kaynaklı olan bağırsak enfeksiyonlarında en az %90'ında etkili olduğu bilinmektedir (1). Hollanda'da 1994-2005 yılları arasında 941 gastroenterit vakasının %78'inin NoV enfeksiyonlarından ileri geldiği rapor edilmiştir (7). Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada ise 2006 verilerine göre yılda 5.5 milyon insanın gıda kaynaklı NoV'den dolayı enfekte olduğu belirtilmiştir (8). Ayrıca bir çok rapor edilmemiş Norovirüs enfeksiyon vakalarının bu oranları arttırabileceği düşünülmektedir (1).

Ülkemizde 2008 yılına kadar Norovirüs salgınları konusunda bir çalışmaya rastlanmamaktadır (9). Mayıs 2008 yılında ise Aksaray, Şereflikoçhisar, Kırşehir ve Adana şehirlerinde ishal, bulantı ve kusma görülen salgınlar rapor edilmiştir. Bölgesel laboratuvarlarda yapılan incelemelerde bilinen bakteriyel (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., enterotoksijenik *Escherichia coli*), viral (Rotavirus, Adenovirüs) ve paraziter etkenler saptanamamıştır. Bu merkezlerden toplam 50 dışkı örneği uygun koşullarda ve soğuk zincir kurallarına uyularak NoV açısından değerlendirilmek üzere Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarına gönderilmiştir. NoV laboratuvar tanısı ile dışkı örneklerinin %26 (13/50)'sında antijen, %33 (13/40)'ünde ise nükleik

asit pozitifliği saptanmıştır. Örneklerdeki antijen ve nükleik asit pozitiflik oranı sırasıyla; Aksaray'da %57 (4/7) ve %71 (5/7), Şereflikoçhisar'da %25 (1/4) ve %25 (1/4), Kırşehir'de %28 (7/25) ve %40 (6/15), Adana'da %7 (1/14) ve %7 (1/14) olarak belirlenmiştir (10).

Konya bölgesinde Ağustos 2011-Şubat 2012 tarihleri arasında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli poliklinik, klinik ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen 300 sulu gaita örneği incelemeye alınmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda 300 gaita örneğinin %11.7'sinde NoV tespit edilmiştir (5).

NoV ilk olarak 1929 yılında Dr. J Zahorsky tarafından "Kış Kusma Hastalığı" ismi verilerek tanımlanmıştır (11). Daha sonra ABD'nin Ohio eyaletinin Norway şehrinde 1972 yılında meydana gelen salgında rastlanılmış ve bu salgın ile ilgili araştırma yapan Kapikan ve arkadaşları bu virüse Norway virüsleri demişlerdir (12).

İlk olarak tespit edilip günümüze gelene kadar Norovirüsler'in Norway virüsler, Norwalk virüsler, kış kusma hastalığı, kış kusma mikrobu, mide gripi gibi çeşitli isimler aldığı görülmektedir (13). Bu virüsün adlandırılmasında, son olarak 9. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesinin raporuna göre Norovirüs ismi yanında Norway isminin de kullanılması uygun görülmüştür (14).

Bir çok isme sahip NoV'ler 27-35 nm büyüklüğünde, ikozahedral yapıda bir kapside sahiptir. Elektron mikroskopundaki görüntüsü yuvarlak olup, yüzeyinde 32 adet kupa şeklinde çentik görüntülenmektedir. Virüsün genomu olan RNA, pozitif polariteli olup, tek zincirli ve 7400-7700 nükleotitten oluşmaktadır (9). Caliciviridae familyasında yer almakta olan Norovirüs genusunun tiplendirilmesinde kültür ve serolojik yöntemler başarısız olmuş ancak ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), RNA polimeraz, kapsid proteini ve genomik sekans analizi gibi moleküler teknikler kullanılarak Norovirüs genusu 5 genogrup içinde yer alan 32 genotip olarak tiplendirilmiştir (15). Bu 5 genogrup içinde GIII sığırlarda, GV ise farelerde bulunmaktadır (16). GI, GII ve GIV'in ise insanlarda görülen salgınlara neden olduğu belirtilmektedir (17).

İnsanlarda görülen Norovirüsler'den GI genogrup en az 8 alt genotipe ayrılırken GII genogrubu ise 17 genotipe ayrılmıştır. Bu iki önemli gruptan GII

dünya genelinde en yaygın olanıdır (18). 2001 ve 2002 yılları arasındaki Finlandiya'daki 128 Norovirüs rahatsızlığının verileri incelediğinde %86'sının GII genogrupta olduğu diğer kısımların GI genogrupta olduğu görülmüştür (19). Bunun yanında GII Norovirüslerinin GII-4 genotipinin araştırılan birçok salgında Norovirüs kaynaklı bağırsak enfeksiyonlarında baskın tür olduğu görülmüştür (20).

GII-4 genotipinin etkili olduğu 1995 ve 2006 yılları arasında dört salgın tanımlanmıştır. İlk tür 1990'larda ortaya çıkmıştır. Bu zaman süresince, bu tür US95/96 Amerika Birleşik Devletlerindeki %55 Norovirüs salgınından ve Hollanda'daki %85 Norovirüs salgınından sorumlu olduğu gözlenmiştir (21). US95/96 türü yerini 2002 yılında GII.4- 2002 Farmington Hills genotipine bırakmıştır. Daha sonra sırasıyla 2004 yılında Hunter genotipi, 2006 yılında GII.4-2006 Minerva genotipi etkili olmuştur. GII.4-2006 Minerva genotipi 2009 yılına kadar etkili olurken, bu tarihten sonra zamanla GII.4-2009 New Orleans genotipi rapor edilmeye başlanmıştır. Mart 2012 yılında yeni genotipe GII.4-2012 Sydney ismi verilmiş ve bu genotipin Kasım 2012'de GII.4-2009 genotipinin yerine birçok ülkede salgına neden olduğu gözlenmiştir (22).

Bu salgınlar hakkında yapılan çalışmalara bakıldığında NoV'in bulaşma kaynakları hakkında yorum yapılabilmektedir. Örneğin US95/96 genotipine kış aylarında en çok sırasıyla hastanelerde, okullarda, üniversitelerde ve yolcu gemilerinde rastlandığı ve bu rahatsızlıkların gıdalardan ve insandan insana havadan bulaştığı öngörülmüştür (23).

NoV'in hava ile bulaşma ihtimalini ele alan bir çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde bir otelde meydana gelen Norovirüs GII salgınında 7 Aralık 1998 akşamı düzenlenen bir partide otelin yemek odasında rahatsızlanarak parke zemine kusan bir davetlinin o yemek odasına giren diğer 126 kişinin 52'sinin ve yemek odasının temizliğinden sorumlu görevlinin aynı şikâyetlerle rahatsızlandığı ve incelemeler sonucunda Norovirüs salgının olduğu tespit edilmiştir. Salgının kaynağı incelendiğinde mutfak temiz olması, mutfak çalışanlardan hiç birinde Norovirüs salgının belirtilerinin görülmemesi ve 12 yemek odası servis görevlisinden sadece temizlikle ilgilenen çalışmada belirtilerin görülmesi bulaşmanın hava kaynaklı olma ihtimalini akla getirmiştir. Yapılan çalışma sonucu Norovirüs

semptomları görülen davetli ile aynı masadaki insanların %90'ında salgının semptomlarının görülmesi NoV'in hava kaynaklı da bulaşabileceği ihtimalini düşündürmüştür (24).

Bu düşünceyi destekleyen bir başka çalışmada ise Quebec şehrindeki 2012 yılında Norovirüs GII salgının görüldüğü tarihlerdeki 8 hastanede alınan 48 hasta odasının hava örneklerinin 14'ünde Norovirüs tespit edilmiş ve bu sonuçla hasta odasına giren sağlıklı bireylerin de enfeksiyona yakalanma riskinin bulunduğu vurgulanmıştır (25).

GII.4- 2002 Farmington Hills genotipi ilk kez Norovirüs salgınlarının görüldüğü yolcu gemilerinin bir kısmında farklı bir Norovirüs tespit edilmesi ile gözlenmiş ve yapılan araştırmalar sonucunda bu yeni genotipe Farmington Hills ismi verilmiştir. Salgın hakkında yapılan araştırmalarda yolcu gemilerinin 2 tanesinin aynı şirketin ve aynı bölgeye giden yolcu gemileri olduğu ve aralarındaki tek farkın kullanılan suyun olduğu tespit edilmiştir. Bu gemilerden birinin denizden aldığı tuzlu suyu gemide buharlaştırarak kullandığı diğerinin ise belediye şebeke suyunu depoladığı gözlenmiştir. İki yolcu gemisinde de GII.4- 2002 Farmington Hills genotipi tespit edilmiş fakat yolcularda görülme oranının farklı olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında her ne kadar personel yolculara göre fazla etkilenmemiş olsa da virüsün personelin kötü hijyen koşullarından dolayı yolculara özel olarak hazırlanan gıdalar yoluyla bulaştırdığı ihtimali göz önüne alınmıştır. Ayrıca salgının bazı aylarda hem gemilerde hem de bazı şehirlerde meydana geldiği yapılan araştırmada tespit edilmiş ve gemilerden şehirlere yayılan bir salgın ihtimalini düşündürmüştür. Şehirlerde yapılan analizler sonucu salgının bazı şehirlerde gıda kaynaklı olduğu görülmüştür (26).

Norovirüs GII.4 Hunter genotipinin 2004 yılında meydana gelen Norovirüs salgının bulaşma yolları hakkında yorum yapılamamış ama salgının ilk ortaya çıktığı yerin Avustralya'nın Yeni Güney Galler eyaleti olduğu belirtilmiştir. Bu salgının Yeni Güney Galler eyaletinden birer ay ara ile sırasıyla Hollanda, Tayvan ve Japonya'da görüldüğü bildirilmiştir (27).

GII.4-2006 Minerva genotipi ise ilk olarak San Francisco'dan yolculuğa başlayan Minerva II seyahat gemisinde görülmüştür ve federal bilim adamlarının yaptıkları araştırmalar sonucu salgının Norovirüs'ün o zamana kadar tanımlanan türleri

dışında kalan bir türünün etkili olduğu anlaşılmıştır (28). Birçok yerde salgına neden olan Norovirüs'ün bu genotipine Amerika'da Minerva denirken, Japonya'da Kobe034, İngiltere'de v6, Avustralya'da 2006b Norovirüs ismi verilmiştir. Bu salgında bulaşı kaynakları tam açıklanamayarak yetersiz hijyen koşullarına bağlanmıştır (29).

Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin geliştirdiği CaliciNet sistemi ile araştırılan Amerika Birleşik Devletleri'nin bazı eyaletlerindeki Norovirüs salgınlarının yeni bir genotip olan GII.4-2009 New Orleans olduğu belirtilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda bu salgının %14'ünün gıda kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (30).

NoV'in gıda kaynaklı olabileceğini vurgulayan bir çalışmada, Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi Gıda Kaynaklı Hastalıkların Gözlenmesi Sistemi'nin raporunda belirtilmiş ve 2001-2008 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık yaklaşık 364 gıda kaynaklı Norovirüs salgının incelendiği çalışmalarda incelenen enfekte gıdaların %33'ünün yapraklı sebzeler (marul, ıspanak vb.), %16'sının meyveler ve %13'ünün yumuşakçalar olduğu belirtilmiştir (31).

Bu salgının bir benzeri ülkemizde de görülmüştür. Adana İncirlik Amerikan Askeri Üssünde 2009 yılında 82 Norovirüs tespit edilen hastanın semptomlarının başlamasından 7 gün öncesi süresince yediklerinin incelenmesi ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda %56'sının sebze, meyve, et ve süt temelli beslendiği gözlenmiştir. Bu gözlemden elde edilen veriler salgının kaynağı hakkında gerekli bilgiyi sağlayamadığı sonucuna varılmış ve başka çalışmalar ile gıdaların araştırılması gerekliliği vurgulanmıştır (32).

Kanada'nın Quebec şehrinde 2009 yılında yapılan bir çalışmada damla hattında yağmurlama ile Chicot Nehir'inden alınan su ile sulamadan sonra çileklerde gözlenen NoV incelenmiştir. Sulama öncesi genel olarak NoV gözlenmezken sulama sonrası NoV varlığı tespit edilmiştir. Araştırmada çilek örneklerinde NoV tespiti bu virüsün gıda kökenli olarak salgınlara neden olabileceğini akla getirirken, kullanılan sulama suyu örneklerinde NoV tespit edilememesi araştırmaların daha kapsamlı yapılmasını ön görmüştür (4).

NoV'in gıda kaynaklı olduğuyla ilgili bir başka bildirimde Trabzon İlinin Sürmene İlçesinde meydana gelen Temmuz 2010'daki Norovirüs salgınında yapılan incelemelerde akut gastroenterit

vakaları ilk olarak 09 Temmuz tarihinde ortaya çıkmaya başlamış ve ilk gün 271 olan vaka sayısı ikinci gün 880'e ulaşmıştır. Alınan önlemler sonucu ikinci günden sonra vaka sayısı düşmeye başlamış buna rağmen salgın 10. gün itibarıyla az sayıda vaka ile devam etmiş ve ancak 28 Temmuz itibarıyla beklenen seviyeye inmiştir. Salgın süresince 2483 akut gastroenterit vaka başvurusu olmuştur. Salgına neden olarak; daha önce uygun düzeylerde seyreden klor düzeyinin tank boşalması sonucu bir süre sistemde düşük düzeyde kalması ve aynı dönemde bir aydır kullanımda olmayan bir kuyu pompasının tamirinin bitirilip sistemden yeterince su akıtılmadan devreye sokulması sürecinin süperpoze olması ile sistemin ana depoda kirlenmesi olarak tespit edilmiştir (33).

Almanya'da yaşanan salgında ise Eylül-Ekim 2012 süresince 11000 kişi gastroenterit rahatsızlıklar yaşamış ve araştırmalar sonucunda dondurulmuş çileklerden NoV'in salgına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu salgın hakkında yapılan bir çalışmada Çin'den Almanya'ya ihraç edilen dondurulmuş çilek kutularından üst, orta ve alttan olmak üzere 1 kg'lık örnekler alınmış ve bu örnekler NoV bakımından incelenmiştir. İnceleme sonucunda Norovirüs varlığına bakılmış ve GII NoV'e tüm örneklerde rastlanıldığı bildirilmiştir(34).

Almanya Brandenburg kentinde 2012 yılında başlayan NoV salgını araştırıldığında salgından şüphe edilen bir yemek şirketinin 5 komşu eyalete hizmet verdiği ve bu eyaletlerde meydana gelen salgın incelendiğinde 390 vakada %63'ün okullarda ve %36'sının çocuk bakım evlerinde meydana geldiği de gözlenmiştir. Aynı çalışmada Saksonya'da bulunan bir okulda meydana gelen salgında rahatsızlanan 36 kişinin 26'sının irmik pudingi ve çilek kompostosu yediklerini bildirmişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda salgında ortak tüketilen gıdanın çilek olduğu gözlenmiş ve daha kapsamlı araştırmaların yapılmasını ön görmüşlerdir (35).

Yine Amerika Birleşik Devletleri'nde bir derginin haberine göre 2016 yılında bir Meksika yemekleri fast-food zincirinde zehirlenme vakaları meydana gelmiş ve bu vakaların nedeninin NoV olduğunu firma yetkilileri teyit etmiştir (36).

Avrupa'da meydana gelen gıda kaynaklı Norovirüs salgınlarının rapor edildiği Avrupa Birliği'nin bir projesi olan Gıda ve Yem İçin Hızlı Alarm Sistemi incelendiğinde Ocak-Eylül 2016 yılları arasında

18 salgının rapor edildiği ve birçok salgının dondurulmuş meyvelerden, sebzelere ve deniz ürünlerinden meydana geldiği belirtilmiştir (37).

GII.4-2012 Sydney Norovirüsü'nün ise ilk önce Avustralya'da ve daha sonra aynı yıl içinde Fransa, Yeni Zelanda ve Japonya'da salgınlara yol açtığı görülmüştür(38). Rio'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada da bu virüse rastlanılmıştır (39). Virüsün bu kadar çabuk yayılması hijyen koşullarının yeterli olmamasına bağlanmıştır (38). Sadece yetersiz hijyen koşulları değil ayrıca ısıtma işlemi görmemiş gıdaların ve içilen yer altı kaynak sularının bile bu virüs tehlikesi ile karşı karşıya kaldığı bildirilmiştir (40).

Güney Kore'de 2010 yılında 8 ilden toplanan 1090 su örneğinin 7'si gibi az bir oranda NoV'in tespit edilmiş olmasına rağmen tespit edilen yerlerin okullar olması ve birçoğunda suyun temizlik yanında gıdaların hazırlanmasında ve içme suyu olarak da kullanılması muhtemel NoV salgınlarının meydana gelmesine neden olacağını düşündürmüştür (41).

Su kaynaklarının bu virüs açısından tehlikeli olduğu ülkemizde 2016 Ağustos ayında Maraş'ın Elbistan ilçesinde meydana gelen toplu zehirlenme haberinde de görülmektedir. Bu habere göre ilçede yaşayan 45 bin kişinin baş dönmesi, kusma ve yüksek ateş şikâyetleri ile hastaneye geldiği ve yapılan incelemeler sonucunda ilçede NoV'den dolayı bir salgının meydana geldiği tespit edilmiştir. Salgının nedeni olarak içme sularına karışan kuyu suyu olduğu belirtilmiştir (42).

Norovirüslere karşı gıda ve gıda ile temas eden yüzeyler için kullanılan dezenfektanlar hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır. Norovirüslerin tespiti, tanımlanması, çevre ve gıda örneklerinden geri kazanımı gibi zorluklar nedeniyle kimyasal dezenfektanların NoV'e karşı etkisine yönelik çalışmaları sınırlandırmaktadır. Patojen ve virüs kaynaklı salgınların bulaşmasının engellenmesinde ve yayılmasının kontrol altına alınmasında kullanılan dezenfektanlar önemli bir yere sahiptir. Genel olarak kimyasal dezenfektanlardan kuarter amonyum bileşikleri, hidrojen peroksit, iyot, sodyum hipoklorit ve klor gibi maddeler ucuz, elverişli, emniyetli, biyosit etkisi içermeleri ve üst düzey etkileri nedeniyle bakteri ve virüslerin dezenfeksiyonunda etkin olarak kullanılmaktadır (43).

Dezenfektanların Norovirüslere etkisini araştıran bir çalışma da 2012 yılında gerçekleştirilmiş ve gıda sektöründe çok kullanılan klorun, gıda ile temas eden yüzeylerde kullanılan miktarı 200 mg/kg ve deneme olarak 1000 mg/kg oranlarının paslanmaz çelik yüzeyindeki Norovirüsleri inaktive etkisi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda klorun çalışmada kullanılan her iki oranında da Norovirüsler'e etkisinin  $< 1 \log$  olduğu gözlemlenmiştir (44).

Dezenfektanların Norovirüslere etkisini araştıran Ha ve arkadaşlarının 2016 yılında Kore'de yaptıkları çalışmada Norovirüs GII.4 virüsü RNA'sına karşı bazı dezenfektanların antimikrobiyel etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada piyasada kullanılan kuarterner amonyum bileşikleri, hidrojen peroksit, iyot ve sodyum hipoklorit dezenfektanlarının farklı oranları alınarak Norovirüs GII.4 virüsünü inhibe etme miktarları değerlendirilmiş ve  $< \log 1$  genomik kopye/µl değerlendirilmemiştir. Çalışmada dezenfektan olarak kuarter amonyum bileşiklerinin 200, 1000, 2000 mg/kg oranları, iyot dezenfektanının 25, 100, 250, 500 mg/kg oranları, hidrojen peroksit dezenfektanının 100, 500, 1000, 2000 mg/kg oranları, sodyum hipoklorit dezenfektanının 50, 100, 200, 500, 1000 mg/kg oranları kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda kuarterner amonyum bileşikleri, hidrojen peroksit, iyot dezenfektanlarının bütün oranlarının  $< \log 1$  genomik kopye/µl Norovirüs'ü inhibe etmelerinden dolayı değerlendirilmeye alınmazken, sodyum hipokloritin 200 mg/kg oranında  $\log 101.55$ , 500 mg/kg oranında  $\log 1.85$ , 1000 mg/kg oranında  $\log 2.45$  miktarında inhibe ettiği görülmüştür. Sodyum hipoklorit dezenfektanının 50 ve 100 mg/kg oranları ise yine  $< \log 1$  genomik kopye/µl Norovirüs'ü inhibe etmiştir. Yapılan çalışmada Norovirüsleri inaktive edecek uygun bileşimde dezenfektanların bulunması ve geliştirilmesi ile ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bilgisinin ortaya konulduğu belirtilmiştir (43).

### ROTAVİRÜSLER

NoV'in yanı sıra akut ishal salgınlarında dünya genelinde etkili olan bir başka virüs ise Rotavirüslerdir (45). Ülkemizde Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı (RSHMB), Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü (SHAM), Viroloji

Referans ve Araştırma Laboratuvarı'nda 2009 yılında yapılan bir çalışmada 11 ilden alınan 147 gaita örneği incelenmiş ve %16'lık oran ile Rotavirüs enfeksiyonlarının Norovirüs enfeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta görüldüğü belirtilmiştir (46).

Birçok salgında etkili olan Rotavirüsler özellikle yeni doğanlarda ve 5 yaş altı çocuklarda görülmektedir. Dünya sağlık örgütünün 2013 verilerine göre her yıl 215000 çocuk Rotavirüsten dolayı yaşamını yitirmektedir (47). Yetişkinlerde ise Sağlık Bakanlığının bildirisine göre ateş, kusma ve ağır ishal olarak seyreden rahatsızlıkların 1-3 gün içerisinde ortaya çıkabileceğini vurgulamaktadır (48). Son yıllarda alınan önlemlerden dolayı Rotavirüs kaynaklı ölüm oranları azalmaktadır. Fakat hijyen ve sanitasyona önem verilmeyen yerlerde kontamine olmuş gıdalar ve insandan insana bulaşarak rahatsızlıklara sebep olmaktadır (49).

Rotavirüslerin verdiği bu rahatsızlıklara ülkemizde de rastlanmaktadır. Kayseri'de Ocak 2009-Ocak 2011 tarihleri arasında 3445 hastanın gaita örneklerinde yapılan araştırma sonucu %27.8 hastada Rotavirüse rastlanmıştır (50). Konya'da yapılan bir başka çalışmada Kasım 2011-Aralık 2012 tarihleri arasında incelenen 96 gaita örneğinin Rotavirüs ile enfekte oranının %39.6 olduğu gözlenmiştir (51).

Rotavirüslerin ilk olarak gözlenmesi çeşitli hayvanlarda olmasına rağmen ilk olarak insanlarda görülüp tanımlanması 1972 yılında Avustralya'nın Melbourne şehrindeki Kraliyet Çocuk Hastanesi'nde meydana gelen salgında olmuştur. Bu salgın ile ilgili yapılan araştırmalar sonucunda 70 nm boyutunda virüsler tespit edilmiş ve reovirus benzeri, orbivirus benzeri, duovirus, infantil gastroenterit virüsü ya da yeni virüs gibi isimlerin verildiği yeni bir virüs türü tanımlanmıştır (52). Daha sonra bu virüse Thomas Henry Flewett 1974 yılında tekerleğe benzemesinden dolayı "Rotavirus" ismini teklif etmiş ve bu isim Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından resmen kabul edilmiştir (53).

Rotavirüsün çeşitliliği, genom segmentlerini değiştirebilme, farklı antijenik yapıları kodlayabilme özelliği ve tanı teknolojilerinin değişmesi nedeniyle seroloji ve sınıflama sistemlerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (54). Bu yüzden Rotavirüsler genel olarak A harfinden G harfine kadar 7 gruba ayrılmıştır (55). Rotavirüslerin A, B, C, D ve E grupları sadece hayvanları enfekte ederken A, B, C grupları insanları da enfekte etmektedir. Fakat

insanlarda meydana gelen salgınlara en çok Grup A Rotavirüsleri etkili olmaktadır (56). Bu virüs türünün de G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] ve G9P[8] genotipleri birçok ülkede salgınlara neden olmaktadır (55).

Amerika Birleşik Devletleri'nin Hastalık Kontrol ve Engelleme Merkezi'nin 2000 yılında yaptığı araştırmada ise Kolombiya Bölgesi'nde bir kampusta 29 öğrencinin yediği tuna balıklı ve/veya tavuklu sandviçlerin neden olduğu gıda zehirlenmesi incelenmiş ve hasta çocukların gaita tahlillerinde Norovirüs ve bakterilere rastlanmamış fakat hasta çocukların %33'ünde Rotavirüs Grup A tespit edilmiştir (57).

Rotavirüslerin neden olduğu salgınlardan biri Suudi Arabistan'ın El Kasım bölgesindeki 2004-2005 yılları arasında çocuklarda görülen zehirlenme sonucu belirlenmiştir. Salgının görüldüğü bölge hastanesinde 284 çocuk hastanın %66'sının gaita örneklerinde Rotavirüs Grup A tespit edilmiştir. Salgının kaynağına yönelik bir araştırılma yapılmamasına rağmen gıda kaynaklı olabileceği belirtilmiştir (58).

Bir başka çalışmada ise 2008-2009 yılları arasında gıda olarak tüketilen midyeler üzerine yapılmıştır. Tayland'da Surat Thani şehrinde bulunan midye çiftliğinden alınan 110 örnek ile yapılan bu çalışmada 4 örnekte Rotavirüs Grup A gözlenmiştir. Bunun yanında aynı çalışmada sulama suları da araştırılmış ve 2006-2007 yılları arasında yine Tayland'da bulunan Lop Buri nehrinden 114 farklı zamanlarda alınan su örneğinin 21'inde Rotavirüs Grup A gözlenmiştir (45).

Japonya'nın Tochigi şehrinde 2012 yılında 6 lise öğrencisi bir et dükkânında 4'ünün kızarmış tavuk, lahana ve 2'sinin domuz pizola, lahana yediği ve daha sonra 2-4 gün sonra gıda zehirlenmesi şikâyetinde buldukları bir vaka hakkında yapılan bir çalışma sonucu seçilen 4 hastada ve 2 et dükkânı personeline de Rotavirüsler gözlenmiştir. Hastaların yedikleri gıdalar incelendiğinde ise ortak olanın çiğ lahana olduğu sonucu çıkmıştır (55).

Rotavirüs salgınlarının gıda kaynaklı olduğunu düşündüren bir salgında 2015 yılında Chicago'da bir otelde düzenlenen tıp öğrencilerine verilen akşam yemeğinde ortaya çıkmıştır. Yemeğe katılan 334 katılımcının 136'sının salgın belirtilerinin olup olmadığının araştırıldığı ankette %43'ünde Rotavirüs'ün yarattığı semptomların gözlemlendiği belirtilmiştir. Gıdaların analizi yapılamasa da semptomların gözlemlendiği 5 öğrencinin 4'ünde gaita tahlillerinde Rotavirüs tespit edilmiştir. Araştırmalar



sonucu kontamine gıdalardan bulaştığı düşünülen ve bir salgına dönüşen Rotavirüs'ü engellemek için gerekli hijyen önlemlerinin alınması gerektiği vurgulanmıştır (59).

Bu örneklerden de görüldüğü gibi birçok ülkede görülen Rotovirüs salgınlığının gıda kökenli zehirlenmelere neden olduğu bilinmektedir (60). Fakat bunun yanında kötü hijyen koşullarında gıda sektöründe çalışan personellerden fekal-oral yollar ile insandan insana bulaşabileceği de belirtilmektedir (61). Buna ek olarak Rotavirüslerin hava yolu ile bulaşabileceği şüphesi tartışılmaktadır (61). Hayvanlar üzerinde yapılan bir kaç çalışma Rotavirüslerin düşük sıcaklık, yüksek veya düşük nemde hava kaynaklı salgınlara neden olabileceğini belirtmektedir (62).

Rotavirüslerin dezenfektanlar ile ilişkisine bakıldığında ise 2013 yılında yapılan bir çalışma ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada Amerika Tür Kültürü Koleksiyonu'ndan elde edilen Rotavirüsler RNA ekstraksiyonu ile RNA'larının çeşitli oranlarda klor ve klorin dioksit alınarak Rotavirüs RNA'larında meydana gelen inhibisyonlar gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda 3.5x10<sup>5</sup> DKID50/mL (Doku Kültürü İnfektif Doz 50: Enfekte edilen doku kültürlerinin yarısında enfeksiyon oluşturan virus dozu) Rotavirüs örneğini 0.6 mg/L klorun 30 saniyelik etkisinden sonra 0.85 Log DKID50/mL inaktive olurken, 1.2 mg/L klorun 60 dakikalık etkisi tüm Rotavirüsleri inhibe etmiştir. Klorin dioksit ise 3.5x10<sup>5</sup> DKID50/mL Rotavirüs örneğini 0.2 mg/L 30 saniyelik etkisinden sonra 2.53 Log DKID50/mL inaktive ederken, 0.5 mg/L klorun 60 dakikalık etkisi tüm Rotavirüsleri inhibe etmiştir. Bu çalışma klor dioksitin Rotavirüsleri'e karşı klordan daha etkili olduğunu göstermektedir fakat klor dioksitin antimikrobiyel etkisinin gerçek etkinliğinin aktif çevre koşullarında da gözlenmesi gerektiğine dikkat çekmiştir (63).

### ADENOVİRÜSLER VE ASTROVİRÜSLER

Virüslerin neden olduğu gastroenterit rahatsızlıklar arasında en sık rastlanılan Norovirüsler ve Rotavirüslerin ardından Adenovirüsler gelmektedir (64). Adenovirüsler ilk kez 1953 yılında insan adenoid dokusundan izole edilmiş ve ilk kaynağını belirtmek üzere bu adı almıştır. Daha sonra 1999 yılında Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi tarafından Adenovirüsler tür ve serotiplerine ayrılmıştır. Buna göre, yaklaşık 19 insan Adenovirüs

türünden 7'sinin insanları daha sık enfekte etmekte olduğu görülmüş ve bu türler A'dan G'ye kadar belirlenmiştir (65).

Ülkemizde ve dünyada meydana gelen salgınlara hakkında yapılan birçok çalışmada Adenovirüslere rastlanılmaktadır. Adenovirüs hakkında yapılan çalışmaların birinde İran'ın Şiraz kentindeki Dastgheib Hastanesi'nde 2008-2011 yılları arasında gerçekleşen 827 gastroenterit rahatsızlığının 76'sında Adenovirüs saptanmıştır (66).

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Acil Servisi'ne, 01.01.2009-30.12.2009 tarihleri arasında akut gastroenterit nedeniyle başvuran 0-5 yaş arası çocuktan alınan 180 gaita örneği Adenovirüs açısından değerlendirildiğinde 30 hastanın örneklerinde Adenovirüs'e rastlanmıştır (67).

Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Eylül 2010 ve Eylül 2011 tarihleri arasında 0-5 yaş arası çocuk akut gastroenterit ön tanılı 340 hastadan alınan dışkı örneklerinin 28'inde Adenovirüs saptanmıştır (68).

Bir başka çalışma Iğdır devlet hastanesinde yapılmış ve çalışmada 2011 yılında hastaneye gelen 1154 gastroenterit hastasının 327'sinin viral kökenli olduğu ve bu viral kökenlilerin de %26.2'sinin Adenovirüs kaynaklı olduğu belirtilmektedir. Bu Adenovirüs kaynaklı rahatsızlıkların %16.2'sinin de 0-2 yaş arasında olduğu belirtilmektedir. Virüsün yayılma sebebinin yetersiz hijyen koşulları ve el temizliğine dikkat edilmediği olduğu tespit edilmiştir (69).

Brezilya'nın Rio de Janeiro kentinde 2013 yılında ateş ve/veya kusma şikâyeti olan değişik yaş grubundaki 9 hastadan alınan gaita örneklerinin 5'inde yine Adenovirüsler tespit edilmiş ve bu 5 hastanın 6-30 aylık bebekler olduğu gözlenmiştir (70).

Gastroenterit salgınlara neden olan Adenovirüs türlerine bakıldığında Grup F'ye dâhil olan serotip 40 ve 41'in solunum, göz ve genitoüriner sistem enfeksiyonlarının yanında 0-2 yaş grubu çocuklarda akut ve özellikle uzamış ishal nedeni olduğu görülmektedir (65, 71). Özellikle meydana gelen salgınlarda Adenovirüs serotip 40 ve 41'in ön plana çıktığı görülmektedir (64). Dünya genelinde bebek ve çocuklarda görülen akut gastroenterit vakasının %5-20'sinin Adenovirüs serotip 40/41'den kaynaklandığı bildirilmektedir (72).

Adenovirüsler öncelikli olarak insandan insana solunum yolu ile bulaşan ama bunun yanında

fekal-oral yollarla kontamine olmuş gıda ve suların tüketimi ile de sorun yaratan virüsler olarak bilinmektedir (73).

Yunanistan'ın Patras kentindeki bir hastanede 2015 yılında yapılan bir çalışmada çocuklarda meydana gelen gastroenterit salgınını araştırmak için 7 gaita örneği Adenovirüs serotip 40/41 virüsü bakımından değerlendirilmiştir. Değerlendirilme sonucunda tüm örneklerde Adenovirüs serotip 40/41 izole edilmiştir. Aynı çalışmada Yunanistan'ın 28 Patras Belediyesi Atıksu İşleme Tesisi'nin 2010-2012 yılları arası periyotta alınan ilk tesise gelen atık su örnekleri incelenmiş ve 15'inde Adenovirüs serotip 41 pozitif sonuç vermiştir. Yapılan çalışma sonucunda fekal-oral bulaşının salgına neden olduğu belirtilmiştir (74).

Yunanistan'ın Patras kentinde 2015 yılında yapılan çalışmada ise yerel bir süper marketten buzdolabı koşullarında saklanan marul, yeşil soğan, cherry domates, çilek ve vişne örnekleri Adenovirüs 40/41 bakımından incelemeye alınmıştır. İnceleme sonucunda çilek ve vişne örnekleri dışında diğer çalışılan örneklerde Adenovirüs 40/41 virüsleri tespit edilmiştir. Bu virüslerin gıdalara, bu virüsler ile kontamine olmuş suların ve bu suları kullanan insanlardan fekal-oral yolla bulaştığı düşünülmüştür (75).

Adenovirüsler'in genel olarak hava kaynaklı da olabilmesi gastroenteritenin bu kaynaklardan da bulaşabileceğini düşündürmektedir (73).

Güney Kore'de Cheorwon-gun şehrinde Koreli askerler arasında Mart 2012 yılında meydana gelen zatürre ve ateşli solunum hastalığı görülen salgın incelenmiştir. İnceleme sonucunda rasgele seçilen 407 ateşli solunum hastasının 8'i ve 15 akciğer hastasının 3'ü Adenovirüsler bakımından incelemeye alınmış ve hepsinde Adenovirüsler bakımından pozitif sonuç gözlenmiştir. Salgına neden olan Adenovirüsler'in atış talimi sırasında havaya karışan toz tanelerinden bulaşmış olabileceği vurgulanmıştır (76).

Virütik gastroenterit rahatsızlıklarının bir diğer sorumlusu olarak da Astrovirüsler gösterilmektedir. Astrovirüslerin tüm serotipleri bütün dünyaya yayılmıştır. Astroviridae ailesinde yer alan Astrovirüsler, 1993 yılında tanımlanmıştır ve Mamastrovirüs ve Avastrovirüs olarak 2 cinsi tespit

edilmiştir. Bu virüsler elektron mikroskopunda küçük 28-30 nm büyüklükte, 5 ya da 6 köşeli yıldız şeklinde görülen virüslerdir. İsmi Latince astron (yıldız) kelimesinden gelmektedir. Genellikle düzgün 20 kenarlı, ikozahedral yapıdadır. Çoğu çalışmada serotip 1 baskın görülmekte onu 2, 3, 4, 5 izlemekte ve 6, 7, 8 nadir gözlenmektedir (76). İlk tanımlanan insan Astrovirüsler'in bütün sekiz serotipi gastroenterit rahatsızlıklar ile bağlantılıdır (77). Astrovirüs salgınlarına bakıldığında kontamine olmuş suların ve gıdaların tüketilmesi ile meydana geldiği ve bunlara ek olarak da fekal-oral yollarla da bulaşabileceği görülmüştür (78).

Tayvan'da 2009 yılında 3 hastanede 5 yaşından küçük çocuklarda görülen 989 gastroenterit rahatsızlıklarının %1.6'sında Astrovirüslere rastlanmıştır (79).

Bunun yanı sıra 2013 yılında İskoçya'nın Tayside kentinde bulunan bir yaşlı bakım evinde meydana gelen gastroenterit rahatsızlıklarda içlerinde 7 personelin bulunduğu 20 kişinin gaita örnekleri incelenmiş ve bu örneklerde Astrovirüsler tespit edilmiştir. Yapılan incelemede ilk rahatsızlanan kişinin çalışan personel olması ve yaşlı bakım evinde kalan kişilerle farklı yemekler yediklerini bildirmesi üzerine bu rahatsızlıkların el temizliğine dikkat edilmediği için başladığını düşündürmüştür (80).

Gıda kökenli viral enfeksiyonların görülmesi için gıdalarda bulunan virüs miktarı, konağın duyarlılığı, virüsün çevre koşullarına dayanıklılığı, ve enfeksiyon için gereken virüs dozu önemlidir (81). Bunun yanı sıra gıda ve su kaynaklı salgınlardan sorumlu bu virüslerin (Norovirüsler, Rotavirüsler, Adenovirüsler, Astrovirüsler) tek başlarına sorumlu olmalarının yanı sıra bir veya bir kaçının birlikte bulunmaları halinde bu sorunu oluşturabildikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Kuzey Fransa'da hastalanan 32 çocuktan alınan örneklerin %16'sında Adenovirüs ve Rotavirüs, %13'ünde Astrovirüs ve Rotavirüs, %9'unda Norovirüs ve Adenovirüs, %3'ünde Adenovirüs ve Norovirüs, %6'sında ise Norovirüs, Rotavirüs ve Adenovirüs bir arada gözlenmiştir. Bu da salgınlarda hangi virüsün miktarının fazla olduğunun tespit için kapsamlı çalışmaları gerektirmektedir (64).

## SONUÇ

Gıda kaynaklı hastalıklarda genellikle ilk akla gelen bakteri kökenli etkenlerdir. Bununla birlikte, aslında virüslerin neden olduğu hastalıkların göz ardı edilemeyecek kadar çok olduğu yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmektedir.

Bu güne kadar gıda kaynaklı virüsler olarak Hepatit A (Hepatovirus) ve çocuk felci (poliomyelit) virüslerinden kaynaklanan salgınlar gündemdedi. Hepatit A Virüs (HAV) enfeksiyonun son yıllarda gelişmiş ülkelerde sıklığı azalsa da gelişmekte olan ülkelerde halen önemli halk sağlığı sorunlarından birini oluşturmaktadır. Bugün ise tüm dünyada farklı virüslerin (Norovirüsler, Rotavirüsler, Adenovirüsler ve Astrovirüsler gibi) salgınlarda rol almaya başladığı görülmektedir.

Virüs kaynaklı hastalıklar ile mücadelede diğer hastalanmalarda olduğu gibi su ve gıdaların kirlenmesinin önlenmesi en önemli basamaktır. Bunun yanı sıra virüsün kontaminasyon yollarının belirlenmesi, bu kontaminasyonlarla mücadele yöntemlerinin iyileştirilmesi ve her şeyden önce virüslerin tespit ve tanımlama metotlarının geliştirilmesi virüslerle mücadelede önemli katkılar sunacaktır. Aşağıda çizelge 1'de makalede kullanılan bazı kaynaklar, kaynakların kronolojik sırası, enfeksiyon kaynakları ve bu enfeksiyonları tespit yöntemi gösterilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Predmore A, Li J. 2011. Enhanced Removal of a Human Norovirus Surrogate from Fresh Vegetables and Fruits by a Combination of Surfactants and Sanitizers. *Appl Environ Microbiol*, 77 (14), 4829-4838.
2. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleesschauwer B, Döpfer D, Fazil A, Fischer-Walker CL, Hald T, Hall AJ, Keddy KH, Lake RJ, Lanata CF, Torgerson PR, Havelaar AH, Angulo FJ. 2015. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLOS Med*, 12(12), 1-21.
3. Yoldaş Ö, Bulut A, Altındiş M. 2012. Hepatit A Enfeksiyonlarına Güncel Yaklaşım. *Viral Hepat J*, 18 (3), 81-86.
4. Brassard J, Gagne M, Genereux M, Cote C. 2012. Detection of Human Food-Borne and Zoonotic Viruses on Irrigated, Field-Grown Strawberries. *Appl Environ Microbiol*, 78 (10), 3763-3766.
5. Özdemir M, Demircili ME, Feyzioğlu B, Yavru S, Baysal B. 2013. İshalli Hastalarda Akut Viral Gastroenterit Etkenlerinin Araştırılması. *Selçuk Tıp Derg*, 29 (3), 127-130.

Çizelge 1: Makalede kullanılan bazı kaynaklar, kaynakların kronolojik sırası, enfeksiyon kaynakları ve bu enfeksiyonları tespit yöntemi

Enfeksiyon Etmeni	Tarih	Tespit Yöntemleri	Kaynak	Enfeksiyon Kaynağı
Norovirüs	2001-2008	Reel-time Ters Transkriptaz PCR	34	Dondurulmuş Çilek
Norovirüs	2012	Reel-time PCR	25	Hava
Norovirüs	2012	Ters Transkriptaz PCR	33	Yapraklı Sebzeler, Meyveler, Yumuşakçalar
Norovirüs	2012	Hastalara Yapılan Anket	31	Hastalanmadan Önce Tükettikleri Gıdaların Listesi
Norovirüs	2012	Hastalara Yapılan Anket	32	Hastalanmadan Önce Tükettikleri Gıdaların Listesi
Norovirüs	2012	Ters Transkriptaz PCR	4	Çilek, Yıkama Suyu
Norovirüs	2013	Ters Transkriptaz PCR, half-nested PCR	41	Su
Norovirüs	2014	Hastalara Yapılan Anket	35	Dondurulmuş çilek
Rotavirüs	2008-2009	Ters Transkriptaz -nested PCR	46	Midye, Su
Rotavirüs	2012	Reel-time Ters Transkriptaz PCR	56	Gıda ile Temas Eden Çalışanlardan Alınan Gaita Örnekleri
Rotavirüs	2012	Hastalara Yapılan Anket	56	Kızarmış Tavuk, Lahana, Pirinç
Rotavirüs	2000	Hastalara Yapılan Anket	60	Tuna balıklı ve/veya Tavuklu sandviçler
Adenovirüs	2013	PCR	77	Hava
Adenovirüs	2015	Loop-Mediated Isothermal Amplification (İlimiğe Dayalı İzotermal Çoğaltma: LAMP)	76	Marul, Yeşil Soğan, Cherry Domates, Çilek ve Vişne

6. Baran A, Erdoğan A. 2013. Gıda Kaynaklı Bir Hastalık Olarak Norovirüs Salgınlarının Önemi. *GIDA*, 38 (2), 119-126.
7. Svraka S, Duizer E, Vennema H, De Bruin E, Van Der Veer B, Dorresteyn B, Koopmans M. 2007. Etiological role of viruses in outbreaks of acute gastroenteritis in The Netherlands from 1994 through 2005. *J Clin Microbiol*, 45, 1389-1394.
8. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. *Emerg Infect Dis*, 17 (1), 7-15.
9. Dağcı Yaprak Ş. 2011. İmmünkompetan Erişkinler ve İmmünesupresif Tedavi Alanlarda Norovirüs Enfeksiyonunun Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, Türkiye, 48 s.
10. Uyar Y, Çarhan A, Özkaya E Ertek, M. 2008. Türkiye'de 2008 Yılında Ortaya Çıkan İlk Norovirus Salgınının Laboratuvar Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 42, 607-615.
11. Rydel, GE. 2009. Norovirus, Causative Agent Of Winter Vomiting Disease, Exploits Several Histo-Blood Group Glycans For Adhesion. [https://gupea.ub.gu.se/bitstream/2077/20045/2/gupea\\_2077\\_20045\\_2.pdf](https://gupea.ub.gu.se/bitstream/2077/20045/2/gupea_2077_20045_2.pdf). (Erişim Tarihi: 13.09.2016).
12. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. 1972. Visualization by Immune Electron Microscopy of A 27-nm Particle Associated With Acute Infectious Nonbacterial Gastroenteritis. *J Virol*, 10(5), 1075-1081.
13. Anon, 2016. <http://www.norovirus.com/history-of-norovirus/>. (Erişim Tarihi: 13 Mart 2016).
14. Anon, 2016. [https://www.researchgate.net/publication/281053477\\_Caliciviridae\\_Virus\\_taxonomy\\_the\\_classification\\_and\\_nomenclature\\_of\\_viruses](https://www.researchgate.net/publication/281053477_Caliciviridae_Virus_taxonomy_the_classification_and_nomenclature_of_viruses). (Erişim Tarihi: 2 Mart 2016).
15. Kireççi E, Özer A. 2011. Norovirüsler, Salgınları ve Mücadele. *Van Tıp Dergisi*, 18 (1), 49-56.
16. Farkas T, Lung CWP, Fey B. 2014. Relationship Between Genotypes and Serotypes of Genogroup 1 Recoviruses: A Model For Human Norovirus Antigenic Diversity. *J Gen Virol*, 95, 1469-1478.
17. Matthews JE, Dicke BW, Miller RD, Felzer JR, Dawson BP, Lee AS, Rocks JJ, Kiel J, Montes JS, Moe CL, Eisenberg JN, Leon JS. 2012. The Epidemiology Of Published Norovirus Outbreaks: A Review Of Risk Factors Associated With Attack Rate And Genogroup. *Epidemiol Infect*, 140 (7), 1161-1172.
18. Puustinen L, Blazevec V, Huhti L, Szakal ED, Halkosalo A, Salminen M, Vesikari T. 2012. Norovirus genotypes in endemic acute gastroenteritis of infants and children in Finland between 1994 and 2007. *Epidemiol Infect*, 140, 268-275.
19. Huhti L, Szakal ED, Puustinen L, Salminen M, Huhtala H, Valve O, Blazevec V, Vesikari T. 2011. Norovirus GII-4 Causes a More Severe Gastroenteritis Than Other Noroviruses in Young Children. *J Infect Dis*, 203, 1442-1444.
20. Okada M, Ogawa T, Kaiho I, Shinozaki K. 2005. Genetic analysis of Noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. *J Clin Microbiol*, 43, 4391-4401.
21. Lindesmith LC, Donaldson EF, Baric RS. 2011. Norovirus GII.4 Strain Antigenic Variation. *J Virol*, 231-242.
22. Debbink K, Lindesmith LC, Donaldson EF, Costantini V, Beltramello M, Corti D, Swanstrom J, Lanzavecchia A, Vinjé J, Baric RS. 2013. Emergence of New Pandemic GII.4 Sydney Norovirus Strain Correlates With Escape From Herd Immunity. *J Infect Dis*, 208, 1877-1887.
23. Noel JS, Fankhauser RL, Ando T, Monroe SS, Glass RI. 1999. Identification of a Distinct Common Strain of "Norwalk-like Viruses" Having a Global Distribution. *J Infect Dis*, 179, 1334-1344.
24. Marks PJ, Vipond IB, Carlisle D, Deakin D, Fey RE, Caul EO. 2000. Evidence for Airborne Transmission of Norwalk-like Virus (NLV) in a Hotel Restaurant. *Epidemiol Infect*, 124, 481-487.
25. Bonifait L, Charlebois R, Vimont A, Turgeon N, Veillette M, Longtin Y, Jean J, Duchaine C. 2015. Detection and Quantification of Airborne Norovirus During Outbreaks in Healthcare Facilities. *Clin Infect Dis*, 61 (3), 299-304.
26. Widdowson MA, Cramer EH, Hadley L, Bresee JS, Beard RS, Bulens SN, Charles M, Chege W, Isakbaeva E, Wright JG, Mintz E, Forney D, Massey J, Glass RI, Monroe SS. 2004. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus-United States, 2002. *J Infect Dis*, 190, 27-36.
27. Bull RA, Tu ETV, Mciver CJ, Rawlinson WD, White PA. 2006. Emergence of a New Norovirus Genotype II.4 Variant Associated with Global Outbreaks of Gastroenteritis. *J Clin Microbiol*, 327-333.

28. Anon-c, 2016. <http://promedmail.org/post/20070310.0849>. (Erişim Tarihi: 5 Mart 2016).
29. Siebenga J, Kroneman A, Vennema H, Duizer E, Koopmans M. 2008. Food-Borne Viruses In Europe Network Report: The Norovirus GII.4 2006b (For US Named Minerva-Like, For Japan Kobe034-Like, For UK V6) Variant Now Dominant in Early Seasonal Surveillance. *Eurosurveillance*, 13 (2), 1-4.
30. Vega E, Barclay L, Gregoricus N, Williams K, Lee D, Vinjé J. 2011. Novel surveillance network for norovirus gastroenteritis outbreaks, United States. *Emerg Infect Dis*, 17 (8), 1389-95.
31. Hall AJ, Eisenbart VG, Etingüe AL, Gould LH, Lopman BA, Parashar UD. 2012. Epidemiology of Foodborne Norovirus Outbreaks, United States, 2001–2008. *Emerg Infect Dis*, 18 (10), 1566-1573.
32. Ahmed SF, Klena JD, Mostafa M, Dogantemur J, Middleton T, Hanson J, Sebeny JP. 2012. Viral Gastroenteritis Associated with Genogroup II Norovirus among U.S. Military Personnel in Turkey, 2009. *Plosone*, 7 (5), 1-6.
33. Çan G, Yavuzylma A, Çınarka H, Dereli M, Topbaş M, Özgün Ş. 2011. Trabzon İli Sürmene İlçesi Norovirüs Salgını İncelemesi-Temmuz 2010. *TAF Prev Med Bull*, 10 (5), 501-510.
34. Made D, Trubner K, Neubert E. 2013. Detection and Typing of Norovirus from Frozen Strawberries Involved in a Large-Scale Gastroenteritis Outbreak in Germany. *Food Environ Virol*, 5, 162-168.
35. Bernard H, Faber M, Wilking H, Haller S, Höhle M, Schielke A, Ducomble T, Siffzyk C, Merbecks S, Fricke G, Hamouda O, Stark K, Werber D. 2014. Large multistate outbreak of norovirus gastroenteritis associated with frozen strawberries, Germany, 2012. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx>. (Erişim Tarihi: 05 Ocak 2017).
36. Anon, 2016. <http://time.com/4212692/chipotle-closed-stores-norovirus-burrito/>. (Erişim Tarihi: 5 Mart 2016).
37. Anon, 2016. <https://webgate.ec.europa.eu/rasffwindow/portal/?event=notificationsList&StartRow=1>. (Erişim Tarihi: 7 Mart 2016).
38. Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M. 2013. Indications for Worldwide Increased Norovirus Activity Associated With Emergence of A New Variant Of Genotype II.4, Late 2012. *Eurosurveillance*, 18(1),8-9.
39. Da Silva DL, Rodrigues EL, De Lucena MSS, De Lima ICG, Oliveira DS, Soares LS, Mascarenhas JDP, Linhares AC, Gabbay YB. 2013. Detection of The Pandemic Norovirus Variant GII.4 Sydney 2012 in Rio Branco, State of Acre, Northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 108 (8), 1068-1070.
40. Jung S, Jeong HJ, Hwang BM, Yoo CK, Chung GT, Jeong H, Kang YH, Lee DY. 2015. Occurrence of Norovirus GII.4 Sydney Variantrelated Outbreaks in Korea. *Osong Public Health Res Perspect*, 6(5), 322-326.
41. Lee B, Lee S, Park J, Kim K, Ryu S, Rhee O, Park J, Lee J, Paik S. 2013. Norovirus Contamination Levels in Ground Water Treatment Systems Used for Food-Catering Facilities in South Korea. *Viruses*, 5, 1646-1654.
42. Anon, 2016. <http://www.ntv.com.tr/saglik/elbistandaki-salginin-nedeni-belli-oldu,EkDCleaP1E6-PiXhBOOcoQ>. (Erişim Tarihi: 29 Ağustos 2016).
43. Ha JH, Choi C, Lee HJ, Ju IS, Lee JS. 2016. Efficacy Of Chemic Al Disinfectant Compounds Against Human Norovirus. *Food Control*, 59, 524-529.
44. Cromeans T, Park GW, Costantini V, Lee D, Wang Q, Farkas T, Lee A, Vinje J. 2014. Comprehensive Comparison of Cultivable Norovirus Surrogates in Response to Different Inactivation and Disinfection Treatments. *Appl Environ Microbiol*, 80 (18), 5743-5751.
45. Kittigul L, Panjangampatthana A, Rupprom K, Pombubpa K. 2014. Genetic Diversity of Rotavirus Strains Circulating in Environmental Water and Bivalve Shellfish in Thailand. *Int J Environ Res Public Health*, 11, 1299-1311.
46. Albayrak N, Yağcı-Çağlayık D, Altaş AB, Korukoğlu G, Ertek G. 2011. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Viroloji Referans ve Araştırma Laboratuvarı, 2009 yılı akut viral gastroenterit verilerinin değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 68 (1), 9-15.
47. Anon, 2016. [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/burden/esti\\_mates/rotavirus/en/](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/esti_mates/rotavirus/en/). (Erişim Tarihi: 5 Mart 2016).
48. Anon, 2016. <http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/Dosya/tani-rehberi/viroloji/UMS-V-MT-04-Rotavirus-enfeksiyonu.pdf>. (Erişim Tarihi: 5 Mart 2016).

49. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2012. 2008 Estimate of Worldwide Rotavirus-Associated Mortality in Children Younger Than 5 Years Before The Introduction of Universal Rotavirus Vaccination Programmes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Lancet Infect Dis*,12, 136-141.
50. Berk E, Kayman T. 2011. Akut Gastroenteritli Çocuk Hastalarda Rotavirüs Sıklığı. *ANKEM Derg*, 25(2),103-106.
51. Çelik AY, Emiroğlu M, Kurtoğlu MG, İnci A, Odabaş D. 2016. Akut Gastroenteritli 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Viral Etkenlerin Sıklığının Araştırılması. *Türkiye Çocuk Hast Derg*, 2, 101-106.
52. Bishop R. 2011. Discovery of rotavirus: Implications for Child Health. *J Gastroenterol Hepatol*, 24(3), 81-85.
53. Öztaş S. 2014. Akut Gastroenteritli Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı Ve Rotavirusun Moleküler Epidemiyolojisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, Türkiye, 128 s.
54. Yılmaz İ. 2013. Akut İshalli Çocuklarda Norovirüs, Rotavirüs ve Adenovirüs Sıklığı. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, Türkiye, 84 s.
55. Mizukoshi F, Kuroda M, Tsukagoshi H, Sekizuka T, Funatogawa K, Morita Y, Noda M, Katayama K, Kimura H. 2014. A Food-Borne Outbreak of Gastroenteritis Due to Genotype G1P[8] Rotavirus Among Adolescents in Japan. *Microbiol Immunol*, 58, 536-539.
56. Çelikkann FBN. 2011. 2008-2009 Yılları Arasında Başvuran Rotavirüs İshalli Olgularımızın Retrospektif Analizi. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, İstanbul, 44 s.
57. Anonymous, 2016. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4950a2.htm#fig1>. (Erişim Tarihi: 7 Mart 2016).
58. Meqdam MM, Thwiny İR. 2007. Prevalence Of Group A Rotavirus, Enteric Adenovirus, Norovirus And Astrovirus Infections Among Children With Acute Gastroenteritis In Al-Qassim, Saudi Arabia. *Pak J Med Sci*, 23 (4), 551-555.
59. Pacilli M, Cortese MM, Smith S, Siston A, Samala U, Bowen MD, Parada JP, Tam KI, Rungsririyachai K, Roy S, Esona MD, Black SR. 2015. Outbreak of gastroenteritis in adults due to rotavirus genotype G12P8. *Clin Infect Dis Advance Access*, 61 (4), 20-25.
60. Köksal Ş, Soysal A, Ergör G, Kaner G. 2016. İzmir'de Sağlık Kurumlarına Yemek Üretim ve Dağıtım Hizmeti Veren Bir Firmada Çalışanların Gıda Hijyeni İle İlgili Bilgi ve Davranışları. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 73 (2), 139-148.
61. İnci A, Kurtoğlu MG, Baysal B. 2009. Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Rotavirus Gastro-Enteriti Prevalansının Araştırılması. *Infek Derg (Turkish J Infect)*, 23(2), 79-82.
62. İjaz MK, Zargar B, Wright KE, Rubino JR, Sattar SA. 2016. Generic Aspects of The Airborne Spread of Human Pathogens Indoors and Emerging Air Decontamination Technologies. *Am J Infect Control*, 44, 109-120.
63. Xue B, Jin M, Yang D, Guo X, Chen Z, Shen Z, Wang X, Qiu Z, Wang J, Zhang B, Li J. 2013. Effects Of Chlorine And Chlorine Dioxide On Human Rotavirus Infectivity and Genome Stability. *Water Res*, 47, 3329-3338.
64. Tran A, Talmud D, Lejeune B, Jovenin N, Renois F, Payan C, Leveque N, Andreoletti L. 2010. Prevalence of Rotavirus, Adenovirus, Norovirus, and Astrovirus Infections and Coinfections among Hospitalized Children in Northern France. *J Clin Microbiol*, 48(5), 1943-1946.
65. Dinç HÖ. 2015. Obez Çocuklarda Adenovirus Tıp 36 Seropozitifliği ve Adipokin Düzeyleri. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 96s.
66. Motamedifar M, Amini E, Shirazi PT. 2013. Frequency of Rotavirus and Adenovirus Gastroenteritis Among Children in Shiraz, Iran. *Iran Red Crescent Med J*, 15(8): 729-33.
67. Balkan ÇE, Çelebi D, Çelebi Ö, Altıparlak Ü. 2012. Erzurum'da 0-5 Yaş Arası Çocuklarda Rotavirus ve Adenovirus Sıklığının Araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 42(2), 51-54.

68. Gültepe B, Yaman G, Çıkman A, Güdücüoğlu H. 2012. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerde Rotavirus ve Adenovirus Sıklığı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 42(1), 16-20.
69. Ozsari T, Bora G, Kaya B, Yakut K. 2016. The Prevalence of Rotavirus and Adenovirus in the Childhood Gastroenteritis. *Jun J Microbiol*, 9(6), 1-5.
70. Portes SAR, Volotão EM, Rocha MS, Rebelo MC, Xavier MPTP, Assis RM, Rose TL, Miagostovich MP, Leite JPG, Carvalho-Costa FA. 2016. A non-enteric adenovirus A12 gastroenteritis outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 111(6), 403-406.
71. Doğanekin E. 2016. Bingöl'de Çocuk Hastalarda Rotavirüs ve Adenovirus Sıklığının Araştırılması. *Harran Üni Tıp Fak Derg*, 13 (1), 42-47.
72. Birmpa A, Kalogeropoulos K, Kokkinos P, Vantarakis A. 2015. Evaluation of a Loop-Mediated Isothermal Amplification (Lamp) Assay For The Detection Of Viruses In Ready-To-Eat Foods. *J Microbiol Biotech Food Sci*, 5(2), 132-135.
73. La Rosa G, Fratini M, Libera SD, Iaconelli M, Muscillo M. 2013. Viral Infections Acquired Indoors Through Airborne, Droplet Or Contact Transmission. *Ann Ist Super Sanità*, 49 (2), 124-132.
74. Ziros PG, Kokkinos PA, Allard A. 2015. Development and Evaluation of a Loop Mediated Isothermal Amplification Assay for the Detection of Adenovirus 40 and 41. *Food Environ Virol*, 7, 276-285.
75. Birmpa A, Kalogeropoulos K, Kokkinos P, Vantarakis A. 2015. Evaluation of A Loop-Mediated Isothermal Amplification (Lamp) Assay for The Detection of Viruses in Ready-To-Eat Foods. *J Microbiol Biotech Food Sci*, 5 (2) 132-135.
76. Hwang S, Park D, Yang Y, Park S, Lee H, Kim M, Chun B. 2013. Outbreak of Febrile Respiratory Illness Caused by Adenovirus at a South Korean Military Training Facility: Clinical and Radiological Characteristics of Adenovirus Pneumonia. *J Infect Dis*, 66, 359-365.
77. Kahyaoğlu F. 2015. Gastroenteritli Hastaların Dışkı Örneklerinde Human Bocavirüs (Hbov)' ün Moleküler Yöntemle Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Viroloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, Türkiye, 50.
78. Kapoor A, Li L, Victoria J, Oderinde B, Mason C, Pandey P, Zaidi SZ, Delwart E. 2009. Multiple novel astrovirus species in human stool. *J Gen Virol*, 90, 2965-2972.
79. Bosch A, Pinto RM, Guix S. 2014. Human Astroviruses. *Clin Microbiol Rev*, 27(4), 1048-1074.
80. Tseng W, Wu F, Hsiung CA, Chang W, Wu H, Wu C, Lin J, Yang S, Hwang K, Huang Y. 2012. Astrovirus gastroenteritis in hospitalized children of less than 5 years of age in Taiwan, 2009. *J Microbiol Immunol Infect*, 45, 311-317.
81. Jarchow-Macdonalda AA, Halley S, Chandler D, Gunsonc R, Shepherd SJ, Parcell BJ. 2015. First report of an astrovirus type 5 gastroenteritis outbreak in a residential elderly care home identified by sequencing. *J Clin Virol*, 73, 115-119.
82. Özdemir Y, Öztürk, A, Tüfekçi S. 2015. Kontamine Olmuş Meyve veya Sebze Tüketiminden Kaynaklanan Norovirüs Zehirlenmeleri ve Önleme Yolları. *BAHÇE*, 44 (1): 31-39

## **THE EFFECT OF EXTRACTION PARAMETERS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUBCRITICAL WATER EXTRACTS OBTAINED FROM MANDARIN PEEL**

**Evrım Özkaynak Kanmaz\*<sup>1</sup>, Özlem Saral<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Artvin Çoruh University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetics Department, Turkey

<sup>2</sup> Recep Tayyip Erdoğan University, Health College, Nutrition and Dietetics Department, Turkey

Geliş / Received: 14.07.2016; Kabul / Accepted: 04.04.2017; Online baskı / Published online: 22.04.2017

Kanmaz Özkaynak, E., Saral, Ö. (2017). The effect of extraction parameters on antioxidant activity of subcritical water extracts obtained from mandarin peel. *GIDA* (2017) 42 (4): 405-412 doi: 10.15237/gida.GD16073

### **Abstract**

Mandarin peel, which discarded as by-product at large amounts during fruit juice production, is a valuable source of antioxidant compounds in the food industry. The aim of this study was to investigate the effect of extraction temperature and static extraction time on antioxidant activity and phenolic compounds during subcritical water extraction. The antioxidant activity of subcritical water extracts were determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay as IC<sub>50</sub>, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) and total antioxidant potential assay using Cu(II) complex as an oxidant (CUPRAC). As the IC<sub>50</sub> value of the subcritical water extracts obtained from mandarin peel decreased 40.8 times, FRAP and CUPRAC values increased 66.9 and 34.2 times with increasing extraction temperature from 50 to 180°C for 5 min, respectively. Besides, total phenolic content (TPC) of subcritical water extracts increased 4.9 and 5.0 times from 50 to 180°C for 5 and 15 min whereas, 9.6 and 9.9 times increase was obtained for total flavonoid content (TFC) in the subcritical water extracts, respectively.

**Keywords:** Subcritical water extraction, antioxidant activity, mandarin peel, phenolics, flavonoids.

## **MANDALİNA KABUĞUNDAN ELDE EDİLEN KRİTİK ALTI SU EKSTRAKTLARININ ANTIOKSİDAN AKTİVİTE DÜZEYİNE EKSTRAKSİYON PARAMETRELERİNİN ETKİSİ**

### **Öz**

Meyve suyu üretimi sırasında fazla miktarda yan ürün olarak açığa çıkan mandalina kabuğu gıda endüstrisinde içerdiği antioksidan bileşikler açısından önemli bir kaynaktır. Bu çalışmanın amacı, mandalina kabuğundan kritik altı su ekstraksiyonu tekniği ile elde edilen su ekstraktlarının antioksidan aktivite ve fenolik bileşik içeriğine ekstraksiyon sıcaklığının ve statik ekstraksiyon süresinin etkisini araştırmaktır. Kritik altı su ekstraktlarının antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)-IC<sub>50</sub> yöntemi, demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) yöntemi ve oksidan olarak bakır (II) kullanan toplam antioksidan (CUPRAC) yöntemi ile belirlenmiştir. 5 dakika statik ekstraksiyon süresi için ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile mandalina kabuğundan elde edilen kritik altı su ekstraktlarının IC<sub>50</sub> değerleri 40.8 kat düşmüş olup FRAP ve CUPRAC değerleri ise sırası ile 66.9 and 34.2 kat artmıştır. Ayrıca, kritik altı su ekstraktlarının toplam fenolik madde (TPC) içeriği ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile 5 ve 15 dakika statik ekstraksiyon sürelerinde sırası ile 4.9 ve 5.0 kat artmıştır. Buna karşın, ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'den 180°C'ye yükselmesi ile 5 ve 15 dakika statik ekstraksiyon sürelerinde kritik altı su ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerinde (TFC) sırası ile 9.6 ve 9.9 kat artış elde edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kritik altı su ekstraksiyonu, antioksidan aktivite, mandalina kabuğu, fenolikler, flavonoidler.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ evrimka2000@yahoo.com,

☎ (+90) 466 215 1063 / 2127,

☎ (+90) 466 215 1064



## INTRODUCTION

In the last years, novel sustainable extraction techniques such as Ultrasound-Assisted Extraction (UAE), Microwave-Assisted Extraction (MAE), Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction, Supercritical Fluid Extraction (SFE), Accelerated Solvent Extraction (ASE) and Pressurized Hot Water Extraction (PHWE) or Subcritical Water Extraction (SWE) which allow to reduce extraction time and solvent consumption, increase nutraceutical yield and improve plant extract quality (1-10). Subcritical water extraction is called green technology because it is a rapid and efficient recovery method as compared with conventional extraction methods. During the subcritical water extraction, water was kept in the liquid form using high pressure and high extraction temperature below its critical point, 273°C. Because of that, the solubility of less polar compounds increase at high temperatures during the subcritical water extraction. In the literature, subcritical water extraction is reported to have high extraction yields and short extraction times as compared conventional extraction methods. In the literature, antioxidant compounds from different food materials were successfully extracted with subcritical water, which is nontoxic extraction solvent (11-14).

Mandarin peel is discarded as by product during mandarin juice or mixed fruit juice production in the food industry and a rich source of especially flavonoids and phenolic acids (11, 15, 16). Nowadays, extraction studies of natural antioxidant compounds from various food waste products and also citrus peels have been increased. However, organic toxic solvents were used in the most of these studies. On the other hand, especially for human consumption as dietary supplements or food additives, several new techniques have been used and one of them is subcritical water extraction.

In the literature, there is lack of publication regarding the effect of extraction parameters on antioxidant activities of subcritical water extracts obtained from mandarin peel. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of extraction temperature and static extraction time on antioxidant activity and phenolic compounds during subcritical water extraction using accelerated solvent extractor, ASE 350 and also subcritical water extracts and solvent extracts from mandarin

peel were compared for extraction efficiency. Besides, the correlation coefficients between phenolic compounds and antioxidant activities of subcritical water extracts obtained from mandarin peel were investigated in this study.

## MATERIAL AND METHOD

### Material

Domestic mandarin (*Citrus reticulata*) peels were used in this study. Mandarins were cultivated with natural farming using only goat fertilizer in the red and stony soil. Mandarins were harvested in November 2014 from a natural orchard by the Kızan mountainfoot in Köyceğiz, Muğla. The orange coloured mandarin peels were not covered with wax and they were peeled with a stainless steel knife and then dried in the vacuum air oven at 50°C until constant weight. Dried mandarin peels were vacuum packed for prevention of oxidation and then stored at -20°C until the extraction process. Samples were ground with a coffee grinder (Bosch, KM 13) between 600 and 1500 µm just before extraction.

The chemicals and reagents used in this study were Folin-ciocalteu phenol reagent, luteolin, aluminium chloride, sodium hydroxide, methanol, ethanol, acetone, DPPH, acetate buffer, hydrochloric acid, 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (tptz), iron (III) chloride hexahydrate, iron(II) sulfate heptahydrate, copper(II) chloride, neocuproine, ammonium acetate, trolox (Sigma); sodium carbonate, sodium nitrite (Merck); ferrulic acid (Fluka). All the chemicals and solvents used were of analytical or HPLC grade.

### Method

#### Solvent extraction by magnetic stirrer

Solvent extraction of mandarin peel was carried out using magnetic stirrer and applied according to the method of Çam and Hışıl (17). 1 gram of mandarin peel was mixed with 10 mL of organic solvent as methanol, ethanol and acetone at 40°C for 1 h using three magnetic stirrer and the supernatants were filtered and these processes were applied two times and the collected supernatants were adjusted to 25 mL in this study. Then, the solvent extracts were stored at -20°C. The extraction procedure was carried out two times.

### Subcritical water extraction

In this study, six extraction temperatures (50, 100, 120, 140, 160 and 180°C) and two static extraction times (5 and 15 min) were studied to determine the effect of extraction temperature and static extraction time on phenolics, flavonoids and antioxidant activities of subcritical water extracts. The subcritical water extracts were obtained from mandarin peel using accelerated solvent extractor (ASE 350, Dionex Corporation). The subcritical water extraction was carried out in 25 ml metal extraction cell, at constant pressure of 1500 psi, fresh water of 5% and sample amount of 1.5 g. The all subcritical water extracts were obtained at one cycle by accelerated solvent extractor. The extraction procedure was carried out two times.

### Determination of antioxidant activities

The Ferric Reducing Antioxidant Assay (FRAP) was carried according to the method of Benzie and Strain (18). FRAP reagent was prepared by mixing 25 mL of 300 mM acetate buffer (pH 3.6) with 2.5 mL of 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (tpzt) solution in 0.5 mL of HCl (40 mM) and 2.5 mL of 20 mM iron (III) chloride hexahydrate solution. 3 mL FRAP reagent was mixed with 100  $\mu$ L of sample extract and incubated at 37°C for 4 min. Absorbance of the solutions was measured by a Shimadzu UV-VIS 1800 spectrophotometer at 595 nm against a reagent blank containing distilled water. Trolox was used a positive control to construct a reference curve (62.5-1000  $\mu$ M). FRAP values were expressed as  $\mu$ mol iron (II) sulfate heptahydrate equivalent of g.

The scavenging activity of DPPH radical was determined using the method of Molyneux (19). 1.5 mL of the sample extract was mixed with 1.5 mL of DPPH (0.1 mM in methanol), vortexed and incubated at room temperature in the dark for 50 min. Absorbance of the solutions was measured by spectrophotometer at 517 nm. Besides, the control solution without sample extract was used. The results were expressed as IC<sub>50</sub> (mg/mL), which was calculated from the curves by plotting absorbance values. IC<sub>50</sub> values represent the concentration of the extract (mg/mL) required to inhibit 50% of the radicals.

The cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) was determined according to the method of Apak et al. (20). 1 mL of Copper(II) chloride solution ( $1.0 \times 10^{-2}$  M), 1 mL of ethanolic neocuproine solution ( $7.5 \times 10^{-3}$  M) and 1 mL of ammonium acetate (1M, pH 7.0) were mixed in a test tube. The sample extract with different concentrations was added to the initial mixture. The tubes were stoppered and the absorbance of the solutions was measured by spectrophotometer at 450 nm against a reagent blank after 30 min. The result was calculated using the molar absorption coefficient ( $\epsilon$ ;  $1.7 \times 10^4$  L. mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) against trolox, which was the standard reference compound. The result was expressed as mM Trolox/100 g.

### Determination of total phenolic and total flavonoid content

Total phenolic content of subcritical water and solvent extracts were assayed as described by Skerget et al. (21). 0.5 mL of extract was mixed with 2.5 mL of 0.2 N Folin-Ciocalteu reagent and 2 mL of 7.5% sodium carbonate and then the solution was incubated at 50°C for 5 min in the water bath (Memmert, WNB 14) and cooled immediately. The absorbance was measured by spectrophotometer at 760 nm. The calibration curve was prepared with ferric acid solutions at five concentrations of aqueous methanol (80%). The results were expressed as ferric acid equivalent (mg of ferric acid per L of extract).

Total flavonoid content of subcritical water and solvent extracts were analysed by a spectrophotometric method by Chang et al. (22). 0.5 mL of extract was mixed with 2.5 mL of distilled water and 150  $\mu$ L of 5% sodium nitrite solution. The vortexed solution was allowed to stand for 5 min and then 300  $\mu$ L of 10% aluminium chloride solution was added to the mixture and allowed to stand for 5 min. Lastly, 1 mL of 1 M sodium hydroxide was added and 450  $\mu$ L distilled water was added and final solution was vortexed at medium speed. The absorbance was measured by spectrophotometer at 510 nm. The calibration curve was prepared with luteolin solutions at five concentrations aqueous methanol (80%). The results were expressed as luteolin equivalent (mg of luteolin per L of extract).

### Statistical analysis

All the analyses were performed in triplicate. Results were expressed as means±standard deviation. One-way analysis of variance, least significant difference (LSD) for extraction temperatures and T-test for extraction time and also univariate analysis of variance for the temperature effect, time effect and temperature-time interaction was applied at significance level 0.05 using SPSS statistical package whereas, Pearson's correlation coefficients were at significance level 0.01.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Antioxidant activity of subcritical water extracts from mandarin peel

As shown from Table 1, the effect of extraction temperature and static extraction time on FRAP, CUPRAC and IC<sub>50</sub> values of subcritical water extracts obtained from mandarin peel were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Subcritical water extracts from mandarin peel showed higher scavenging activity at higher extraction temperatures. Besides, 15 min as static extraction time was more effective to extract of antioxidant compounds with subcritical water than 5 min (Table 1). The lowest IC<sub>50</sub> value and the highest FRAP and CUPRAC value of subcritical water extracts from mandarin peel were determined at 180°C for 15 min. Subcritical water extracts from mandarin peel showed scavenging activity against DPPH

radical between 37.12 and 0.11 g/L. As extraction temperature increased from 50 to 180°C, IC<sub>50</sub> value of subcritical water extracts from mandarin peel decreased 40.8 times (from 37.12 to 0.91 g/L) and 239.4 times (from 26.33 to 0.11 g/L) for 5 and 15 min, respectively. Furtherly, subcritical water extracts at 180°C and 15 min had a high antioxidant activity with the lowest IC<sub>50</sub> value (0.11 g/L) as compared the IC<sub>50</sub> value of trolox (0.06 g/L).

Subcritical water extracts from mandarin peel had the significant ( $P < 0.05$ ) highest FRAP and CUPRAC value at 180°C for 15 min, followed by 180°C and 5 min. Besides, FRAP and CUPRAC values of subcritical water extracts from mandarin peel increased 66.9 times (from 1.40 to 93.63  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ) and 34.2 times (from 2.27 to 77.70 mM troloks/g) with increasing extraction temperature from 50 to 180°C for 5 min, respectively. Also, for 15 min, FRAP and CUPRAC values of subcritical water extracts increased 39.9 times (from 3.37 to 134.41  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ) and 24.4 times (from 4.10 to 100.11 mM troloks/g) with increasing extraction temperature from 50 to 180°C.

Also, static extraction time had a significant ( $P < 0.05$ ) effect on antioxidant activity of subcritical water extracts from mandarin peel. As static extraction time increased from 5 to 15 min, IC<sub>50</sub> value of subcritical water extracts from mandarin peel decreased 6.6 times (from 3.42 to 0.52 g/L) and 8.3 times (from 0.91 to 0.11 g/L) at 160 and

Table 1. Antioxidant activity values of subcritical water extracts from mandarin peel.

Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)	FRAP ( $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ )	CUPRAC (mM troloks/g)	IC <sub>50</sub> (g/L)
50	5	1.40±0.10 <sup>a</sup>	2.27±0.09 <sup>e</sup>	37.12 ±1.20 <sup>a</sup>
100		2.53±0.18 <sup>a</sup>	3.03±0.10 <sup>d</sup>	32.03±0.87 <sup>b</sup>
120		4.01±0.09 <sup>d</sup>	3.16± 0.20 <sup>d</sup>	12.74±2.42 <sup>c</sup>
140		11.34±0.11 <sup>c</sup>	9.51±0.21 <sup>c</sup>	9.59±1.11 <sup>d</sup>
160		25.85±0.50 <sup>b</sup>	22.94±0.14 <sup>b</sup>	3.42±0.72 <sup>e</sup>
180		93.63± 1.86 <sup>a</sup>	77.70±0.27 <sup>a</sup>	0.91±0.03 <sup>f</sup>
50	15	3.37±0.35 <sup>a</sup>	4.10±0.53 <sup>a</sup>	26.33±0.57 <sup>a</sup>
100		4.63±0.06 <sup>a</sup>	4.61±0.16 <sup>a</sup>	18.23±0.51 <sup>b</sup>
120		12.15±0.19 <sup>d</sup>	9.98±0.19 <sup>d</sup>	10.14±0.09 <sup>c</sup>
140		14.85±0.20 <sup>c</sup>	12.27±0.34 <sup>c</sup>	7.48±0.49 <sup>d</sup>
160		90.37±2.35 <sup>b</sup>	73.96±0.44 <sup>b</sup>	0.52±0.04 <sup>e</sup>
180		134.41±2.23 <sup>a</sup>	100.11±1.81 <sup>a</sup>	0.11±0.00 <sup>e</sup>
Trolox			0.06±0.00	

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>a-f</sup> Values with different superscript letters within a column are significantly different at  $P < 0.05$

## The Effect of Extraction Parameters on Antioxidant Activity

Table 2. The Pearson's correlation coefficients\* between antioxidant activities and phenolics in the subcritical water extracts from mandarin peel.

Trait	FRAP	CUPRAC	IC <sub>50</sub>	TFC
IC <sub>50</sub>	-0.68*	-0.69*		
TPC	0.99*	0.99*	-0.72*	0.99*
TFC	0.99*	0.99*	-0.67*	
CUPRAC	0.99*			

\* Correlation is significant at the  $P < 0.01$  level

180°C, respectively. However, FRAP value of subcritical water extracts increased 3.0 times (from 4.01 to 12.15  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ) and 3.5 times (from 25.85 to 90.37  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ ) with increasing static extraction time from 5 to 15 min at 120 and 160°C, respectively. Besides, CUPRAC value of subcritical water extracts from mandarin peel increased 3.2 times (from 3.16 to 9.98 mM troloks/g) and 3.2 times (from 22.94 to 73.96 mM troloks/g) while static extraction time increased from 5 to 15 min at 120 and 160°C, respectively.

These results suggested that the compounds capable of reducing DPPH radical in subcritical water extracts from mandarin peel could be extracted with subcritical water at higher extraction temperatures. Rodr guez-Meizoso et al. (23) also reported that the highest antioxidant activity (EC<sub>50</sub> equal to 10 mg/L) in subcritical water extracts from oregano leave was observed at the highest temperature, 200°C and 30 min. Also, Wiboonsirikul et al. (24) determined the highest EC<sub>50</sub> value (25 and 22 mg/L, respectively) in subcritical water extracts from oregano leave at 150 and 200°C for 15 min and it was also reported that the radical scavenging activity would resulted from several substances depending upon their water solubility and heat stability.

On the other hand, the correlations between total phenolic contents and antioxidant activities and the correlations between total flavonoid contents and antioxidant activities and also between antioxidant activities of subcritical water extracts from mandarin peel were shown in Table 2. Both FRAP and also CUPRAC values of subcritical water extracts from mandarin peel were significantly ( $P < 0.01$ ) correlated as  $r^2=0.99$  with total phenolic contents in this study. Also, Tezcan et al. (25) reported that the antioxidant activity, FRAP assay and total phenolic content levels were positively and significantly correlated

as  $r^2 > 0.98$  in commercial pomegranate juices. Also, Ozgen et al. (26) reported that levels of FRAP and total phenolic content of pomegranate juices were strongly correlated as  $r^2=0.93$ . In this study, total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel were also significantly ( $P < 0.01$ ) correlated as  $r^2=0.99$  with both FRAP and also CUPRAC values.

Besides, in this study, significantly ( $P < 0.01$ ) high correlations between IC<sub>50</sub> values with total phenolic and total flavonoid contents were found as  $r^2=-0.72$  and  $-0.67$  in the subcritical water extracts from mandarin peel, respectively (Table 2). IC<sub>50</sub> values showed lower correlation with phenolic compounds than FRAP and CUPRAC values. It can be explained with  $\beta$ -caroten, essential oils and melanoidins could have higher correlation with DPPH. As seen from Figure 1, melanoidins increased at higher extraction temperatures and also with longer extraction times. Delgado Andrade et al. (27) also reported that coffee melanoidins showed the highest correlation with DPPH.

### Subcritical water extraction of phenolic compounds from mandarin peel

The effect of extraction temperature and static extraction time on total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts obtained from mandarin peel using accelerated solvent extractor was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel increased 3.8 times (from 3.52 to 13.40 mg/L) and 3.9 times (from 0.71 to 2.73 mg/L) with increasing extraction temperature from 140 to 160°C for 15 min, respectively. However, total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts increased 2.4 times (from 5.50 to 13.40 mg/L) and 2.7 times (from 1.01 to 2.73 mg/L) with increasing static extraction time from

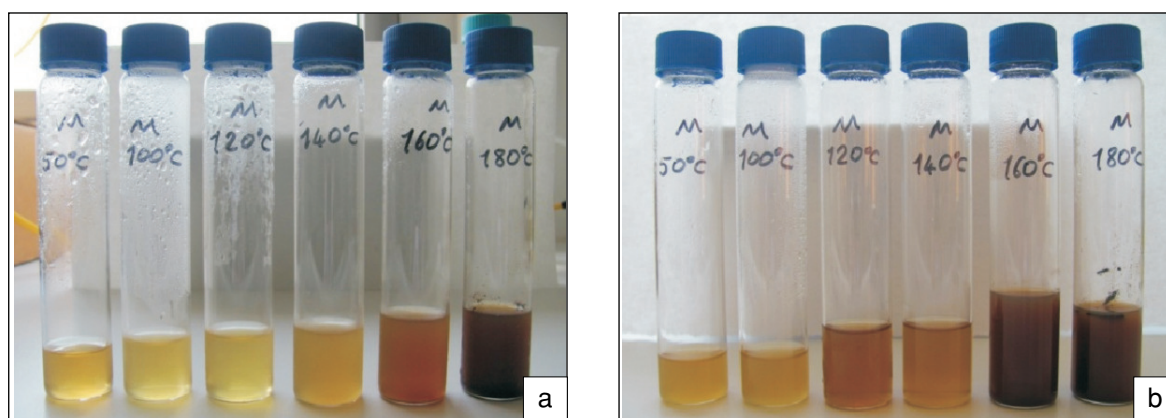


Figure 1. Subcritical water extracts from mandarin peel at 50-180°C for 5 (a) and 15 (b) min using accelerated solvent extractor, respectively.

5 to 15 min at 160°C. Besides, total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel increased 2.2 times (from 5.50 to 12.13) and 2.5 times (from 1.01 to 2.47) as extraction temperature increased from 160 to 180°C for 5 min, respectively (Table 3).

Total phenolic content of subcritical water extracts from mandarin peel increased 9.6 times (from 1.26 to 12.13 mg/L) and 9.9 times (from 1.61 to 15.91 mg/L) with increasing extraction temperature from 50 to 180°C for 5 and 15 min, respectively whereas, total flavonoid content of subcritical water extracts increased 4.8 times (from 0.51 to 2.43) and 5.0 times (from 0.61 to 3.03) for 5 and 15 min, respectively (Table 3). The significantly ( $P < 0.05$ ) highest total phenolic

and total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel were determined at 180°C and 15 min and it was followed by 160°C and 5 min in this study. These results suggested that phenolic acids and flavonoids of mandarin peel could be extracted with subcritical water between 160 and 180°C and also high amounts of phenolics especially at 180°C might be explained with formation of new phenolic compounds during decomposition of lignans and dietary fibers.

Özkaynak Kanmaz and Ova (12) reported that SDG lignan in subcritical water extracts from flaxseed meal increased 15.6 times from 120 to 180°C for 15 min whereas, there was a significantly ( $P < 0.05$ ) decrease at 180°C for 30 min. On the other hand, Özkaynak Kanmaz (13)

Table 3. Total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel.

Extraction temperature (°C)	Extraction time (min)	Total phenolic content (g/L)	Total flavonoid content (g/L)
50	5	1.26±0.06 <sup>i</sup>	0.51±0.04 <sup>e</sup>
100		1.50±0.04 <sup>e</sup>	0.55±0.04 <sup>d</sup>
120		1.57±0.07 <sup>d</sup>	0.53±0.03 <sup>d</sup>
140		2.96±0.13 <sup>c</sup>	0.72±0.01 <sup>c</sup>
160		5.50±0.13 <sup>b</sup>	1.01±0.02 <sup>b</sup>
180		12.13±0.28 <sup>a</sup>	2.47±0.09 <sup>a</sup>
50	15	1.61±0.03 <sup>i</sup>	0.61±0.03 <sup>d</sup>
100		1.90±0.04 <sup>e</sup>	0.51±0.04 <sup>e</sup>
120		2.72±0.03 <sup>d</sup>	0.63±0.04 <sup>d</sup>
140		3.52±0.24 <sup>c</sup>	0.71±0.04 <sup>c</sup>
160		13.40±1.09 <sup>b</sup>	2.73±0.22 <sup>b</sup>
180		15.91±1.08 <sup>a</sup>	3.03±0.07 <sup>a</sup>
Organic solvents*	Methanol	8.35±0.70	0.89±0.02
	Ethanol	4.17±0.32	0.65±0.01
	Acetone	1.94±0.09	0.54±0.01

Values are means±standard deviations of three (n=3) measurements

<sup>a-d</sup> Values with different superscript letters within a column are significantly different at  $P < 0.05$

\* 40°C, 2h, magnetic stirrer

reported that the significantly ( $P < 0.05$ ) highest total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extracts from flaxseed meal were determined at 180°C for 30 min. Besides, Ko et al. (14) studied with subcritical water extraction (110-210°C) of flavonoids from different materials using accelerated solvent extractor and the highest extracts were obtained for quercetin at 170°C/10 min (from onion skins), kaempferol and luteolin at 190°C/15 min (from carrots), naringin at 170°C/10 min and naringenin at 170-190°C/15 min (from grapefruit peels), hesperidin at 170°C/10 min (from orange peels) and also hesperetin at 190°C/10 min (from lemon peels).

On the other hand, in this study, subcritical water extracts from mandarin peel obtained at 180°C and 15 min had 3.4, 4.7 and 5.6 times higher total phenolic content than methanol, ethanol and acetone extracts, respectively. Besides, total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel at 180°C and 15 min was 1.9, 3.8 and 8.2 times higher than methanol, ethanol and acetone extracts, respectively (Table 3). These results showed that subcritical water was much more effective than methanol and also methanol was more effective to extract especially flavonoids from mandarin peel than ethanol and acetone solvents. In the literature, Min et al. (28) studied with subcritical water extract from *Citrus unshiu* peel only at 160°C and 15 min and found that total phenolic and total flavonoid content of subcritical water extract were higher than ethanol and hot water extracts. Cheigh et al. (11) also reported that hesperidin of subcritical water extracts from *Citrus unshiu* peel were 1.9 and 3.2 times higher than ethanol and methanol extracts, respectively.

### CONCLUSION

Antioxidant activity, total phenolic content and also total flavonoid content of subcritical water extracts from mandarin peel increased with the increase in extraction temperature and static extraction time. The results in this study showed that subcritical water extracts obtained from mandarin peel at 180°C and 15 min are good source for functional foods with high antioxidant activity and phenolic compounds and also subcritical water extracts from mandarin peel at 180°C and 15 min are noticeably important as natural antioxidant.

### Acknowledgement

The author wishes to thank Food Safety and Agricultural Research Center in Akdeniz University for the help using accelerated solvent extractor, ASE 350 model.

### LITERATURE

1. Munshi P, Bhaduri S. 2009. Supercritical CO<sub>2</sub>: A twenty first century solvent for the chemical industry. *Curr Sci*, 97 (10): 63-72.
2. Teo CC, Tana SN, Hong Yonga JW, Hewb CS, Ong ES. 2010. Pressurized hot water extraction (PHWE). *J Chromatogr A*, 1217 (16): 2484-94.
3. Pereira CG, Meireles MAA. 2010. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: Fundamentals, applications and economic perspectives. *Food Bioprocess Technol*, 3(3): 340-372.
4. Ghafoor K, Park J, Choi YH. 2010. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. *Innovative Food Sci Emerging Technol*, 11 (3): 485-490.
5. Pérez-Serradilla JA, Luque de Castro MD. 2011. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chem*, 124 (4): 1652-1659.
6. Carrera C, Ruiz-Rodríguez A, Palma M, Barroso CG. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Anal Chim Acta*, 732: 100-104.
7. Valdes A, Vidal L, Beltrán A, Canals A, Garrig MC. 2015. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from almond skin byproducts (*Prunus amygdalus*): A multivariate analysis approach. *J Agric Food Chem*, 63 (22): 5395-5402.
8. Heffels P, Weber F, Schieber A. 2015. Influence of accelerated solvent extraction and ultrasound-assisted extraction on the anthocyanin profile of different vaccinium species in the context of statistical models for authentication. *J Agric Food Chem*, 63 (34): 7532-7538.
9. Setyaningsih W, Saputro IE, Barbero GF, Palma M, Barroso CG. 2015. Determination of melatonin in rice (*Oryza sativa*) grains by pressurized liquid extraction. *J Agric Food Chem*, 63 (4): 1107-1115.

10. He B, Zhang LL, Yue XY, Liang J, Jiang J, Gao XL, Yue PX. 2016. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium ashei*) wine pomace. *Food Chem*, 2016: 70-76.
11. Cheigh CI, Chung EY, Chung MS. 2012. Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from Citrus unshiu peel using subcritical water. *J Food Eng*, 110: 472-477.
12. Özkaynak Kanmaz E, Ova G. 2013. The effective parameters for subcritical water extraction of SDG lignan from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) using accelerated solvent extractor. *Eur Food Res Technol*, 237(2): 159-166.
13. Özkaynak Kanmaz E. 2014. Subcritical water extraction of phenolic compounds from flaxseed meal sticks using accelerated solvent extractor (ASE). *Eur Food Res Technol*, 238: 85-91.
14. Ko MJ, Cheigh CI, Chung MS. 2014. Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE). *Food Chem*, 143: 147-155.
15. Hayat K, Hussain S, Abbas S, Farooq U, Ding B, Xia S, Jia C, Zhang X, Xia W. 2009. Optimized microwave-assisted extraction of phenolic acids from citrus mandarin peels and evaluation of antioxidant activity in vitro. *Sep Purif Technol*, 70: 63-70.
16. Hayat K, Zhang X, Chen H, Xia S, Jia C, Zhong F. 2010. Liberation and separation of phenolic compounds from citrus mandarin peels by microwave heating and its effect on antioxidant activity. *Sep Purif Technol*, 73: 371-376.
17. Çam M, Hışıl Y. 2010. Pressurized water extraction of polyphenols from pomegranate peels. *Food Chem*, 123: 878-885.
18. Benzie JFF, Strain, JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Meth. Enzymology*, 299: 15-27.
19. Molyneux. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın J Sci Technol*, 26: 211-219.
20. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE. 2004. Novel Total Antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *J Agric Food Chem*, 52: 7970-7981.
21. Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR, Simoncic M, Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 89: 191-198.
22. Chang CH, Lin HY, Chang CY, Liu YC. 2006. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. *J Food Eng*, 77: 478-485.
23. Rodríguez-Meizoso I, Marin FR, Herrero M, Senorans FJ, Reglero G, Cifuentes A, Ibáñez E. 2006. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano, Chemical and functional characterization. *J Pharm Biomed Anal*, 41: 1560-1565.
24. Wiboonsirikul J, Kimura Y, Kadota M, Morita M, Tsuno T, Adachi S. 2007. Properties of extracts from defatted rice bran by its subcritical water treatment. *J Agric Food Chem*, (55), 8759-8765.
25. Tezcan F, Gultekin-Ozguven M, Diken T, Ozcelik B, Erim B. 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chem*, 115: 873-877.
26. Ozgen M, Durgaç C, Serçe S, Kaya C. 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. *Food Chem*, 111: 703-706.
27. Delgado-Andrade C, Rufián-Henares JA, Morales FJ. 2005. Assessing the Antioxidant Activity of Melanoidins from Coffee Brews by Different Antioxidant Methods. *J Agric Food Chem*, 53 (20): 7832-7836.
28. Min KY, Lee KA, Kim HJ, Kim KT, Chung MS, Chang PS, Park H, Paik HD. 2014. Antioxidative and anti-inflammatory activities of citrus unshiu peel extracts using a combined process of subcritical water extraction and acid Hydrolysis. *Food Sci Biotechnol*, 23(5): 1441-1446.



## **MODELING OF BURGER PARAMETERS FOR CMC-GUAR GUM BASED POLYMER NETWORK**

**G. Bengusu Tezel<sup>1</sup>, Sibel Uzuner<sup>2\*</sup>, Nese Keklikcioglu Cakmak<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering and Architecture,  
Abant Izzet Baysal University, Bolu, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture,  
Abant Izzet Baysal University, Bolu, Turkey

<sup>3</sup>Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering,  
Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

Geliş / Received: 24.12.2016; Kabul / Accepted: 30.04.2017; Online baskı / Published online: 26.04.2017

Tezel, G. B., Uzuner, S., Cakmak, N. K. (2017). Modeling of burger parameters for CMC-guar gum based polymer network. *GIDA* (2017) 42 (4): 413-421 doi: 10.15237/gida.GD16111

### **Abstract**

Different gum concentrations of carboxymethyl cellulose (CMC)-guar gum (GG) mixtures (1.5, 2.0, 2.5%) and their volumetric mixing ratio (25:75, 50:50, 75:25) were analyzed for Burger model parameters by using response surface design approach based on creep-recovery measurements at 15, 25, 35 °C. Four component Burger model was used to characterize viscoelasticity of gum mixtures with experimental creep-recovery responses ( $J_0, J_t, t_r, \eta_0, Jr_0, Jr_1$  and  $tr_1$ ) and it was found to be satisfactory ( $R^2= 0.82-0.99$ ) for the determination of the creep-recovery properties of gum mixtures. The high ratio of GG in concentrated CMC-GG mixture provided an increase in the elasticity in the strong or stiffer structure of gum mixtures at especially low temperatures when it was compared to CMC. However, at high temperature viscous property of the CMC-GG mixture was dominant. It was found that regressed parameters from Burger model were highly dependent to temperature with respect to both volumetric mixing ratio and concentration.

**Keywords:** Burger model, creep-recovery responses, CMC-GG mixture, viscoelasticity, rheology, response surface methodology

## **CMC-GUAR GAM POLİMER AĞI İÇİN BURGER MODELİNE AİT PARAMETRELERİN MODELLENMESİ**

### **Öz**

Karboksimetil selüloz (CMC)-guar gam (GG) karışımlarının sünme-geri dönüş ölçümlerine dayanan Burger model parametreleri farklı gam konsantrasyonları (%1.5, 2.0, 2.5) ve hacimsel gam karışım oranları (25:75, 50:50, 75:25), farklı sıcaklıklarda (15, 25, 35 °C) yanıt yüzey yaklaşımı kullanılarak analiz edilmiştir. Dört bileşenli burger model ve deneysel sünme-geri dönüş özelliklerinden yararlanarak ( $J_0, J_t, t_r, \eta_0, Jr_0, Jr_1$  ve  $tr_1$ ) gam karışımlarının viskoelastikiyeti karakterize edilmiştir ve gam karışımlarının sünme-geri dönüş özelliklerinin belirlenmesinde bu model ( $R^2= 0.82-0.99$ ) tatmin edici bulunmuştur. Özellikle düşük sıcaklıklarda, yüksek GG içeren konsantrasyonlu gam karışımları CMC ile karşılaştırıldığı zaman karışımın elastisitesini ve mukavemetini arttırmıştır. Öte yandan, yüksek sıcaklıkta karışımın viskoz özelliği baskındır. Burger model regresyon parametrelerinin hacimsel CMC-GG karışım oranı ve konsantrasyonuna kıyasla daha çok sıcaklığa bağlı olduğu bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Burger modeli, sünme-geri dönüş yanıtları, CMC-GG karışım, viskoelastikiyet, reoloji, yanıt yüzey yöntemi

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ suzuner81@yahoo.com,

☎ (+90) 374 254 1000/4875,

☎ (+90) 374 253 4558



## INTRODUCTION

Gums are the main ingredients in foods as a thickening and gelling agents to control viscosity (1). The use of two or more gums in a mixture is a common practice in the food industry due to synergistic interaction between or among themselves (1). Guar gum (GG) is used as an economical thickening and stabilizing agents in the food industry and is often combined with xanthan gum (XG), locust bean gum (LBG), or carboxymethyl cellulose (CMC) to increase synergistic changes in viscosity or gelling behaviour of complex food structure (2).

When gums- either individually or in mixture- were used viscosity of that particular food need to be controlled as the rheological characterization of a mixed gums is important for product quality and shelf life. Due to viscoelastic nature of gums, elastic and viscous properties of gum solutions can be measured using small amplitude oscillatory shear (SAOS) and creep recovery tests as SAOS test gives the knowledge of dynamic properties such as elastic modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) in the linear viscoelastic region range (3). Creep-recovery tests are the most commonly used methods to define viscoelastic properties of materials (3). Creep and recovery are coupled test that creep test is obtained by applying a constant shear stress to the material, and deformation (strain) is recorded over the creep time. In the recovery part, shear stress is removed and again deformation is recorded over recovery time. The deformation supplies the alteration in molecular structure of material during this test. Burger model which is combined with Maxwell (4) and Kelvin-Voigt Model (5) connected in series determines the stress relaxation characteristics of viscoelastic samples from the resulting creep and recovery rheological measurement. This model is a mechanistic approach of viscoelasticity to simulate the linear relaxation of real viscoelastic materials at the small material strains. Each regressed coefficients ( $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $\eta_0$ ,  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$ ) of Burger model signify to distinct viscoelastic characterization of mixed gums.

However, there is a limited number of studies on Burger model application into complex food or non-food systems. For example, Chompoorat et al. (6) analyzed diacetyl tartaric acid ester of monoglycerides (DATEM), ascorbic acid (AA),

urea, and dithiothreitol (DTT) on viscoelastic properties of gluten using Burgers model. It was found that Burger model coefficients served as a tool to explain changing viscoelastic nature of gluten mixtures. On the other hand, Dogan et al. (7) used Burger model to find optimum gum mixtures which provides the highest resistance to deformation on pudding samples. Another study of Dogan et al. (8) is also related to the Burger model simulation on viscoelastic properties of ice cream samples as a function of different xanthan gum concentrations. Common side of these studies is the applicability of Burger model into complex food structured system using mechanical approach. From regressed Burger coefficients, it is possible to control physical characteristics related to the improvement of product design and quality. But, to our best knowledge there is no prior study on CMC-GG mixed gums based on creep-recovery parameters of the gum combination using Burger model.

Prediction of deformation knowledge of mixed gums with respect to different working conditions helps us to design and develop of new food materials for food industry. The aim of this study is to investigate effects of concentration of CMC-GG solutions, temperature and volumetric mixing ratio (CMC/GG) and their interaction terms on the creep-recovery parameters of CMC-GG mixture samples by modeling their viscoelastic behavior using Burger Model and to determine the relation between the regressed coefficients at the different design levels.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Polymer powders of guar gum (GG) and sodium carboxymethyl cellulose (CMC) (Sigma-Aldrich Corp, St Louis, MO), with nominal molecular weight of 700,000 g/mol were kindly provided by Dr. Kerim YAPICI, Department of Nanotechnology Engineering, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey.

### Preparation of gum solutions

The CMC and GG powders were dissolved in distilled water separately at 25 °C for 6 h using a magnetic stirrer with gentle shaking in order to prepare 1.5, 2 and 2.5% (w/v) stock solutions of CMC and GG. The CMC stock solution was

thoroughly mixed operated at 150 rpm with GG solution at different volumetric mixing ratios of CMC:GG, such as 75:25; 50:50 and 25:75, respectively.

### Measurements of rheological properties

Creep and recovery tests of the samples measurements were performed by using a stress controlled rheometer (Malvern Kinexus Pro, UK) fitted by a cone-and-plate system (50 mm diameter, 1° cone angle). A peltier plate assembly was used for temperature controlling purpose during the measurements with  $\pm 0.1$  °C precision. Strain amplitude sweep over a stress was carried out under constant frequency to determine linear viscoelastic region storage. Elastic modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) of each sample changing with respect to oscillatory stress at a constant frequency of 1 Hz are given in Figure 1.

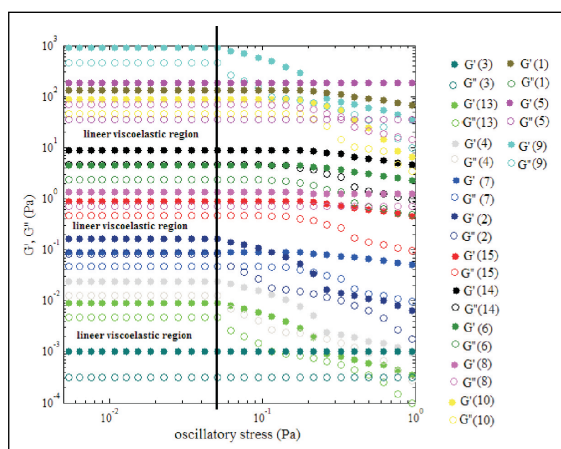


Figure 1. Variation of the loss ( $G''$ ) and storage ( $G'$ ) modulus with oscillatory stress at 1 Hz for all design samples

In the figure all curves show common viscoelastic region up to 0.05 Pa characterized by a constant modulus with respect to stress. So, creep-recovery tests were carried out under the constant shear stress of 0.05 Pa (in linear viscoelastic region) at three different temperatures (15, 25, and 35 °C) to measure the deformation of mixtures. All experiments were conducted in duplicate.

Creep-recovery tests include two parts, one of which is creep phase in which 0.05 Pa constant stress was applied for 120 s and the compliance values were recorded as a function of time. In the second part, which is recovery part, the applied stress was removed and then compliance values

were also obtained as a function of time for 120 s. In creep-recovery test, the stress response of samples under constant stress in a total time of 240 s was measured. Compliance value ( $Jc(t)$ ,  $\text{Pa}^{-1}$ ) shows deformation of mixed gums per unit stress as function of time (9) (data not shown).

### Burger model

The effect of concentration of CMC-GG solutions, temperature and volumetric mixing ratio (CMC/GG) on the creep-recovery characteristics data of CMC-GG mixed gel were fitted into Burger model (10). Burger model has been commonly applied to study viscoelastic behavior of soft matter (11). Deformation behavior of material also was described by using Burger model coefficients. These regressed parameters from the model are given with the near corresponding compliance values depicted in Figure 2.

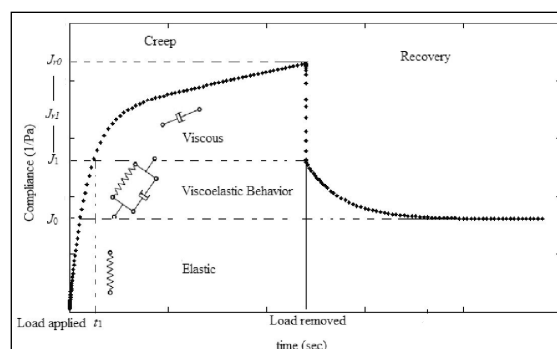


Figure 2. General representation of Burger creep and recovery model

Burger model, a combination of Maxwell and Kelvin-Voigt model, is represented by a spring and a dashpot; while, a parallel arrangement between spring and dashpot is used in Kelvin-Voigt model. It has two constitutive equations for creep and recovery parts. Equation (1) shows the model during creep:

$$Jc(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_1}\right)\right) + \frac{t}{\eta_0} \quad \text{Equation (1)}$$

where,  $Jc(t)$  is creep compliance as function of time ( $t$ ). The first element of Burger model is instantaneous shear compliance ( $J_0$ ) corresponding to a spring or elastic modulus. The second element is delayed or retarded viscoelasticity ( $J_1$ ). Retardation time ( $t_1$ ) is a time of delayed elastic deformation. The last element is related to the

zero shear rate viscosity of gum mixture ( $\eta_0$ ). This element corresponds to an increase in deformation of dashpot. Burger model also yields recovery characteristics of gum mixtures. Equation (2) shows the Burger model during recovery:

$$Jr(t) = J_{r0} + J_{r1} \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_{r1}}\right)\right) \quad \text{Equation (2)}$$

Equation (2) contained only 3 elements because there is no dashpot (pure viscous) during recovery phase.  $J_{r0}$  is the first part of recovery, corresponds to the spring of the Maxwell element.  $J_{r1}$  is the second recovery due to the Kelvin–Voigt element.  $t_{r1}$  represents the time that takes the gum mixture recovery step required for the elastic recovery of gum mixture.

### Experimental design and statistical analysis

Response surface design was used to observe the effect of GG and CMC mixed gum on the parameters of the sample obtained from creep and recovery measurements. The relationship between the responses of  $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $t_0$ ,  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values and independent variables of temperature, concentration of CMC-GG solutions and volumetric mixing ratio (CMC/GG) were examined by using the Box-Behnken Design (BBD) with a quadratic model. A second order polynomial model was fitted to represent linear, interaction and quadratic effects of variables on Burger pa-

rameters. The experimental design of Box-Behnken model is represented in Table 1. A, B and C are values of temperature, concentration of CMC-GG solutions and volumetric mixing ratio (CMC/GG), respectively. The analysis was also performed in duplicates. The analysis of variance (ANOVA) and regression analysis were performed to define the coefficients of the predictive model and significant terms using MINITAB 16.0 (Minitab Inc. State College, PA, USA). The coefficient of determination ( $R^2$ ) was determined to check for the linearity between the predicted vs. experimental Burger parameters. Statistical analyses were accomplished using MINITAB 16.0 to test the significance of different rheological properties of mixed gums. The pairwise comparisons were made by Tukey's test with a significance level of 0.05. Pareto charts were plotted to represent the standardized effects of concentration of CMC-GG solutions, temperature and volumetric mixing ratio (CMC/GG) (via T values) on Burger model parameters such as  $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $t_0$ ,  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values.

## RESULTS AND DISCUSSION

By calculating creep and recovery parameters of Burger model, the information of internal structure of gum mixtures at a given volumetric mixing ratio and temperature levels was obtained. All related model parameters were illustrated in Table 2 and Table 3.

Table 1. Experimental design for Burger model parameters using Box-Behnken response surface method (RSM)

Sample No.	Temperature (°C) (A)	Concentration of CMC-GG solutions (%) (B)	Volumetric mixing ratio (CMC/GG) (C)
1	35	1.5	50:50
2	25	2.0	50:50
3	15	1.5	50:50
4	15	2.0	25:75
5	35	2.0	25:75
6	25	2.5	75:25
7	15	2.5	50:50
8	25	1.5	25:75
9	35	2.5	50:50
10	35	2.0	75:25
11	25	2.0	50:50
12	25	2.0	50:50
13	15	2.0	75:25
14	25	2.5	25:75
15	25	1.5	75:25

Table 2. Creep model parameters of the mixed gum obtained from fitting of Eq.2\*

Sample No.	$J_0$ (Pa <sup>-1</sup> )	$J_1$ (Pa <sup>-1</sup> )	$t_1$ (s)	$\eta_0$ (Pa.s)	$R^2$
1	0.020±0.002 <sup>a</sup>	2.899±0.011 <sup>cd</sup>	8.253±0.141 <sup>bcd</sup>	83.230±4.240 <sup>f</sup>	0.988±0.001
2	0.044±0.003 <sup>ab</sup>	1.605±0.010 <sup>efg</sup>	7.605±0.735 <sup>de</sup>	192.690±10.670 <sup>e</sup>	0.993±0.001
3	0.020±0.001 <sup>e</sup>	0.909±0.025 <sup>g</sup>	5.085±0.001 <sup>f</sup>	249.550±0.960 <sup>b</sup>	0.993±0.002
4	0.030±0.002 <sup>d</sup>	1.916±0.014 <sup>ef</sup>	8.106±0.030 <sup>bcd</sup>	258.450±2.360 <sup>ab</sup>	0.988±0.004
5	0.035±0.001 <sup>cd</sup>	3.143±0.222 <sup>bcd</sup>	10.951±0.233 <sup>a</sup>	63.180±5.580 <sup>g</sup>	0.982±0.006
6	0.047±0.001 <sup>a</sup>	3.879±0.397 <sup>ab</sup>	9.560±0.671 <sup>abc</sup>	211.340±2.980 <sup>cd</sup>	0.994±0.000
7	0.029±0.000 <sup>d</sup>	2.518±0.211 <sup>de</sup>	8.205±0.113 <sup>bcd</sup>	271.750±1.980 <sup>a</sup>	0.996±0.001
8	0.043±0.005 <sup>ab</sup>	3.705±0.120 <sup>abc</sup>	9.105±0.028 <sup>abcd</sup>	214.330±2.970 <sup>cd</sup>	0.995±0.001
9	0.032±0.000 <sup>cd</sup>	4.324±0.490 <sup>a</sup>	10.195±0.098 <sup>a</sup>	62.190±2.730 <sup>g</sup>	0.994±0.003
10	0.028±0.000 <sup>d</sup>	3.069±0.080 <sup>bcd</sup>	9.492±0.212 <sup>abcd</sup>	73.070±3.540 <sup>g</sup>	0.991±0.005
11	0.038±0.002 <sup>bc</sup>	1.455±0.067 <sup>fg</sup>	7.700±0.071 <sup>cd</sup>	200.650±0.760 <sup>de</sup>	0.989±0.005
12	0.046±0.000 <sup>a</sup>	1.613±0.021 <sup>efg</sup>	7.105±0.028 <sup>e</sup>	203.730±4.950 <sup>de</sup>	0.987±0.008
13	0.029±0.000 <sup>d</sup>	1.618±0.071 <sup>efg</sup>	9.099±0.040 <sup>abcd</sup>	266.730±2.120 <sup>a</sup>	0.984±0.018
14	0.045±0.001 <sup>a</sup>	4.196±0.006 <sup>a</sup>	9.936±1.203 <sup>ab</sup>	218.790±2.040 <sup>c</sup>	0.992±0.001
15	0.048±0.000 <sup>a</sup>	3.637±0.534 <sup>abc</sup>	9.713±0.888 <sup>ab</sup>	202.890±0.930 <sup>de</sup>	0.993±0.002

\* Values followed by the same letter in a column are statistically different (p<0.05)

Table 3. Recovery model parameters of the mixed gum obtained from fitting of Eq.3\*

Sample No.	$Jr_0$ (Pa <sup>-1</sup> )	$Jr_1$ (Pa <sup>-1</sup> )	$tr_1$ (s)	$R^2$
1	56.790±0.620 <sup>c</sup>	55.790±0.630 <sup>c</sup>	39.030±0.550 <sup>a</sup>	0.989±0.003
2	248.890±0.250 <sup>b</sup>	248.070±0.080 <sup>b</sup>	21.602±0.790 <sup>b</sup>	0.993±0.002
3	357.060±0.100 <sup>a</sup>	356.680±0.420 <sup>a</sup>	18.080±0.000 <sup>b</sup>	0.993±0.002
4	357.400±0.580 <sup>a</sup>	356.200±0.030 <sup>a</sup>	19.090±0.020 <sup>b</sup>	0.988±0.004
5	56.890±1.170 <sup>c</sup>	55.740±0.860 <sup>c</sup>	39.900±1.320 <sup>a</sup>	0.991±0.007
6	249.610±0.680 <sup>b</sup>	249.030±0.020 <sup>b</sup>	20.280±0.000 <sup>b</sup>	0.994±0.000
7	356.860±0.070 <sup>a</sup>	356.300±0.060 <sup>a</sup>	21.090±0.390 <sup>b</sup>	0.996±0.001
8	249.140±0.070 <sup>b</sup>	248.050±0.040 <sup>b</sup>	19.610±0.330 <sup>b</sup>	0.995±0.001
9	58.180±0.070 <sup>c</sup>	55.180±0.080 <sup>c</sup>	40.230±0.803 <sup>a</sup>	0.994±0.003
10	56.440±0.070 <sup>c</sup>	55.570±0.350 <sup>c</sup>	37.180±2.820 <sup>a</sup>	0.996±0.002
11	249.604±0.020 <sup>b</sup>	248.570±0.780 <sup>b</sup>	21.090±0.050 <sup>b</sup>	0.989±0.005
12	249.002±0.060 <sup>b</sup>	248.040±0.000 <sup>b</sup>	21.470±0.540 <sup>b</sup>	0.992±0.001
13	357.205±0.180 <sup>a</sup>	356.530±0.480 <sup>a</sup>	18.480±0.340 <sup>b</sup>	0.992±0.006
14	253.420±6.120 <sup>b</sup>	252.190±5.880 <sup>b</sup>	19.080±0.140 <sup>b</sup>	0.992±0.001
15	249.510±0.450 <sup>b</sup>	248.530±0.750 <sup>b</sup>	21.050±0.330 <sup>b</sup>	0.993±0.002

\*\* Values followed by the same letter in a column are statistically different (p<0.05)

It was found that  $J_0$  values were smaller than  $J_1$  leading to higher viscoelastic behavior than elastic nature of gum mixtures. At the maximum concentration of CMC and GG solutions level (2.5 %),  $J_1$  values were higher due to intermolecular interaction between GG-CMC mixture depended strongly on the concentration of CMC and GG solutions. The interactive effects of significant variables were represented in contour plots as shown in Figure 3.

The maximum response is referred to a surface confined in the smallest ellipse in a contour plot. The perfect interaction between the independent variables can be shown when elliptical contours are obtained (11). Figure 3a shows that the effect of concentration of CMC and GG solutions and temperature on  $J_1$  with the interactive effect of

concentration of CMC and GG solutions and positive significant effect of temperature (Figure 3a). As shown in Figure 3a, the viscoelastic response,  $J_1$ , for high volumetric mixing ratio of GG was significantly increased as the temperature increased. Especially,  $J_1$  reached maximum value of 4.19 Pa<sup>-1</sup> (25 °C) at high concentration of CMC and GG solutions (2.5%) and GG ratio (25:75) in the mixture (Table 2). Higher content of GG caused an increase in the viscoelasticity by 7.55% when compared to CMC (Table 2, Samples 6 and 14). Moreover, increased temperature also provided an increasing effect on the viscoelasticity (Table 2, Samples 4 and 5). For creep phase parameter of  $J_1$ , the increase in the ratio of GG reinforced the viscoelastic structure of mixed gum by decreasing the viscosity especially at high concentration of 2.5(%) at 35 °C

as in Figure 3a. At 35 °C, maximum viscoelasticity was also observed with high mixing concentration ratio of 50:50 (Table 2, Sample 9). Hence, higher permanent deformation of mixed gum was obtained at high values of  $J_1$ .

When highly extend of GG in mixture, the viscoelasticity of gum mixture can be attributed

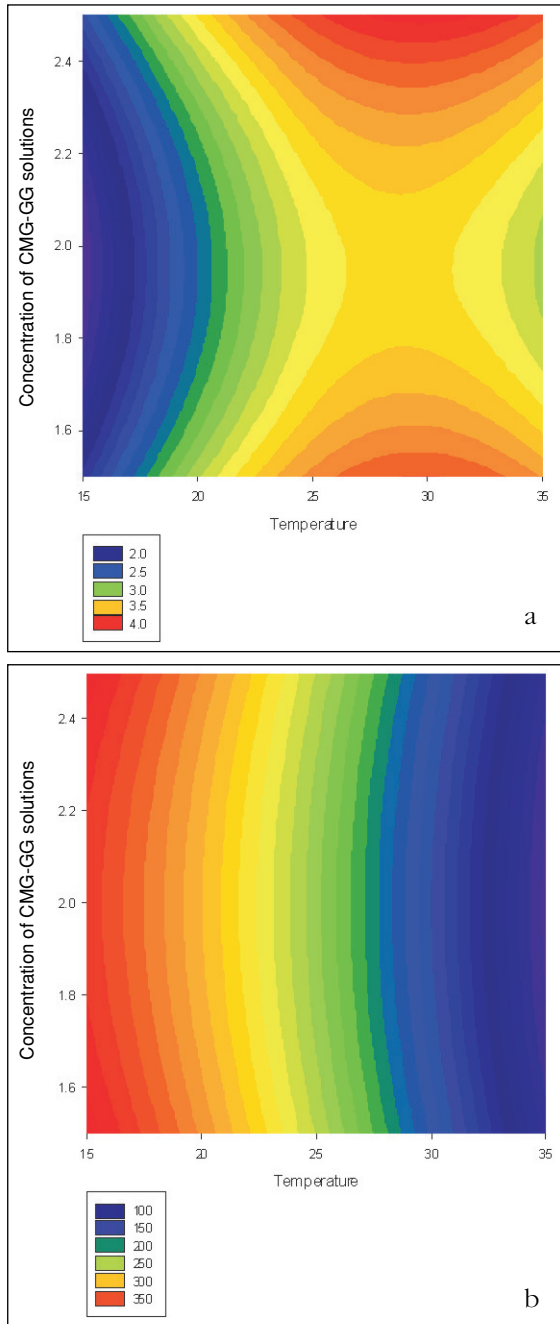


Figure 3. Contour plots showing interactive effect of concentration of CMC-GG solutions and temperature for a)  $J_1$ , b)  $Jr_1$  at constant volumetric mixing ratio gum ratio (25:75).

to entanglement network structure due to more elastic nature of GG than that of CMC. On the other hand, retardation time,  $t_1$  was directly related to viscoelastic properties which was similar to  $J_1$ . So, it has showed similar trends as in  $J_1$ . Increasing concentration of CMC and GG solution did not significantly change  $t_1$  ( $P>0.05$ ), but it was highly dependent on the mixed gum ratio.  $\eta_0$  gives the degree of zero shear rate viscosity of gum mixtures and was significantly changed with temperature.  $\eta_0$  values ranged at 62.19-266.73 (Pa.s) (Table 2). It was noted that  $\eta_0$  values decreased with increasing temperature (Sample 5 and 9, Table 2). A significant synergetic effect of CMC-GG mixture was also observed even at low concentration (1.5%) and the ratio of 50:50 mixture. Thus, the viscous behavior of CMC-GG solutions also increased up to 83 Pa.s at 35 °C (Table 2). However, it was found that gum mixtures showed higher  $\eta_0$  values which were expressed more stiff structure of gum mixture at 15 °C.

In recovery phase,  $Jr_0$  is related to the elastic nature of gum mixture, whereas  $Jr_1$  is related to the viscoelastic behavior of concentration of CMC and GG solutions (Table 3). These parameters showed the same trend in which their values considerably changed with temperature. Effect of CMC and GG solutions's concentration and temperature on  $Jr_1$  represented in Figure 3. Increasing temperature, recovery coefficients remarkably decreased due to viscous deformation of gum mixtures and irreversibly deformation of elastic chains between CMC-GG molecules. Also,  $tr_1$  values reached to higher values at 35 °C (Table 3). On the other hand, at low temperature, recovery was obtained at a shorter time after the applied deformation, and gum mixtures became more stiff structure. For example, at 15 °C, viscoelastic recovery coefficients amplified to the order of 350 Pa<sup>-1</sup> due to giving quick response of gum chains compared to 35 °C when the applied force removed at high volumetric mixing (CMC/GG) ratio in the mixture.

After the determination of the Burger model parameters of the CMC-GG mixed gum, Box-Benhken design was applied to model as a function of temperature, concentration of CMC and GG solutions, and volumetric mixing ratio (CMC/GG). Table 4 represents the established

predicted models, constants, coefficient of determination values ( $R^2$ ) and lack of fit values.  $R^2$  values of the creep model parameters for  $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$  and  $\eta_0$  values were in the range of 0.82-0.99, whereas  $R^2$  values of the recovered model parameters for  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values were in the range of 0.98-0.99. There was also insignificant lack of fit for all models. The degree of efficacy of varying process conditions on the burger parameters can be deduced by comparing the magnitude of the coefficients of the second order model (Table 4). Temperature is the most important factor with the highest coefficient 0.016, 0.0809, 1.049, 95.59, 150.01, 150.43 and 9.95 for  $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $\eta_0$ ,  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values, respectively (Table 4).

The standardized effect of the independent variables (concentration of CMC and GG solutions, temperature and volumetric mixing ratio (CMC/GG), quadratic effects and their interactions on Burger model parameters such as  $J_0$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $\eta_0$ ,  $Jr_0$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values was also visualized by Pareto chart (Figures 4a-g), in which the process variables below the vertical line are considered insignificant and those above the line with a negative sign also implied significant effect but in opposite mode. Thus, only temperature and gum concentration positively affected  $J_1$ ,  $t_1$  and  $tr_1$ , whereas only gum concentration had a positive effect on  $J_0$  (Figures 4a-g).

## CONCLUSIONS

Creep and recovery Burger model parameters of CMC-GG gum mixtures were analyzed with respect to temperature, concentration of CMC and GG solutions, and volumetric mixing ratio (CMC/GG). CMC-GG mixtures were also modeled

in order to characterize distinct elastic, viscoelastic and viscous behavior of gum mixture using response surface design method in terms of Burger model parameters. The model was confirmed that parameters from Burgers model could assist in explaining changes in rheological structures. All elastic coefficients were found smaller order than viscoelastic coefficients. Viscoelastic characteristics of gum mixture were more pronounced at higher ratio of GG indicating a higher regressed viscoelastic coefficients of GG than CMC especially in concentrated gum mixture. On the other hand, recovery coefficients were found highly temperature dependent due to higher contribution of viscous deformation of gum mixtures and irreversibly deformed elastic chains between GG-CMC molecules at high temperature.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Dr. Kerim Yapıcı at the Cumhuriyet University Nanotechnology Engineering Laboratory, Sivas, Turkey, for providing with stress controlled rheometer and all materials used in the experiments.

## REFERENCES

1. Tziboula A, Horne DS. 2000. Gums and Stabilisers for the Food Industry, 2nd ed., RSC: Cambridge.
2. Mohsenin NN, Mittal JP. 1977. Use of rheological terms and correlation of compatible measurements in food texture research. *J Texture Stud*, 8: 395-408.
3. Barnes HA, Hutton JF, Walters K. 1989. An Introduction to Rheology. *J Non-Newton Fluid Mech*, 32: 331-333.
4. Ferry JD. 1980. Viscoelastic properties of polymers, 3rd ed., John Wiley: New York.

Table 4. Predicted models,  $R^2$  values and lack of fit values for the parameters of CMC-GG mixed gums

Parameter	Predicted models	$R^2$	$R^2_{adj}$	$R^2_{pred}$	Lack of fit
$J_0$	$J_0=0.043-0.016A^2+0.004C^2+0.003B$	0.89	0.85	0.76	0.89 <sup>ns</sup>
$J_1$	$J_1=1.558+1.260B^2+1.035C^2+0.809A+0.471B$	0.93	0.89	0.79	0.27 <sup>ns</sup>
$t_1$	$t_1=7.469+1.793C^2+1.049A+0.717B$	0.82	0.77	0.70	0.16 <sup>ns</sup>
$\eta_0$	$\eta_0=199.02-39.390A^2+7.060B^2+5.760C^2-95.590A-10.810AB$	0.99	0.99	0.99	0.34 <sup>ns</sup>
$Jr_0$	$Jr_0=249.180-42.720A^2-150.010A$	0.99	0.99	0.99	0.09 <sup>ns</sup>
$Jr_1$	$Jr_1=248.220-42.840A^2-150.430A$	0.99	0.99	0.99	0.11 <sup>ns</sup>
$tr_1$	$tr_1=21.390+8.440A^2-1.170C^2+9.950A$	0.98	0.98	0.97	0.10 <sup>ns</sup>

ns: Not significant, A: Temperature, B: Concentration of CMC-GG solutions, C: Volumetric gum ratio

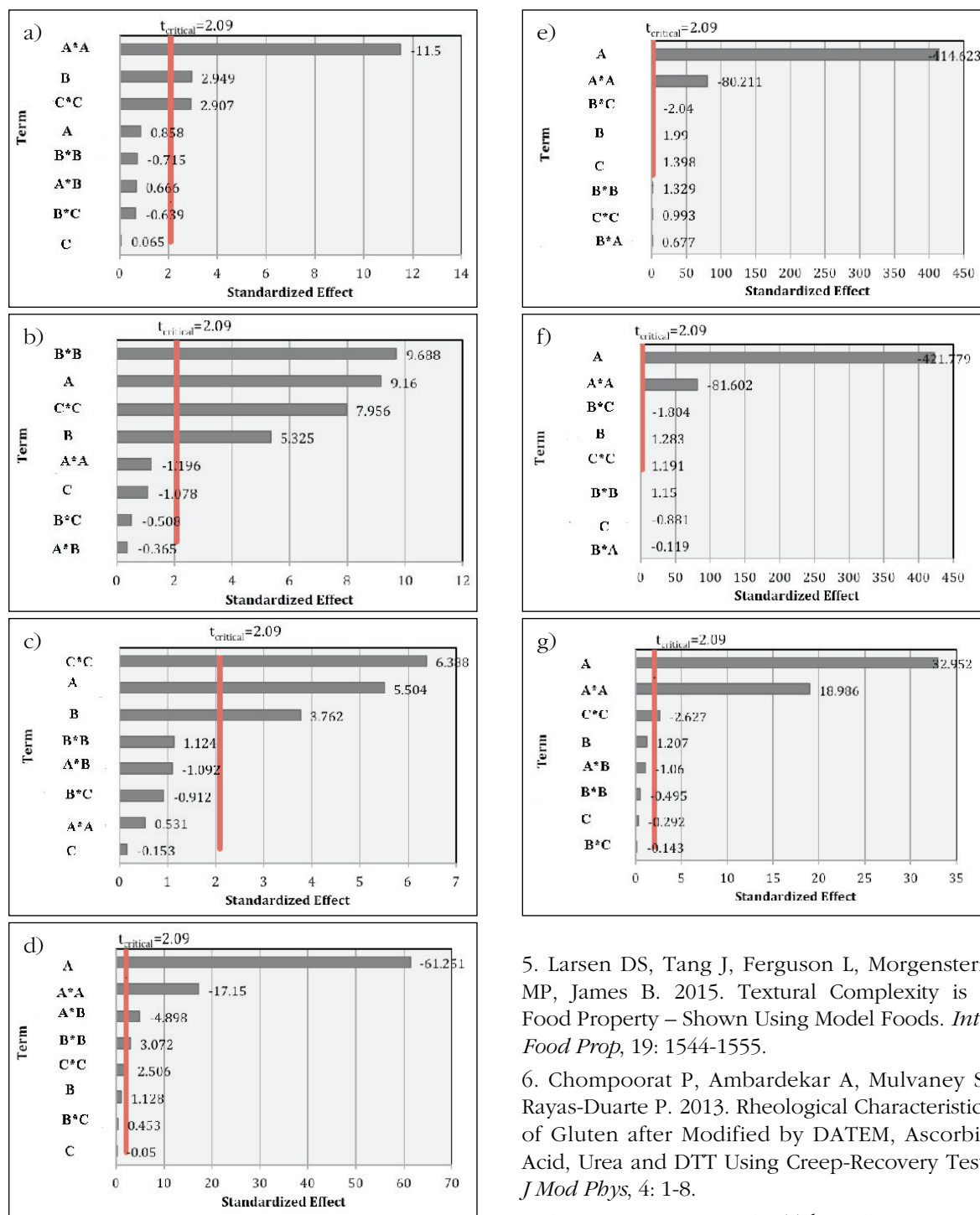


Figure 4. Pareto charts showing the standardized effects of temperature (A), concentration of CMC-GG solutions (B), and volumetric mixing ratio (C) (via T values) on Burger model parameters such as  $J_D$ ,  $J_1$ ,  $t_1$ ,  $\eta_D$ ,  $Jr_D$ ,  $Jr_1$  and  $tr_1$  values.

5. Larsen DS, Tang J, Ferguson L, Morgenstern MP, James B. 2015. Textural Complexity is a Food Property – Shown Using Model Foods. *Int J Food Prop*, 19: 1544-1555.

6. Chompoorat P, Ambardekar A, Mulvaney S, Rayas-Duarte P. 2013. Rheological Characteristics of Gluten after Modified by DATEM, Ascorbic Acid, Urea and DTT Using Creep-Recovery Test. *J Mod Phys*, 4: 1-8.

7. Dogan M, Ersoz NB, Toker OS, Kaya Y, Caniyilmaz E. 2014. Optimization of gum combination for instant pudding based on creep and recovery parameters by mixture design approach. *Eur Food Res Technol*, 238: 47-58.



8. Dogan M, Kayacier A, Toker ÖS, Yilmaz MT, Karaman S. 2013. Steady, dynamic, creep, and recovery analysis of ice cream mixes added with different concentrations of xanthan gum. *Food Bioprocess Tech*, 6: 1420-1433.
9. Uzuner S, Tezel GB, Cakmak KN. 2016. Effect of temperature, gum concentration and gum ratio on creep-recovery behaviour of carboxymethyl cellulose-guar gum mixtures: modeling with RSM and ANN. *Ital J Food Sci*, 28: 273- 288.
10. Burgers J. 1939. Mechanical considerations-model systems phenomenological theories of relaxation and of viscosity. First report on viscosity and plasticity, New York, Nordemann.
11. Das S, Ghosh A. 2006. Study of creep, stress relaxation, and inverse relaxation in mulberry (*Bombyx mori*) and tasar (*Antheraea mylitta*) silk. *J Appl Polym Sci*, 99: 3077-3084.
12. Zahangir AM, Suleyman AM, Rosmaziah W.2008. Statistical optimization of process conditions for cellulase production by liquid state bioconversion of domestic wastewater sludge. *Bioresour Technol*, 99: 4709-4716.



## **MAHLEP PÜRESİNİN KIZILÖTESİ IŞINIM İLE KURUTULMASI İŞLEMİNDE ANTOSİYANİN, FENOLİK MADDE VE ANTIOKSIDAN KAPASİTE DEĞİŞİM KİNETİĞİ**

**İzzet Türker, Hilal İşleroğlu\***

Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat, Türkiye

Geliş / Received: 21.02.2017; Kabul / Accepted: 27.04.2017; Online baskı / Published online: 13.05.2017

Türker, İ, İşleroğlu, H. (2017). Mahlep püresinin kızılötesi ışınlama ile kurutulması işleminde antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değişim kinetiği. *GIDA* (2017) 42 (4): 422-430 doi: 10.15237/gida.GD17034

### **Öz**

Bu çalışmada, mahlep püresi farklı sıcaklıklarda kızılötesi ışınlama ile kurutulmuş toplam antosiyanin, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitenin kuruma işlemi sırasında değişim kinetiği belirlenmiştir. Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite için birinci derece reaksiyon kinetiği oluşturularak reaksiyon hız sabitleri ( $k$ ,  $\text{dak}^{-1}$ ) 50-90°C sıcaklık aralığında belirlenmiş, yarı ömür süreleri ( $t_{1/2}$ ) ve aktivasyon enerjileri ( $E_a$ ) hesaplanmıştır. Ayrıca farklı koşullarda kurutulan örneklerin renk değişimleri belirlenerek toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim ile ilişkilendirilmiştir. Elde edilen verilere göre toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite için hız sabitleri sırasıyla 0.003-0.021, 0.001-0.006 ve 0.0009-0.005  $\text{dak}^{-1}$  aralığında hesaplanmıştır. Toplam antosiyanin parçalanma reaksiyonlarının yarı ömür sürelerinin, fenolik madde ve antioksidan kapasite yarı ömür sürelerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Aktivasyon enerjileri ise toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite için sırasıyla 48.46, 41.86 ve 37.42 kJ/mol olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Mahlep püresi, antosiyanin, fenolik madde, antioksidan kapasite, kızılötesi ışınlama

## **KINETICS OF ANTHOCYANINS, PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY CHANGES OF MAHALEB PUREE IN INFRARED DRYING PROCESS**

### **Abstract**

In this study, the kinetics of total anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant capacity changes in mahaleb puree were determined during an infrared drying process at different temperatures. Reaction rate constants, half-life times ( $t_{1/2}$ ) and activation energies ( $E_a$ ) for total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity were calculated using first order reaction kinetics at 50-90°C. Additionally, color changes of the samples dried at different conditions were determined and correlated with the total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity changes. According to the results, the reaction rate constants ( $k$ ,  $\text{min}^{-1}$ ) for total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity were calculated in the range of 0.003-0.021, 0.001-0.006 and 0.0009-0.005  $\text{min}^{-1}$ , respectively. It was observed that the half-life times of anthocyanin degradation reactions were lower than that of the phenolic compounds and antioxidant capacity. Activation energies for the total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity were determined as 48.46, 41.86 and 37.42 kJ/mol, respectively.

**Keywords:** Mahaleb puree, anthocyanin, phenolic compounds, antioxidant capacity, infrared radiation

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ hilal.isleroglu@gop.edu.tr,

☎ (+90) 356 252 1616/2888,

☎ (+90) 356 252 1729

## GİRİŞ

Mahlep (*Prunus mahaleb* L.), *Rosaceae* familyasına ait, ülkemizin bazı bölgelerinde doğal olarak yetişen, ağaç veya büyük çalı formunda bir bitkidir (Darıcı vd., 2016). Salkım halinde yetişen, küçük, küresel ve yüzeyi düz olan mahlep meyvesi tam olgunlaştığında koyu kırmızı veya siyah renkte olup, ekşi ve buruk bir tada sahiptir (Özbey vd., 2011). Mahlep meyvesi, antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler ve özellikle antosiyaninler bakımından oldukça zengin olması nedeniyle sağlık açısından olumlu özellikler taşımaktadır (Gerardi vd., 2016). Mahlep gibi yüksek oranda antosiyanin içeren ürünlerin tüketimi ile kalp krizi, şeker hastalığı, sinir sistemi hastalıkları ve kanser gibi kronik rahatsızlıkların önüne geçilebilmekte veya etkileri en aza indirilebilmektedir (Wallace, 2011; Tsuda, 2012).

Gıda endüstrisinde farklı kullanım alanları olan mahlep, meyve barları, meyve cipsleri veya pestil gibi sağlıklı atıştırma ürünü formülasyonlarında kullanım potansiyeline sahiptir. Meyve barları; meyve pulplarının, meyve tozlarının veya meyve pürelere şeker ve çeşitli katkı maddeleri (maltodekstrin, pektin, nişasta, sitrik asit gibi) ile karıştırılarak ince bir katman halinde kurutulması ve bu katmanların birleştirilerek uygun boyutlarda kesilmesi ile elde edilen, mineral madde, lif ve antioksidan bileşikler bakımından taze meyvelere göre daha konsantre ürünlerdir (Vijayanand vd., 2000; Orrego vd., 2014). Bu tarz ürünlerin kurutulmasında kullanılacak olan kurutma yöntemi ve kurutma işleminde sıcaklık-süre ilişkisi hem ürünün dokusal özellikleri hem de ürünündeki antosiyaninler gibi fenolik bileşiklerin parçalanması açısından oldukça önemlidir. Literatürde farklı gıdaların kurutulması işleminde antioksidan özelliklerin değişim kinetiği ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır ve yapılan çalışmalarda değişim reaksiyonları genellikle birinci derece reaksiyon kinetiği kullanılarak açıklanmıştır (Piga vd., 2003; Di Scala ve Crapiste, 2008; Mrad vd., 2012; Vega-Gálvez vd., 2012; Zhou vd., 2016). Ancak mahlep püresinin kurutulması işleminde toplam antosiyanin, fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitenin değişim kinetiğinin belirlendiği veya kızılötesi ışınlama ile kurutulduğu herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kızılötesi ışınlamanın, ürüne hızlı şekilde nüfuz edebilmesi, önemli oranda enerji tasarrufu sağlaması

ve besinsel kayıpların konvansiyonel yöntemlere oranla daha düşük olması gibi avantajları sayesinde meyve barları gibi sağlıklı atıştırma ürünlerinin üretiminde alternatif olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir (Nowak ve Lewicki, 2004; Özkoç, 2010; Pawar ve Pratapa, 2015; Riadh vd., 2015).

Bu çalışmada, farklı sıcaklık ve sürelerde kızılötesi ışınlama ile kurutulan mahlep püresinin, toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değişim kinetiği oluşturularak kinetik sabitler belirlenmiş ve ayrıca farklı kurutma koşullarında renk değişimi değerleri antioksidan özelliklerdeki değişim ile ilişkilendirilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Yapılan tüm analizlerde ticari olarak satın alınan, sadece meyve içeren ve başlangıç nem içeriği  $3.55 \pm 0.05$  kg su/kg kuru madde olan siyah mahlep (*Prunus mahaleb* L.) püresi kullanılmıştır.

### Kurutma işlemleri

Mahlep püresi örnekleri kızılötesi nem tayin cihazı (Shimadzu, MOC63U) kullanılarak 5 farklı sıcaklıkta (50, 60, 70, 80, 90°C) ve her sıcaklıkta 5 farklı sürede ince tabaka halinde kurutulmuştur. Kurutma işlemlerinde kullanılan cihazda ısıtma işlemi bir adet 400 W halojen lamba ile gerçekleştirilmiş olup cihazın ısıtıcı sıcaklık aralığı 50-200°C, maksimum kurutma kapasitesi 60 g ve güç tüketimi 430 VA'dır. Kurutma işlemleri, 14 g örnek kullanılarak her sıcaklıkta farklı sürelerde sonlandırılmış ve son nem içerikleri (kg su/kg KM) her sıcaklıkta belirlenen denge nem değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm kurutma işlemleri iki tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kurutulan örnekler analizler yapılmaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

### Toplam antosiyanin miktarının belirlenmesi

Farklı sıcaklık ve sürelerde kurutulan mahlep püresi örneklerinin toplam antosiyanin içeriği pH diferansiyel metodu kullanılarak belirlenmiştir (Giusti ve Wrolstad, 2000). 1 gram mahlep püresi örneği 10 ml asidik etanol ile karıştırılmış ve örneklere oda sıcaklığında 3 saat süre ile ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonunda tüm örnekler 6000 rpm hızında 15 dakika santrifüj

edilmiş ve berrak kısımlar toplanmıştır. 0.2 ml örnek, pH 1.0 için 3.8 ml KCl çözeltisi ile, pH 4.5 için 3.8 ml CH<sub>3</sub>COONa çözeltisi ile karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda örneklerin absorbansları 510 ve 700 nm dalga boylarında ayrı ayrı ölçülerek kaydedilmiştir. Örneklerin absorbans değerlerinden elde edilen A değeri Eşitlik (1), toplam antosiyanin konsantrasyonu ise Eşitlik (2) ile hesaplanmış ve mg siyanidin-3-O-glukosid/100 g kuru örnek cinsinden belirlenmiştir.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5} \quad 1$$

$$C = \frac{(A \times M_w \times D_f \times 1000)}{\epsilon} \quad 2$$

Burada, A<sub>510</sub> ve A<sub>700</sub> 510 ve 700 nm dalga boylarında okunan absorbans değerlerini, C, antosiyanin konsantrasyonunu (mg siyanidin-3-O-glukosid/100 g kuru örnek), M<sub>w</sub> siyanidin-3-O-glukosid'in moleküler ağırlığını (449.2 g/gmol), D<sub>f</sub> seyreltme faktörünü ve ε ise sönmüleme katsayısını (28800) ifade etmektedir.

### Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Farklı koşullarda kurutulan mahlep püresi örneklerinin toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir (Öztürk vd., 2014). 1 gram örnek 10 ml distile su ile karıştırılarak oda sıcaklığında 3 saat ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrasında örnekler santrifüj edilmiş (6000 rpm, 15 dakika) ve berrak kısımlar toplanmıştır. 40 µl örnek, 1.96 ml distile su ve 1 ml Folin-Ciocalteu çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışıma %2 (w/v) 2 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiş ve örnekler 2 saat süre ile karanlık bir ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda örneklerin absorbansı 760 nm dalga boyunda ölçülerek toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit/g kuru örnek olarak hesaplanmıştır.

### Antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Farklı koşullarda kurutulan mahlep püresi örneklerinde antioksidan kapasite tayini 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 1 gram örnek 10 ml distile su ile oda sıcaklığında 3 saat ekstrakte edildikten sonra santrifüj işlemi uygulanarak (6000 rpm, 15 dakika) berrak kısımlar toplanmıştır.

20 µl örnek, 80 µl distile su ve 3.9 ml DPPH çözeltisi (0.1 mmol/l metanol) ile karıştırılarak karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda örneklerin absorbansı 515 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Örneklerin antioksidan kapasitesi Troloks eşdeğeri olarak µmol Troloks/g kuru örnek cinsinden ifade edilmiştir (Saavedra vd., 2017).

### Antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değişim kinetiği

Kızılötesi ışınım ile farklı sıcaklık ve sürelerde kurutulan örneklerde toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitenin değişimi birinci derece reaksiyon kinetiği (Eşitlik 3) kullanılarak açıklanmıştır.

$$C = C_0 \exp(-kt) \quad 3$$

Burada, C<sub>0</sub> başlangıç toplam antosiyanin, fenolik madde veya antioksidan kapasiteyi temsilen Troloks konsantrasyonunu, C kurutma işlemleri sonundaki toplam antosiyanin, fenolik madde veya antioksidan kapasiteyi temsilen Troloks konsantrasyonunu, k (dak<sup>-1</sup>) ise birinci derece reaksiyon hız sabitini ifade etmektedir. Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite için her bir kurutma sıcaklığında yarı ömür (t<sub>1/2</sub>) süresi Eşitlik (4) ile hesaplanmıştır.

$$t_{1/2} = -\ln \frac{0.5}{k} \quad 4$$

Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim reaksiyonlarının sıcaklığa bağımlılık düzeyi Arrhenius eşitliği ile açıklanmıştır (Eşitlik 5).

$$k = k_0 e^{\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad 5$$

Burada, k<sub>0</sub> (dak<sup>-1</sup>) frekans faktörünü, E<sub>a</sub> aktivasyon enerjisini (kJ/mol), R ideal gaz sabitini (J/mol.K) ve T ise sıcaklığı (K) ifade etmektedir.

### Renk değişiminin belirlenmesi

Kurutma işlemleri sonucunda mahlep püresi örneklerinin renk değerleri (L\*, a\*, b\*), her örnekte dört farklı noktadan olacak şekilde ölçülmüş (Minolta Chromometer CR-300) ve renk değişimi değerleri (E) Eşitlik (6) kullanılarak hesaplanmıştır (CIE, 1978).

$$E = \frac{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}{6} \quad (6)$$

Burada,  $L_0^*$ ,  $a_0^*$  ve  $b_0^*$  değerleri örneklerin başlangıç renk değerlerini,  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri ise farklı koşullarda kurutma işlemi uygulanan örneklerin renk değerlerini göstermektedir.

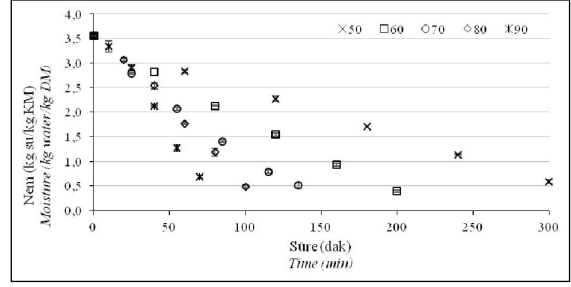
### Veri analizi

Tüm koşullarda kurutma işlemleri iki tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve kimyasal analizler her iki tekerrürden iki paralel olacak şekilde yapılmıştır. Standart sapma değerleri, regresyon katsayısı ( $R^2$ ) ve kinetik katsayılar doğrusal regresyon analizi ile Microsoft Office Excel 2016 kullanılarak hesaplanmıştır. Kinetik modellerin uygunluğu regresyon katsayısı ( $R^2$ ) ve bağıl yüzde sapma (%P, Eşitlik 7) kullanılarak belirlenmiştir. Renk değişimi değerleri ile toplam antosiyanin, fenolik madde veya antioksidan kapasite arasındaki ilişki Pearson korelasyon katsayıları %95 güven aralığında belirlenerek açıklanmıştır. Katsayılar SPSS 22.0 paket programı kullanılarak belirlenmiştir.

Burada,  $C_{ti}$  değerleri modelden tahminlenen toplam antosiyanin, fenolik madde veya antioksidan kapasiteyi temsilen Troloks konsantrasyonunu,  $C_{di}$  değerleri deneysel toplam antosiyanin, fenolik madde veya antioksidan kapasiteyi temsilen Troloks konsantrasyonunu, N ise toplam veri sayısını ifade etmektedir.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

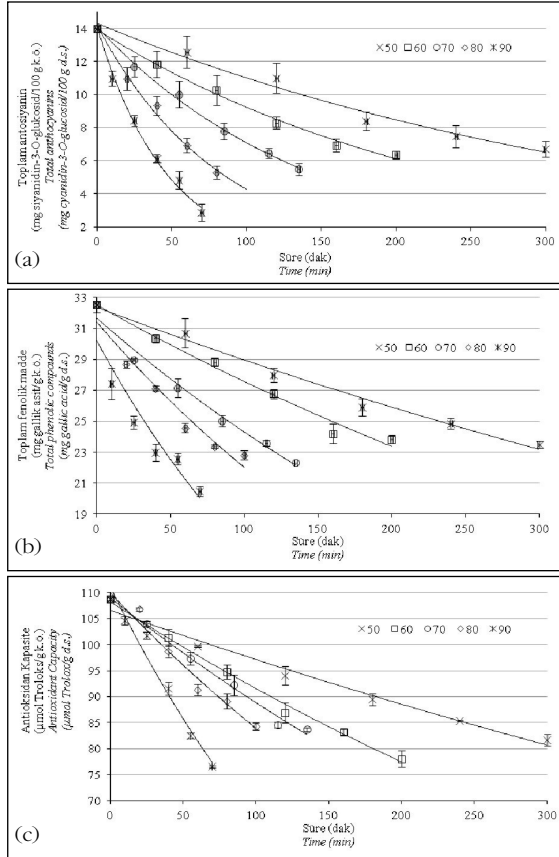
Ortalama başlangıç nem içeriği  $3.55 \pm 0.05$  kg su/kg KM olan mahlep püresi örneklerinin farklı sıcaklıklarda kurutma süreleri belirlenirken hemen hemen aynı nem içeriğine ( $0.532 \pm 0.09$  kg su/kg KM) ulaşma süreleri göz önüne alınmış ve kurutma işlemleri her sıcaklıkta farklı sürelerde olacak şekilde sonlandırılmıştır. Farklı koşullarda kurutulan örnekler için sonuç nem içerikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Yüksek kurutma sıcaklıklarında aynı nem içeriğine ulaşmak için gerekli olan sürenin daha kısa olduğu gözlenmiştir. 90°C kurutma sıcaklığında sonuç nem içeriğine ulaşmak için gereken sürenin, 50°C kurutma sıcaklığında aynı sonuç nem değerine ulaşmak için gerekli süreden yaklaşık 4.3 kat daha kısa olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. Farklı koşullarda kurutulan örneklerin nem içerikleri  
Figure 1. Moisture content of the samples dried at different conditions

Azalan nem içeriklerinde elde edilen örneklerin toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri belirlenmiş ve Şekil 2'de gösterilmiştir. Kurutulan örneklerin toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değerlerinin tüm sıcaklıklarda artan işlem süresi ile birlikte azaldığı belirlenmiştir. 90°C'de 70 dakika süre ile kurutma uygulanan örneklerin toplam antosiyanin, fenolik madde içerikleri ve antioksidan kapasitelerindeki azalışın, 50°C'de 300 dakika süre ile kurutulan örnekler göre sırasıyla yaklaşık % 27, % 9 ve % 5 daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Kurutma süresine bağlı olarak toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitenin değişimi birinci derece reaksiyon kinetiği ile açıklanmış ve değişim reaksiyonlarına ait reaksiyon hız sabitleri ( $k$ , dak<sup>-1</sup>) Çizelge (1)'de verilmiştir. Değişim kinetiğini açıklayan birinci derece kinetik modelin uygun olarak kabul edilebilmesi için bağıl yüzde sapma değerleri (%P) hesaplanmış (İsleroglu vd., 2012) ve tüm koşullarda %10'un altında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Şekil 2'de tüm değişim reaksiyonları için, birinci derece reaksiyon kinetiği ile modelden tahminlenen değerler de ayrıca gösterilmiş ve deneysel veriler ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Isıl işlem uygulanan farklı gıdalarda işlem süresine bağlı olarak toplam antosiyanin, fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitenin birinci derece reaksiyon kinetiğine uygun olarak azaldığı farklı çalışmalarda da bulgulanmıştır (Ahmed vd., 2004; Reyes ve Cisneros-Zevallos, 2007; Sadilova vd., 2007; Wang ve Xu, 2007; Kechinski vd., 2010; Nayak vd., 2011a; Henrquez vd., 2014; Öztürk vd., 2014). Yapılan bir çalışmada, kırmızı biberin sıcak hava ve kızılötesi ışınım ile kurutulması iş-



Şekil 2. Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değerleri, (a) antosiyanin, (b) fenolik madde, (c) antioksidan kapasite (çizgiler modelden tahminlenen değerleri temsil etmektedir)

Figure 2. Total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity values, (a) anthocyanins, (b) phenolic compounds, (c) antioxidant capacity (lines represents the predicted values)

leminde toplam fenolik madde ve antioksidan kapasitenin kurutma süresi ve sıcaklıktaki artış ile azaldığı belirlenmiş ve değişim birinci derece reaksiyon kinetiği ile açıklanmıştır. Ancak sıcak

hava ile kurutma işleminde uzun işlem sürelerinde fenolik madde miktarında artış gözlenmiş ve bu durum hüresel yapının parçalanması sebebiyle fenolik bileşiklerin açığa çıkmasına bağlanmış, kızılötesi ışınım ile kurutma işleminde ise herhangi bir artış görülmemiştir (Zhou vd., 2016). Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitenin değişimine ait kinetik hız sabitlerinin ( $k$ ,  $\text{dak}^{-1}$ ) artan sıcaklık ile arttığı belirlenmiştir (Çizelge 1). Kinetik sabitteki bu artış, parçalanma hızlarının sıcaklık ile arttığının bir ifadesidir. Fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim, pH, su aktivitesi, sıcaklık, süre, oksijen varlığı gibi uygulanan işlem ve depolama koşullarına bağlı olduğu kadar kurutulan materyalin fenolik madde profiline göre de değişiklik göstermektedir (Nicoli vd., 1999; Seeram vd., 2006; Vega-Gálvez vd., 2012). Antioksidan kapasitedeki azalma, doğal olarak bulunan antioksidan bileşiklerin parçalanmasına bağlı olduğu gibi Maillard reaksiyonlarının başlangıç aşamasında oluşan ve pro-oksidan özellik gösteren ürünlerinin oluşumu ile de ilişkilendirilmiştir (Nayak vd., 2015).

Fenolik madde ve antioksidan kapasite değişimine ait hız sabitlerinin yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Bu durum mahlep püresinde bulunan fenolik bileşiklerin çoğunlukla antioksidan aktiviteye sahip olduğunun bir göstergesidir. Yapılan bazı çalışmalarda ürüne uygulanan işlem sıcaklık ve süresinin artırılması ile birlikte fenolik madde miktarının azalmasına paralel olarak antioksidan kapasitenin de azaldığı belirtilmiştir (Garau vd., 2007; Deepa vd., 2007; Zhou vd., 2016; Saavedra vd., 2017). Ancak bazı çalışmalarda ürüne uygulanan ısı işlem sonucunda fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasitede artış belirlenmiştir (Dewanto vd., 2002a; Dewanto

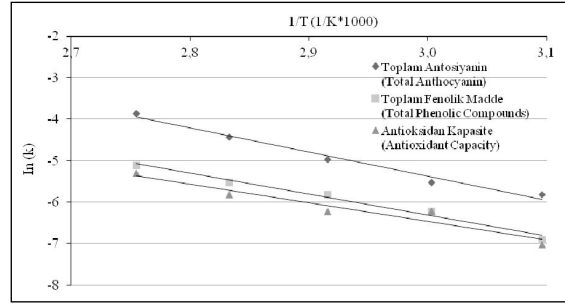
Çizelge 1. Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişime ait kinetik parametreler  
Table 1. Kinetic parameters of the total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity changes

Sıcaklık (°C) Temp. (°C)	Toplam Antosiyanin Total Anthocyanins				Toplam Fenolik Madde Total Phenolic Compounds				Antioksidan Kapasite Antioxidant Capacity			
	k	R <sup>2</sup>	%P	t <sub>1/2</sub>	k	R <sup>2</sup>	%P	t <sub>1/2</sub>	k	R <sup>2</sup>	%P	t <sub>1/2</sub>
	(dak <sup>-1</sup> ) k (min <sup>-1</sup> )		P%	(sa) t <sub>1/2</sub> (h)	(dak <sup>-1</sup> ) k (min <sup>-1</sup> )		P%	(sa) t <sub>1/2</sub> (h)	(dak-1) k (min <sup>-1</sup> )		P%	(sa) t <sub>1/2</sub> (h)
50	0.003	0.9802	6.16	3.8	0.001	0.9865	2.12	11.5	0.0009	0.9834	1.21	12.8
60	0.004	0.9910	2.28	2.9	0.002	0.9810	3.40	5.8	0.002	0.9946	3.20	5.8
70	0.007	0.9968	1.48	1.7	0.003	0.9838	2.86	3.8	0.002	0.9904	0.69	5.8
80	0.012	0.9914	2.41	0.9	0.004	0.9560	3.28	2.9	0.003	0.9737	2.46	3.9
90	0.021	0.9864	4.69	0.5	0.006	0.9128	4.20	1.9	0.005	0.9728	2.02	2.3

vd., 2002b; Sablani vd., 2010). Bu durum büyük moleküler ağırlıklı fitokimyasalların daha fazla sayıda küçük moleküler ağırlıklı bileşiklere parçalanması ile açıklanabilir (Nayak vd., 2011b). Farklı çalışmalarda ise fenolik madde miktarında düşüş gözlenmesine rağmen antioksidan kapasitede artış gözlenmiştir (Piga vd., 2003; Vega-Gálvez vd., 2009; Natella vd., 2010). Antioksidan kapasitedeki bu artış, gıdada doğal olarak bulunan antioksidanların azalmasına rağmen, proses sırasında antioksidan kapasiteye sahip melanoidinler gibi Maillard reaksiyonlarının ileri aşamalarında oluşan bileşiklerin varlığı ile açıklanmıştır (Vega-Gálvez vd., 2009). Ancak gerçekleştirilen bu çalışmada toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitede, uygulanan kurutma koşullarında herhangi bir artış gözlenmemiştir.

Bir diğer kinetik parametre olan yarı ömür süresi ( $t_{1/2}$ ), ürüne uygulanan işlem sonrasında madde konsantrasyonunun yarıya düşmesi için gereken süredir (Kırca ve Cemeröğlu, 2003). Toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite için  $t_{1/2}$  değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. Örneklerdeki toplam antosiyaninin yarı ömür süresi kurutma sıcaklığı 50°C'den 90 °C'ye çıkarıldığında ~7 kat azalmıştır. Yapılan bir çalışmada, mahlep meyvesinde bulunan antosiyaninlerin  $t_{1/2}$  değerlerinin 60, 70, 80 ve 90°C'de sırasıyla 16.1, 10.5, 7.4 ve 3.8 saat olduğu belirlenmiştir (Öztürk vd., 2014). Yarı ömür sürelerinin aynı sıcaklıklarda daha düşük belirlenmesinin sebebi ısıl işlemin uygulanma şeklidir. Gıdanın nem içeriği antosiyaninlerin stabilitesi için kararlı bir ortamın sağlanması açısından oldukça önemlidir (Nayak vd., 2015). Yarı ömür sürelerinin düşük olarak belirlenmesi, kızılötesi ışınlam ile örnekteki nemin hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasının suda çözünen antosiyaninler üzerinde olumsuz bir etki oluşturması ile açıklanabilir. Fenolik madde ve antioksidan kapasitenin yarı ömür sürelerinin kurutma sıcaklığı 50°C'den 90°C'ye çıkarıldığında ~6 kat azaldığı görülmüştür. Tüm kurutma sıcaklıklarında toplam antosiyaninin parçalanması için yarı ömür sürelerinin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite yarı ömür sürelerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu durum antosiyaninlerin yüksek ısıl duyarlılıkları ile açıklanabilir (Ahmed vd., 2004).

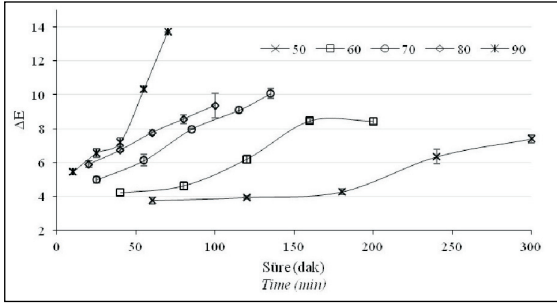
Mahlep püresinin kızılötesi ışınlam ile kurtulması işleminde toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim reaksiyonlarının sıcaklığa bağımlılığı Arrhenius eşitliği ile açıklanmış (Şekil 3) ve aktivasyon enerjileri ( $E_a$ ) hesaplanmıştır. Aktivasyon enerjileri, toplam antosiyanin için 48.46 kJ/mol, toplam fenolik madde için 41.86 kJ/mol ve antioksidan kapasite için 37.42 kJ/mol olarak belirlenmiştir. Belirlenen aktivasyon enerji değerlerinin literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Wang ve Xu, 2007; Öztürk vd., 2014). Toplam antosiyanin değişimi için elde edilen  $E_a$  değerinin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim için belirlenen değerlerden yüksek olması, antosiyaninlerin parçalanma reaksiyonlarının sıcaklığa bağımlılığının daha fazla olduğunu bir göstergesidir.



Şekil 3. Değişim reaksiyonlarının sıcaklığa bağımlılığı  
Figure 3. Temperature dependence of change reactions

Mahlep püresinin 50-90°C sıcaklık aralığında farklı sürelerde kurutulmasının örneklerdeki renk değişimine ( $E$ ) etkisi belirlenmiştir. Şekil 4'te görüldüğü gibi, kurutma süresinin ve sıcaklığın artırılması ile örneklerdeki renk değişimi artış göstermiştir. Mahlep meyvesinin koyu rengi sahip olduğu antioksidan özelliğe de sahip antosiyaninler gibi fenolik bileşikler ile ilişkilidir (Wu vd., 2004). Kurutma işlemi sırasında örnek rengi ile toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim arasında ilişki kurulabilir. Yapılan çalışmada  $E$  değerleri ile toplam antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasitedeki değişim arasında negatif bir korelasyon olduğu gözlenmiş ve korelasyon katsayıları sırasıyla -0.901, -0.886 ve -0.718 olarak belirlenmiştir ( $P < 0.01$ ).





Şekil 4. Farklı koşullarda kurutulmuş örnekler için renk değişimleri  
Figure 4. Color changes of the samples dried at different conditions

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı ürünleri tüketme talepleri göz önüne alındığında yüksek antioksidan kapasiteye sahip mahlep püresinin, meyve barları ve/veya meyve cipsleri gibi atıştırmalık ürünlerin üretiminde potansiyel bir hammadde olabileceği düşünülmektedir. Antioksidan bileşiklerin değişim kinetiğinin belirlenmesi ısı işlemlerinin optimizasyonunda gıdanın besinsel içeriğinin korunması açısından önem taşımaktadır. Elde edilen verilerin mahlep meyvesinin de kullanılabilmesi için yeni alternatif ürünlerin üretiminde işlem parametrelerinin belirlenmesine ışık tutacağı düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Ahmed, J., Shivhare, U.S., Raghavan, G.S.V. (2004). Thermal degradation kinetics of anthocyanin and visual colour of plum puree. *Eur Food Res Technol*, 218(6): 525-528.
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), (1978). Recommendations on uniform colorspaces-color equations, psychometric color terms. CIE, Paris., Supplement No.2 to CIE Publ. No.15 (E-1.3.L) 1971/9TC-1-3.
- Darıcı, M., Çelik, Z.D., Cabaroğlu, T. (2016). Mahlep şarabının aroma maddelerinin belirlenmesi. *GIDA*, 41(2): 107-113.
- Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., Kapoor, H.C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes during maturity. *LWT-Food Sci Technol*, 40(1): 121-129.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002a). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agr Food Chem*, 50(10): 3010-3014.
- Dewanto, V., Wu, X., Liu, R.H. (2002b). Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agr Food Chem*, 50(17): 4959-4964.
- Di Scala, K., Crapiste, G. (2008). Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. *LWT-Food Sci Technol*, 41(5): 789-795.
- Garau, M.C., Simal, S., Rossello, C., Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food Chem*, 104(3): 1014-1024.
- Gerardi, C., Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Leone, A., Lecci, R., Calabris, N., Carluccio, M.A., Blando, F., Mita, G. (2016). Anti-proliferative, anti-inflammatory and anti-mutagenic activities of a *Prunus mahaleb* L. anthocyanin-rich fruit extract. *J Funct Foods*, 27: 537-548.
- Giusti, M.M., Wrolstad, R.E. (2000). *Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy*. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, S. King (Chief ed.), Unit F2. 2, Ch. 2. Stockton Press, New York, pp. 1-14.
- Henrquez, C., Cerdova, A., Almonacid, S., Saavedra, J. (2014). Kinetic modeling of phenolic compound degradation during drum-drying of apple peel by-products. *J Food Eng*, 143: 146-153.
- Isleroglu, H., Kemerli, T., Sakin - Yılmaz, M., Güven, G., Özdekan, Ö., Üren, A., Kaymak - Ertekin, F. (2012). Effect of steam baking on acrylamide formation and browning kinetics of cookies. *J Food Sci*, 77(10): 257-263.
- Kechinski, C.P., Guimarães, P.V.R., Noreña, C.P.Z., Tessaro, I.C., Marczak, L.D.F. (2010). Degradation kinetics of anthocyanin in blueberry juice during thermal treatment. *J Food Sci*, 75(2): 173-176.
- Kırca, A., Cemeroglu, B. (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chem*, 81(4): 583-587.
- Mrad, N.D., Boudhrioua, N., Kechaou, N., Courtois, F., Bonazzi, C. (2012). Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. *Food Bioprod Process*, 90(3): 433-441.
- Natella, F., Belevi, F., Ramberti, A., Scaccini, C. (2010). Microwave and traditional cooking methods: effect of cooking on antioxidant capacity and phenolic compounds content of seven vegetables. *J Food Biochem*, 34(4): 796-810.

17. Nayak, B., Berrios, J.D.J., Powers, J.R., Tang, J. (2011a). Thermal degradation of anthocyanins from purple potato (Cv. Purple Majesty) and impact on antioxidant capacity. *J Agr Food Chem*, 59(20): 11040-11049.
18. Nayak, B., Liu, R.H., Berrios, J.D.J., Tang, J., Derito, C. (2011b). Bioactivity of antioxidants in extruded products prepared from purple potato and dry pea flours. *J Agr Food Chem*, 59(15): 8233-8243.
19. Nayak, B., Liu, R.H., Tang, J. (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains -a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55(7): 887-918
20. Nicoli, M.C., Anese, M., Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends Food Sci Tech*, 10(3): 94-100.
21. Nowak, D., Lewicki, P.P. (2004). Infrared drying of apple slices. *Innov Food Sci Emerg*, 5(3): 353-360.
22. Orrego, C.E., Salgado, N., Botero, C.A. (2014). Developments and trends in fruit bar production and characterization. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54(1): 84-97.
23. Özbey, A., Öncül, N., Yıldırım, Z., Yıldırım, M. (2011). Mahlep ve mahlep ürünleri. *JAFAG*, 28(2): 153-158.
24. Özkoç, S. (2010). Kızılötesi ve kızılötesi-kombinasyon ısıtma teknolojilerinin gıda işleme uygulamalarında kullanımı. *GIDA*, 35(3): 211-218.
25. Öztürk, I., Karaman, S., Baslar, M., Çam, M., Çalışkan, O., Sağdıç, O., Yalçın, H. (2014). Aroma, sugar and anthocyanin profile of fruit and seed of mahlab (*Prunus mahaleb* L.): Optimization of bioactive compounds extraction by simplex lattice mixture design. *Food Anal Method*, 7(4): 761-773.
26. Pawar, S.B., Pratape, V.M. (2015). Fundamentals of infrared heating and its application in drying of food materials: a review. *J Food Process Eng*, 40(1): 1-15.
27. Piga, A., Del Caro, A., Corda, G. (2003). From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *J Agr Food Chem*, 51(12): 3675-3681.
28. Reyes, L.F., Cisneros-Zevallos, L. (2007). Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple-and red-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chem*, 100(3): 885-894.
29. Riadh, M.H., Ahmad, S.A.B., Marhaban, M.H., Soh A.C. (2015). Infrared heating in food drying: an overview. *Drying Technol*, 33(3): 322-335.
30. Saavedra, J., C rdova, A., Navarro, R., D az-Calder n, P., Fuentealba, C., Astudillo-Castro, C., Toledo, L., Enrione, J., Galvez, L. (2017). Industrial avocado waste: Functional compounds preservation by convective drying process. *J Food Eng*, 198: 81-90.
31. Sablani, S.S., Andrews, P.K., Davies, N.M., Walters, T., Saez, H., Syamaladevi, R.M., Mohekar, P.R. (2010). Effect of thermal treatments on phytochemicals in conventionally and organically grown berries. *J Agr Food Chem*, 90(5): 769-778.
32. Sadilova, E., Carle, R., Stintzing, F.C. (2007). Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Mol Nutr Food Res*, 51(12): 1461-1471.
33. Seeram, N.P., Lee, R., Scheuller, H.S., Heber, D. (2006). Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem*, 97(1): 1-11.
34. Tsuda, T. (2012). Dietary anthocyanin - rich plants: biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Mol Nutr Food Res*, 56(1): 159-170.
35. Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Mart nez-Monz , J., Garc a-Segovia, P., Lemus-Mondaca, R., Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chem*, 132(1): 51-59.
36. Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodriguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., Lopez, J., Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chem*, 117(4): 647-653.



37. Vijayanand, P., Yadav, A.R., Balasubramanyam, N., Narasimham, P. (2000). Storage stability of guava fruit bar prepared using a new process. *LWT-Food Sci Technol*, 33(2): 132-137.
38. Wallace, T.C. (2011). Anthocyanins in cardiovascular disease. *Adv Nutr*, 2(1): 1-7.
39. Wang, W.D., Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *J Food Eng*, 82(3): 271-275.
40. Wu, X., Gu, L., Prior, R.L., McKay, S. (2004). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. *J Agr Food Chem*, 52(26): 7846-7856.
41. Zhou, L., Cao, Z., Bi, J., Yi, J., Chen, Q., Wu, X., Zhou, M. (2016). Degradation kinetics of total phenolic compounds, capsaicinoids and antioxidant activity in red pepper during hot air and infrared drying process. *Int J Food Sci Tech*, 51(4): 842-853.

## **NİĞDE'DE TÜKETİME SUNULAN PEYNİRLERDE AKAR VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI\***

**Mustafa Karatepe<sup>1</sup>, Cemalettin Bağcı<sup>1</sup>, Bilge Karatepe<sup>\*\*1</sup>,  
Tuğba Şenel<sup>2</sup>, Ayda Karadere<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bor Meslek Yüksekokulu, Bor, Niğde / Türkiye

<sup>2</sup>Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde / Türkiye

Geliş / *Received*: 14.02.2017; Kabul / *Accepted*: 08.04.2017; Online baskı / *Published online*: 17.05.2017

Karatepe, M., Bağcı, C., Karatepe, B., Şenel, T., Karadere, A. (2017). Niğde'de tüketime sunulan peynirlerde akar varlığının araştırılması. *GIDA* (2017) 42 (4): 431-436 doi: 10.15237/gida.GD17019

### **Öz**

Bu çalışma, Niğde peynirlerinde akar varlığının ortaya çıkarılması ve bölgenin akar enfestasyonu durumunun saptanması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, Haziran-Kasım 2011 tarihleri arasında Niğde'den toplam 226 adet peynir (61 adet kaşar ve 165 adet tulum) toplanmış ve akar varlığı yönünden incelenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen 226 adet peynir numunesinin 2 (%0.88)'sinde *Acarus siro* varlığı tespit edilmiştir. Akarların peynirlerdeki aylık prevalansı %0-2 arasında belirlenmiştir. Aylara göre *A. siro* prevalansı, Ağustos ayında %2, Eylül ayında %1.85 olarak saptanmış buna karşılık çalışma yapılan diğer aylarda enfestasyon tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, Niğde peynirlerinde akar varlığı ilk kez bu çalışma ile belirlenmiş ve incelenen peynirlerde %0.88 oranında akar saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Akar, *Acarus siro*, peynir, kaşar, tulum, Niğde

## **RESEARCH ON OCCURRENCE OF MITES IN CHEESE CONSUMED IN NIGDE**

### **Abstract**

The objective of this study is to detect the prevalence of mites in the cheese of Niğde and to determine the rate of the infestation in the region. The study examines the presence of mites in 226 cheese samples (61 Turkish kashar cheese samples and 165 tulum cheese samples) collected between June and November 2011. The results show that mites were detected in 2 (0.88%) out of 226 cheese samples tested. Monthly prevalence of mites was determined as between 0-2% in the cheeses. A prevalence was only detected in August (2%) and September (1.85%), whereas, in the other months infestation was not found. In conclusion, this study is the first one to identify the prevalence of mites in the cheese of Niğde. Also, the rate of mites in the cheese examined was established as 0.88%.

**Keywords:** Mite, *Acarus siro*, cheese, kashar cheese, tulum cheese, Niğde

\* Bu çalışma II. KOP Bölgesel Kalkınma Sempozyumu (23-24 Ekim 2014, Niğde)'nda sunulmuştur.

\*\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ bkaratepe@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 311 45 27,

☎ (+90) 388 311 84 37

## GİRİŞ

Akarlar, dünyanın her yerinde depolanmış gıda ürünleri için büyük bir problemdir. Peynir, jambon ve tahıl ürünleri gibi gıda maddeleri muhafaza süresince çok sayıda akar türü ile enfeste olabilmektedir (Soulsby, 1986; Özer vd., 1989; Kettle, 1992; Levinson vd., 1992; Wall ve Shearer, 2001; Sanchez-Ramos vd., 2007; Çobanoğlu, 2008; Çobanoğlu, 2009; Cevizci vd., 2010).

Depo ürünlerinde bulunan akarların büyük çoğunluğu Acaridae ailesinden *Tyrophagus putrescentiae*, *T. longior*, *Thyreophagus entomophagus*, *Acarus siro* ve *A. farris*, Suidasiidae ailesinden *Suidasia pontifica*, Pyroglyphidae ailesinden *Dermatophagoides pteronyssinus*, *D. farine*, *Euroglyphus maynei* ile Glycypagidae ailesinden *Glycypbagus domesticus*, *Lepidoglyphus destructor* ve *Gobieria fusca* türlerinden oluşmaktadır (Olsen, 1998; Mehlhorn, 2001; Thind ve Clarke, 2001).

Peynir en hassas gıda maddelerinden biridir. Akarlar peynirin yüzeyinde beslenip ürerlerken, ölü akarlar, dökülmüş deriler, yumurtalar, salgılar ve yiyecek parçaları peynir yüzeyinde birikir ve keskin nane kokulu açık kahverengi bir toz gibi görünürler. Ağır enfestasyonlarda bu birikinti kalınlığı 2cm veya daha fazla olabilir. Peynirler üzerinde akarların ürememesi için kontrol önlemleri alınmazsa peynirlerin ağırlık kaybı %25 oranında artabilir (McClymont Peace, 1983). Peynirlerin küflü gibi görünen kahverengi-sarı tozlu yüzeyinden veya oyuklu kısımlarından yapılan mikroskopik muayenelerinde akar taşıdıkları tespit edilebilmektedir (Tiğın ve Özer, 1971).

Dünyada peynir akarları ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda; Sanchez-Ramos vd. (2007), sabit ısı ve %90 relatif rutubette peynir akarlarından *Acarus farris* ve *Tyrophagus neiswanderi*'nin gelişme ve yaşamasını incelemiş, her iki türün gelişmesi için ideal sıcaklığı 27-28°C, gelişme oranlarını ise peynir olgunlaştırma odalarının daha düşük ısı derecelerinde *A. farris*'i *T. neiswanderi*'den daha yüksek yaygınlıkta tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Sanchez-Ramos ve Castanera (2009), Cabrales peynirlerinde *A. farris* akarının kontrolü için yaptıkları çalışmalarında peynirin satış ve tüketim sırasında buzdolabında tutulması ile akar oranında azalma sağlanacağı ve peynirin kalite kayıplarından korunabileceğini

belirtmişlerdir. Palyvos vd. (2008), Yunanistan'da depolanmış ürünlerle ilişkili akarları incelemiş ve depolanmış ürünlerin bütün tiplerinin oldukça yüksek akar varlığı gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Türkiye'de de peynir akarları ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. İç ortam alerjenlerinin en önemli kaynaklarından biri olan akarlar ile ilgili ülkemizde ilk kez Mimioğlu (1959) ve Oytun (1969) kaşar peynirlerinde *Tyraglyphus farinea*'nın zararından söz etmişlerdir. Tiğın ve Özer (1971), kaşar peynirlerinde *Acarus siro* ve *Caloglyphus rhizoglyphoides* türlerinin varlığını saptamışlar ve akar istilasına uğramış peynirlerde yanık lezzeti ile kahverengi sarımsı bir toz saptadıklarını bildirmişlerdir. Çobanoğlu ve Toros (1988), kaşar peynirlerinde *Acarus immobilis*, *Tyrophagus longior* ve *Glycophagus domesticus* türlerinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Umur (1995), eski ve yılanmış kaşarlarda, Yaman vd. (2000), küflü ve tulum peynirlerinde, Aygün vd. (2007) geleneksel civil peynirinde *Acarus siro* varlığı saptamışlardır. Bunun yanında Aygun vd. (2007) Sürk peynirinde *Tyrophagus putrescentiae*'nin varlığını saptadıklarını belirtmişlerdir.

Niğde'de yapılan bu çalışma ile tüketime sunulan peynirlerde akar varlığının ortaya çıkarılması ve bölge peynirlerinin akarlar açısından durumunun saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Çalışma Alanı

Niğde karasal iklime sahip olduğundan, genel iklim özelliği, yazları sıcak ve kurak, kışları soğuk ve kar yağışlıdır. Niğde kuzey yarım kürenin orta kuşağında bulunmakta, en sıcak ay ortalaması Temmuz ayına ve en soğuk ay ortalaması ise Ocak ayına rastlamaktadır. Niğde ilinde 2011 yılı ortalama sıcaklık 10.7°C ve nispi nem %59.1'dir.

### Saha Çalışması

Bu çalışmanın araştırma materyalini, Niğde'de satışa sunulan peynir türleri oluşturmuştur. Bu amaçla, Haziran-Kasım 2011 tarihleri arasında toplam 226 adet peynir (61 adet kaşar ve 165 adet tulum) temin edilmiş ve akar varlığı yönünden incelenmişlerdir. Numune alınırken peynirlerin özellikle kokuşmuş, renk değişikliğine uğramış ve küflenmiş kabuk kısımları tercih edilmiştir.

Bu çalışmada; Haziran 2011'de 34 adet, Temmuz 2011'de 24 adet, Ağustos 2011'de 50 adet, Eylül 2011'de 54 adet, Ekim 2011'de 40 adet ve Kasım ayında da 24 adet peynir olmak üzere toplam 226 adet peynirin muayenesi yapılmıştır.

### Laboratuvar Çalışması

Protokol numaraları verilen her bir adet peynir numunesi naylon poşet içerisine konup etiketlenmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Toplanan örneklerin küflü ve renk değişikliğine uğramış kısımlarından yaklaşık 5 gr örnek bisturi ile kazınarak alınmış ve petri kutularına ayrı ayrı konularak ezilmiştir. Bu petri kutularına laktofenol çözeltisi (44 ml laktik asit, 44 gr kristal fenol, 88 ml gliserin ve 88 ml distile su ile hazırlanan) ilave edilerek üzerleri kapatılmış ve 24 saat şeffaflaşmaya bırakılmıştır. Daha sonra petri kutuları stereo-mikroskop (Nikon SMZ-745T Zoom Trinocular Stereo Microscope) altında incelenerek tespit edilen akarlar lam-lamel arasına alınarak Kanada balzamu ile yapıştırılmıştır. Elde edilen preparatlar stereo-mikroskop altında incelenerek akarların tür tayinleri yapılmış (Hughes, 1976; Lee ve Choi, 1980) ve önemli kısımları ölçülerek fotoğrafları çekilmiştir.

### BULGULAR

Çalışma sonucunda incelenen 165 adet tulum peynirinin 1 tanesinde ve 61 adet kaşar peynirinin 1 tanesinde olmak üzere toplam 226 adet peynir örneğinin sadece 2 (%0.88) tanesinde 8 dişi ve 7 erkek olmak üzere toplam 15 adet *Acarus siro*'nun erişkin dönemi ve 2 adet nimf dönemine rastlanmıştır. Bunun yanında incelenen numunelerde *A. siro*'nun yumurtaları belirlenirken larvaları tespit edilememiştir. Akarların peynirlerdeki aylık prevalansı %0-2 arasında değişiklik

göstermektedir. Aylara göre *A. siro* prevalansı, Ağustos ayında %2, Eylül ayında %1.85 olarak saptanmış buna karşılık çalışma yapılan diğer aylarda enfestasyon tespit edilmemiştir (Çizelge 1).

Çalışmada, Haziran-Kasım ayları arasında toplam 226 adet peynir numunesinin incelenmesi sonucunda Ağustos ve Eylül ayı peynir numunelerinde 1'er adet olmak üzere toplam 2 peynir numunesinde akar varlığı belirlenmiş ve lam-lamel arası preparatlara dönüştürülmüştür.

Erkek *A. siro*'ların büyüklüğü ortalama 430x206µm olarak ölçülmüştür. Birinci çift bacakların kalın olduğu ve femurun ventral yüzünde mahmuz şeklinde belirgin bir çıkıntının ve 4. çift bacakların tarsuslarında birbirine yakın iki küçük çekmenin bulunduğu saptanmıştır (Şekil 1). Ventral yüzde 3. ve 4. tarsuslar hizasında genital açıklık belirlenmiştir. Vücudun arka kısmı yuvarlak ve 2 çift uzun, 2 çift kısa kıl taşımaktadır (Şekil 2).



Şekil 1. *Acarus siro* (erkek)  
Figure 1. *Acarus siro* (male)

Çizelge 1. Peynirlerde akar varlığının aylara göre prevalansı

Table 1. The prevalence of presence of mite in cheese in terms of month

Aylar Months	Muayene Edilen Peynir Sayısı Number of Cheese Examined	Enfeste Peynir Sayısı Number of Cheese Infested	Enfestasyon Oranı (%) Infestation rate (%)
Haziran June	34	0	0
Temmuz July	24	0	0
Ağustos August	50	1	2
Eylül September	54	1	1.85
Ekim October	40	0	0
Kasım November	24	0	0
<b>TOPLAM TOTAL</b>	<b>226</b>	<b>2</b>	<b>0.88</b>



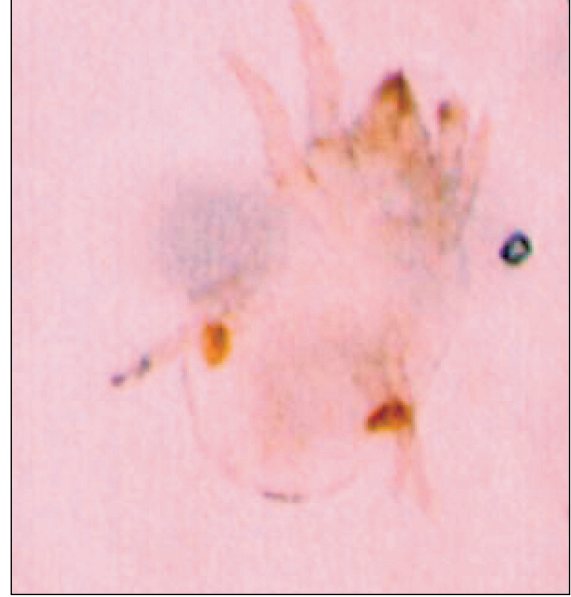
Şekil 2. *Acarus siro* (erkek)  
Figure 2. *Acarus siro* (male)

Dişi *A. siro*'ların büyüklüğü ortalama 571x243µm olarak ölçülmüş ve erkeklerden daha büyük olduğu ve vücut içerisinde genellikle yumurta taşıdığı görülmüştür. Genital açıklık erkek genital açıklığına oranla biraz daha uzun ve genital kıvrımla örtülü olarak 3. ve 4. çift bacaklar hizasında ve merkezde yer aldığı görülmüştür. Erkeklerin 1. çift bacak femurunda görülen mahmuz şeklindeki çıkıntı dişilerde bulunmamaktadır. Erkeklerde 4. çift bacakların tarsuslarında görülen çekmenlerin yerinde dişilerde kıllar yer almıştır (Şekil 3).

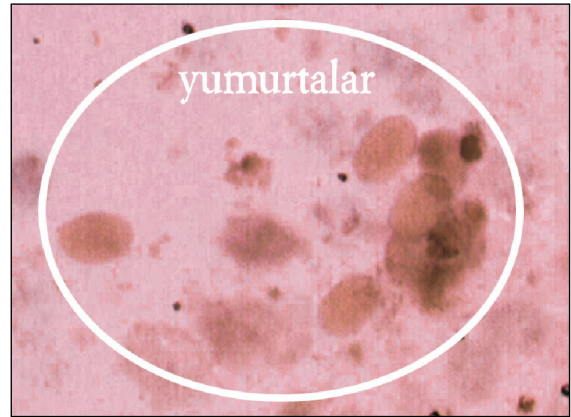


Şekil 3. *Acarus siro* (dişi)  
Figure 3. *Acarus siro* (female)

Nimflerin büyüklüğü ortalama 261x153µm (Şekil 4), yumurtaların büyüklüğü ise ortalama 106x66µm olarak ölçülmüştür (Şekil 5).



Şekil 4. *Acarus siro* (nimf)  
Figure 4. *Acarus siro* (nymph)



Şekil 5. *Acarus siro* (yumurta)  
Figure 5. *Acarus siro* (egg)

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye, peynir üretimi ve tüketimi yönünden bölgelerine göre çeşitlilik gösteren bir ülkedir. Peynir akarları ile ilgili yapılmış çalışmalarda pek çok akar türü tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda; Mimioğlu (1959) ve Oytun (1969) kaşar peynirlerinde *Tyraglyphus farinea*'nın zararından söz etmişler, Tiğın ve Özer (1971),

piyasada satılan kaşar peynirlerinde Tyroglyphidae ailesine bağlı iki cins akar (*Acarus siro* ve *Caloglyphus rhizoglyphoides*), Çobanoğlu ve Toros (1988), çeşitli kamu kurumlarında kaşar peynirlerinde *Acarus immobilis*, *Tyrophagus longior* ve *Glycophagus domesticus*, Umur (1995), Kars yöresinde 120 eski kaşarın 102 (%85)'inde *A. siro*, Yaman vd. (2000), Konya'da 290 küflü peynirin 30 (%10.34)'unda ve 122 tulum peynirinin 4 (%3.27)'ünde *A. siro*, Aygün vd. (2007) Erzurum'da tüketime sunulan 200 adet geleneksel civil peynirinin sadece birinde (%0.05) *A. siro*, Aygun vd. (2007) Hatay yöresinde özel bir çeşit çökelekte 450 örneğin 38 (%8.44)'inde *Tyrophagus putrescentiae*'nin varlığını saptadıklarını belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise incelenen 226 adet peynir numunesinin 2 (%0.88)'inde akar varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuç Türkiye'de yapılan çalışmalardan; Umur (1995)'un Kars yöresinde tespit ettiği %85'lik, Yaman vd. (2000)'nin Konya'da belirlediği %10.34'lük ve Aygun vd. (2007)'nin Hatay yöresinde saptadığı %8.44'lük prevalans oranlarından daha düşük olarak bulunmuş olup, Aygün vd. (2007)'nin Erzurum'da belirledikleri %0.05'lik oran ile uyum göstermektedir. Aygün vd. (2007) yaptıkları bu çalışmada Erzurum ilinde satışa sunulan toplam 200 adet Civil peyniri örneği depo akarları bakımından incelemiş ve alınan peynir örneklerinin sadece bir tanesinin *Acarus siro* ile enfeste olduğunu bildirilmişlerdir. Araştırmacılar Civil peynirlerinde akar enfestasyon oranının kaşar, küflü peynir ve tulum peynirlerinde bildirilen oranlara kıyasla daha düşük olmasını Erzurum ilinin iklim koşullarının akarların gelişimi için gerekli olan nem ve sıcaklığa sahip olmaması ile ilişkilendirmektedirler. Niğde'de yapılan bu çalışmada da akarların peynirlerdeki aylık prevalansı %0-2 arasında oldukça düşük düzeylerde belirlenmiş olup sadece Ağustos (%2) ve Eylül (%1.85) aylarında akar varlığı saptanmış buna karşılık çalışma yapılan diğer aylarda enfestasyon tespit edilmemiştir. Bu durum, Niğde ilinin sahip olduğu sıcaklık ve nispi nemin (Niğde ilinde 2011 yılı ortalama sıcaklık 10.7 °C ve nispi nem %59.1 olarak belirlenmiştir) akar gelişimi için uygun olmadığını düşündürmektedir. Bunun yanında peynirlerin üretim ve depolama koşullarında hijyenik kurallara uyulması da yörede belirlenen düşük enfestasyon oranı ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak, bu araştırma, Niğde'de kaşar ve tulum peynirlerinde akar varlığını gösteren ilk çalışmadır. Akar kaynaklı hastalıklar astım, dermatit, konjunktivit, sindirim sistemi hastalıkları, idrar yolları hastalıkları, sistemik anafeksi ve çeşitli alerjik rahatsızlıklar olup bunlar insan sağlığı açısından dikkate alınması gereken durumlardır (Cevizci vd., 2010). Ayrıca akar enfestasyonları peynirlerin görünümünde bozulmalara ve satışları sırasında problemlere neden olmaktadır (Çobanoğlu ve Toros, 1988). Niğde peynirlerinde akar enfestasyonunun düşük bulunması (%0.88) bu peynirlerin depo akarları yönünden güvenilir olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte akarların insan sağlığındaki olumsuz etkileri göz önüne alındığında, peynir yapımında çalışan personelin eğitimi ve bilinçlendirilmesi yapılmalı, peynirlerin üretiminde, depolama ve pazarlama zincirinde nem ve sıcaklık oranı ayarlanarak gerekli hijyenik şartlara uyulmalıdır. Bunun yanında yöredeki peynirlerde akar enfestasyonunun insan sağlığı ile olan ilişkisinin ortaya konulabilmesi için daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

#### TEŞEKKÜR

Bu proje, Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: SSB 2011/01) tarafından desteklenmiştir.

#### KAYNAKLAR

1. Aygun, O., Yaman, M., Durmaz, H. (2007). A survey on occurrence of *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) in Surk, a traditional Turkish dairy product. *J Food Eng*, 78, 878-881.
2. Aygün, O., Yaman, M., Durmaz, H. (2007). Erzurum'da tüketime sunulan geleneksel civil peynirinde akar varlığının araştırılması. *Fırat Üniv Sağlık Bil Derg*, 21, 41-43.
3. Cevizci, S., Gökçe, S., Bostan, K., Kaypmaz, A. (2010). Depo gıdalarını ve peynirleri enfeste eden akarlar halk sağlığı açısından bakış. *Türk Parazit Dergisi*, 34, 191-199.
4. Çobanoğlu, S., Toros, S. (1988). Kaşar peynirlerinde zararlı akarlar. *GIDA*, 13, 409-415.
5. Çobanoğlu, S. (2008). Mites (Acari) associated with stored apricots in Malatya, Elazığ and İzmir provinces of Turkey. *Trk Entomol Derg*, 32, 3-20.



6. Çobanoğlu, S. (2009). Mite Population Density Analysis of Stored Dried Apricots in Turkey. *Int J Acarol*, 35, 67-75.
7. Hughes, A.M. (1976). *The Mites of Stored Food and Houses*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Technical Bulletin No: 9. 400 pp., Her Majesty's Stationery Office, London 400p.
8. Kettle, D.S. (1992). *Medical and Veterinary Entomology*, CAB International Wallingford, UK, 655p.
9. Lee, W.K., Choi, W.Y. (1980). Studies on the mites (Order Acarina) in Korea. *Korean J Parasitol*, 18, 119-144.
10. Levinson, H.Z., Levinson, A.R., Offenberger, M. (1992). Effect of dietary antagonists and corresponding nutrients on growth and reproduction of the flour mite (*Acarus siro* L.). *Experientia*, 48, 721-729.
11. McClymont Peace, D. (1983). Reproductive success of the mite *Acarus siro* L. on stored cheddar cheese of different ages. *J Stored Prod Res*, 3, 97-104.
12. Mehlhorn, H. (2001). *Encyclopedic Reference of Parasitology*, Second Edition, Biology, Structure, Function, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 667p.
13. Mimioğlu, M.M. (1959). *Genel ve Özel Artropodoloji (Tıbbi Entomoloji)*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 111s.
14. Olsen, A.R. (1998). Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials, II. Allergenic mites: An emerging food safety issue. *Regul Toxicol Pharmacol*, 28, 190-198.
15. Oytun, H.Ş. (1969). *Tıbbi Entomoloji*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 218s.
16. Özer, M. Toros, S. Çobanoğlu, S., Çınarlı S., Emekçi, M. 1989. İzmir ili ve çevresinde depolanmış hububat, un ve mamülleri ile kuru meyvelerde zarar yapan Acarina takımına bağlı türlerin tanımı, yayılışı ve konukçuları. *Doğa Bilim Derg Tarım ve Ormancılık*, 13, 1154-1189.
17. Palyvos, N.E., Emmanouel, N.G., Saitanis, C.J. (2008). Mites associated with stored products in Greece. *Exp Appl Acarol*, 44, 213-226.
18. Sanchez-Ramos, I., Castanera, P. (2009). Chemical and physical methods for the control of the mite *Acarus farris* on Cabrales cheese. *J Stored Prod Res*, 45, 61-66.
19. Sanchez-Ramos, I., Alvarez-Alfageme, F., Castanera, P. (2007). Development and survival of the cheese mites, *Acarus farris* and *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae), at constant temperatures and 90% relative humidity. *J Stored Prod Res*, 43, 64-72.
20. Soulsby, E.J.L. (1986). *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, Seventh Edition, Bailliere Tindall.
21. Thind, B.B., Clarke, P.G. (2001). The occurrence of mites in cereal-based foods destined for human consumption and possible consequences of infestation. *Exp Appl Acarol*, 25, 203-215.
22. Tiğın, Y., Özer, İ. (1971). Kaşar peynirlerinde bulduğumuz akarlar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 18, 418-431.
23. Umur, Ş. (1995). Kars ili kaşar peynirlerinde *Acarus siro*'nun yaygınlığı. *Türk Parazit Dergisi*, 19, 576-582.
24. Wall, R. Shearer, D. (2001). *Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control*. Blackwell Science Ltd. Oxford, London.
25. Yaman, M., Sevinç, F., Altınöz, F., Uslu, U. (2000). Küflü peynirlerde ve tulum peynirlerinde *Acarus siro* varlığının araştırılması. *Türk Parazit Dergisi*, 24, 313-316.

## **ZEOLİT YATAK İLE MODİFİYE EDİLMİŞ VAKUM FIRINDA DOMATES SALÇASI ÜRETİMİ**

**Zeynep Atak<sup>1</sup>, Ulaş Baysan<sup>1</sup>, Esra Devseren<sup>1</sup>, Dilara Tomruk<sup>1</sup>,  
Mehmet Koç<sup>2</sup>, Haluk Karataş<sup>3</sup>, Figen Kaymak-Ertekin<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

<sup>3</sup>Arçelik A.Ş., Ar-Ge Merkezi, İstanbul

Geliş / *Received*: 30.11.2016; Kabul / *Accepted*: 03.05.2017; Online baskı / *Published online*: 17.05.2017

Atak, Z., Baysan, U., Devseren, E., Tomruk, D., Koç, M., Karataş, H., Kaymak Ertekin, F. (2017). Zeolit yatak ile modifiye edilmiş vakum fırında domates salçası üretimi, *GIDA* (2017) 42 (4): 437-446 doi: 10.15237/gida.GD16103

### **Öz**

Dünya genelinde ve ülkemizde sıklıkla tüketilen domates salçası, gıda endüstrisinde vakum altında ısıl işlem uygulamasının en yaygın kullanıldığı ürünlerden biridir. Bu çalışmada domates salçası üretimi için laboratuvar ölçeğinde tasarlanan, adsorbent madde olarak küre zeolit ile modifiye edilen sistem içerisinde vakum altında ve atmosferik basınçta evaporasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Domates salçasının kalitesi üzerine evaporasyon tekniğinin etkisi, CCRD (Merkezi Tümleşik Tasarım) ile oluşturulan deneme deseni kullanılarak karşılaştırılmıştır. Evaporasyon işlem değişkenleri olarak sıcaklık (66-94°C) ve süre (2.4-6.6 saat) seçilmiştir. Farklı işlem koşullarında üretilen domates salçası örneklerinde Briks, renk, siyah benek, pH, likopen değişimi ve duyu kalite analiz edilmiştir. Briks, renk, siyah benek miktarı, likopen ve duyu kalite için genel olarak sıcaklık ve sürenin artışı, belirtilen kriterlerin sayısal değer artışında önemli rol oynamıştır. pH değerlerinde ise işlem değişkenlerinin etkisi görülmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Domates salçası, modifiye vakum fırın, alternatif pişirme teknikleri, likopen

## **TOMATO PASTE PRODUCTION IN THE MODIFIED VACUUM OVEN WITH ZEOLITE BED**

### **Abstract**

Tomato paste, which is frequently consumed in our country and throughout the world, is one of the products that are produced through the heat treatment under vacuum in the food industry. In this study, tomato paste production was carried out in laboratory scale modified system with spherical zeolite as adsorbent not only under vacuum but also at atmospheric condition. The effects of evaporation techniques were compared using the experimental design generated by CCRD (Central Composite Rotatable Design) with respect to tomato paste quality. Temperature (66-94°C) and time (2.4-6.6 hours) were selected as evaporation process conditions. Brix, colour, dark speck, pH, change in lycopene content and sensory quality of tomato paste samples produced at different conditions were analysed. Generally, temperature and time increment for Brix, colour, amount of dark specks, lycopene and sensory quality had played an important role in the increase of these properties. In pH values, no effect of process parameters was observed.

**Keywords:** Tomato paste, modified vacuum oven, alternative cooking techniques, lycopene

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ figen.ertekin@ege.edu.tr,

☎ (+90) 232 311 3006,

☎ (+90) 232 342 7592



## GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı beslenme ve yaşam ihtiyacına bağlı olarak, ürün kalitesi ve besleyici değeri daha yüksek ürünler tercih edilmektedir. Sağlıklı beslenme, genel olarak zararlı bileşen içeriği düşük ve daha ılımlı koşullarda işlem görmüş gıdalar ile mümkündür. Özellikle gıdalara yüksek sıcaklıkta ısıl işlem uygulanması yararlı bileşenlerin kaybına ve zararlı yeni bileşenlerin oluşmasına neden olmakta ve alternatif yeni pişirme tekniklerine ihtiyaç duyulmaktadır (1). Bu tekniklerden biri olan vakum altında pişirme yöntemi ile sağlanan düşük sıcaklık uygulaması sonucunda, atmosferik koşullarda gerçekleştirilen pişirme işlemlerine kıyasla ürünün doğal rengi, duyuşal ve besleyici özellikleri daha iyi korunmaktadır (2, 3). Ayrıca vakum uygulamasıyla birlikte pişirme ortamının oksijen içeriği azalmakta ve oksidasyon tepkimeleri engellenerek yararlı bileşenler korunabilmektedir (4). Bunun yanı sıra oksijen varlığında gelişen canlı sayısı azalmakta; genel olarak daha kaliteli son ürün elde edilebilmektedir (5).

Domates yapısında barındırdığı yüksek su oranı (%93-95) nedeni ile uzun süreli dayanımı, muhafazası ve taşınması oldukça zor bir sebze olup, çeşitli ısıl işlemlerle domates ürünlerine işlenmekte; bu ürünlerin başında Türk mutfağında da yaygın olarak kullanılan salça gelmektedir (6,7). Gıda sanayinde salça, vakum evaporatörler ya da açık kazan tipi evaporatörler kullanılarak üretilmektedir. Vakum altında, düşük basınç ve dolayısıyla düşük sıcaklıkta evapore edilen salçanın renk ve lezzet özellikleri daha iyi şekilde korunmaktadır (8). Bununla birlikte insanlar evlerde kendi yaptıkları geleneksel pişirme yöntemlerini kullanarak ev ortamında kendi kontrollerinde salça hazırlama eğilimi gösterebilmektedir. Kullanıcıların salçayı ev ortamında hazırlaması durumunda, kullanılan ev tipi ekipmanların yeterli olmamasından dolayı pişirme ile domates suyundan yeteri kadar su uzaklaştırılamamaktadır. Pişirme ile belirli konsantrasyon seviyesine ulaştırılan domates suyu, güneş altında açıkta bekletilerek koyulaştırılmaktadır. Bu durumda bile istenilen konsantrasyon sağlanamadığı için salçanın raf ömrünü uzatmak amacıyla oldukça yüksek oranda tuz ilavesi gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, güneş altında açık bir şekilde bekletilen ürünler mikrobiyolojik

açından da oldukça riskli bir durum teşkil etmektedir. Evde yapılması zahmetli olan ve uzun pişirme süresine ihtiyaç duyulan salçanın yukarıda da bahsedildiği üzere endüstriyel ekipmanlarla oksijen içeriği düşük ortamda, hijyenik şekilde, tuz ilavesi olmadan ve yüksek ısıya maruz kalmadan vakum altında ısıl işleme tabi tutulup evapore edilmesine imkan sağlanmaktadır. Bu işlemi evsel ortamda gerçekleştirmek ancak ev tipi vakum altında pişirme yapabilen bir ekipmanın geliştirilmesi ile mümkündür.

Bu çalışmada, domates salçası zeolit yatak kullanılarak modifiye edilen vakum fırında üretilmiştir. Salça üretim prosesi işlem değişkenleri olan sıcaklık ve sürenin etkisi Briks, renk, siyah benek miktarı, pH, likopen içeriği ve duyuşal kalite analizleri yapılarak belirlenmiştir. Ayrıca, aynı sıcaklık ve işlem sürelerinde atmosferik koşullarda da salça üretimi yapılmış ve ürün kalite özellikleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile vakum pişirme/evaporasyon fonksiyonuna sahip ev tipi fırın prototipinin geliştirilmesi için girdi oluşturulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

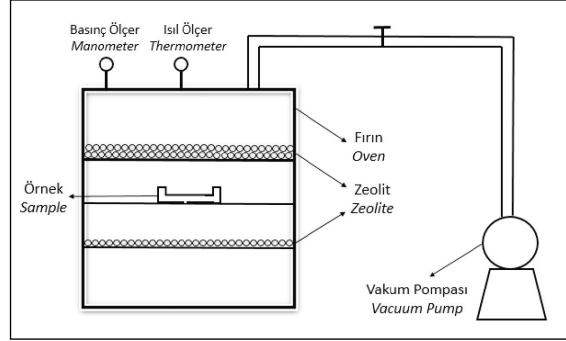
### Materyal

Salçalık domates (*Lycopersicon esculentum Mill. cv. Rio Grande*) İzmir'de yerel bir marketten satın alınmıştır. Vakum fırın içerisinde kullanılan zeolit (Molecular Sieve, 3A 4X8 Mesh) Shanghai Hengye Chemical Industry Co. Ltd. firmasından temin edilmiştir.

### Metot

Salçalık domatesler (~250 g), yıkanıp sap kısımları ayıklandıktan sonra 5-6 s süresince rondodan (Tefal, Masterchop XL, 500 W) geçirilerek domates mayşesi elde edilmiştir. Elde edilen domates mayşesi 1 mm çapında deliklere sahip elekten geçirilerek, çekirdeklerin ve liflerin ayrılması sağlanmıştır. Mayşeden 50 g alınıp, 100 mm çap ve 20 mm yüksekliğindeki bir adet cam Petriye yerleştirilerek evaporasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Analizlerin gerçekleştirilmesi için, işlem sonucu oluşan ürün miktarına göre her bir evaporasyon denemesi 4-8 kez tekrarlanmıştır. Domates mayşesinin ortalama pH değeri 4.42±0.01 olarak bulunmuştur.

Vakum altında evaporasyon denemeleri, zeolit yatak ile modifiye edilmiş vakum fırın (Dış ölçüler 550x450x700 mm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Denemelerde kullanılan vakum fırın düzeneği Şekil 1’de verilmiştir. Evaporasyon işlemi esnasında açığa çıkan nemin, havadan uzaklaştırılarak kütle transferinin sürekliliğinin sağlanması için küre şeklindeki zeolitten oluşturulan, biri örneğin üst katında, diğeri örneğin altında olmak üzere iki adet yatak kullanılmıştır (Şekil 1). Vakum altında gerçekleştirilen evaporasyon denemelerinde doymuş buhar tablolarından yararlanılarak, sistem içinde olması istenilen sıcaklık değerlerine karşı gelen basınç değerleri uygulanmıştır. Atmosferik koşullarda gerçekleştirilen denemelerde de aynı vakum fırın kullanılmıştır. Vakum altında salça üretimi denemelerinden farklı olarak ise zeolit yatak kullanılmamış; herhangi bir vakum basıncı uygulanmamış ve atmosferik koşullar sağlanmıştır.



Şekil 1. Modifiye vakum fırının şematik gösterimi  
Figure 1. Schematic diagram of the modified vacuum oven

CCRD (Merkezi Tümleşik Tasarım) deneme desenine göre vakum altında ve atmosferik koşullarda salça üretimi için bağımsız işlem değişkenleri olarak seçilen sıcaklık ve süre değerleri Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Vakum altında ve atmosferik koşullarda gerçekleştirilen evaporasyon sonucu elde edilen domates salçası fiziksel ve kimyasal özellikleri  
Table 1. Physical and chemical properties of tomato paste produced through evaporation under vacuum and atmospheric conditions

	Den. No Exp. no	Sıcaklık Temperature (°C)	Süre (saat) Time (hour)	Briks Brix (°Bx)	Renk Yoğunluğu Chroma (C°)	Siyah Benek Miktarı Amount of Dark Specks	pH pH	% Likopen Artış Miktarı Increasing Amount of Lycopene %
Vakum Evaporasyon Vacuum Evaporation	1	70	3	7.0±0.0	12.80±0.17	0	4.24±0.01	9.85±0.02
	2	90	3	8.5±0.7	14.02±0.15	0	4.22±0.01	34.00±0.08
	3	70	6	19.0±1.0	19.00±0.10	0	4.34±0.00	235.53±0.55
	4	90	6	38.0±2.0	18.44±0.15	22	4.09±0.01	190.91±0.50
	5	66	4.5	11.0±1.0	20.03±0.54	0	4.31±0.00	18.34±0.05
	6	94	4.5	15.0±1.0	18.17±0.04	0	4.28±0.00	16.59±0.10
	7	80	2.4	6.5±0.0	11.55±0.10	0	4.41±0.00	12.18±0.05
	8	80	6.6	29.0±1.0	18.50±0.23	8	4.39±0.00	274.75±0.04
	9	80	4.5	12.0±0.0	15.26±0.07	0	4.39±0.00	28.51±0.07
	10	80	4.5	11.8±0.5	15.16±0.14	0	4.38±0.00	48.98±0.02
	11	80	4.5	12.0±0.0	16.38±0.09	0	4.42±0.00	27.44±0.02
	12	80	4.5	11.5±0.5	16.72±0.17	0	4.49±0.00	23.87±0.12
	13	80	4.5	11.5±0.5	17.70±0.07	0	4.49±0.00	29.17±0.26
Atmosferik Evaporasyon Atmospheric Evaporation	1	70	3	6±0.0	11.30±0.06	0	4.28±0.00	8.55±0.11
	2	90	3	9.5±0.5	14.88±0.09	4	4.35±0.00	85.2±0.11
	3	70	6	10.5±0.0	16.05±0.07	0	4.29±0.00	9.15±0.23
	4	90	6	61±0.0	19.57±2.28	*	*	96.55±0.04
	5	66	4.5	6.5±0.0	12.48±0.11	0	4.33±0.01	23.45±0.05
	6	94	4.5	26±0.0	16.65±0.16	17	4.33±0.00	168.31±0.56
	7	80	2.4	6.5±0.0	9.97±0.12	0	4.40±0.00	9.62±0.02
	8	80	6.6	26±0.0	19.19±0.28	14	4.37±0.00	137.5±0.02
	9	80	4.5	10±0.0	14.41±0.11	0	4.39±0.00	20.45±0.53
	10	80	4.5	10.5±0.0	12.50±0.17	0	4.45±0.00	15.93±0.34
	11	80	4.5	10±0.0	17.21±0.12	0	4.35±0.00	11.47±0.02
	12	80	4.5	10.5±0.0	14.35±0.17	0	4.44±0.00	10.49±0.02
	13	80	4.5	10.5±0.0	16.05±0.20	0	4.46±0.00	9.18±0.03

\*üründe yanma nedeni ile analiz yapılmamıştır.

\*no analysis was done because of burning of sample.

## Analizler

### Briks

Örneklerin Briks değerleri (% suda çözünür kuru madde içeriği), Abbe refraktometresi kullanılarak 20 °C'ta belirlenmiştir (9).

### Renk

Örneklerde L\*, a\* ve b\* değerleri renk tayin cihazı (CM-2600d/2500d, Konica Minolta) kullanılarak belirlenmiştir. Evaporasyon sonrasındaki renk yoğunluğu (Chroma, C\*) değerleri Eşitlik 1 ile hesaplanmıştır (10).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

### Siyah Benek Miktarı

5 g örnek üzerine 10 ml su eklendikten sonra homojen hale getirilen karışım, 20x20 cm boyutlarındaki cam plakalar arasına yerleştirilmiş; siyah benek sayısı kaydedilmiştir (9).

### pH

Domates ve domates salçasının pH değerleri, dijital pH metre (inoLab pH/Cond 720, WTW, Germany) ile belirlenmiştir (9).

### Likopen İçeriği

Domatesin ve domates salçasının likopen içeriği, likopenin polar organik ve polar olmayan solventlerle ekstrakte edilmesi ve absorbansının 503 nm'de spektrofotometrik (VARIAN Cary 50 Bio, UV/VIS Spectrophotometer) olarak ölçülmesi ile belirlenmiştir. Sonuç, likopen miktarı mg/kg örnek' olarak Eşitlik 2 ile hesaplanmıştır (11). Bulunan likopen miktarı, domates mayşesi ve salçası arasındaki likopen değişiminin gösterilebilmesi için Eşitlik 3 ile % likopen artış miktarına dönüştürülerek hesaplanmıştır.

$$\text{Likopen miktarı, mg/kg örnek} = \frac{(A_{503})(0.0312)}{\text{örnek, kg}} \quad (2)$$

$$\% \text{ Likopen Artış Miktarı} = \frac{\text{Salçanın likopen miktarı} - \text{Mayşenin likopen miktarı}}{\text{Mayşenin likopen miktarı}} \times 100 \quad (3)$$

## Duyusal Değerlendirme

Salça örnekleri; görünüş, renk, koku, kıvam ve tat özellikleri açısından duyu analize tabi tutulmuştur. Duyusal analiz 10 kişilik yarı eğitilmiş panel grubu tarafından, her bir ürün grubu için, panel grubu ve ilgili literatür (12) yardımıyla hazırlanmış olan duyu değerlendirme formları kullanılarak puanlama testi ((1) en düşük, (5) en yüksek puan olmak üzere) ile gerçekleştirilmiştir.

## İstatistiksel Analiz

Bağımsız işlem değişkenleri olarak seçilen sıcaklık ve sürenin salçanın kalite özellikleri üzerine etkisi Design Expert Version 7.0 (Statease Inc.) paket programı kullanılarak incelenmiştir. Oluşturulan modellerin deneysel veriler üzerindeki etkisi, varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Böylece her bir bağımsız değişkenin lineer, quadratik ve interaksiyon etkilerinin salçanın kalite özellikleri üzerine gösterdiği istatistiksel önemlilikler % 95 güven seviyesinde Fischer testi (F-testi) uygulanarak bulunmuştur (13, 14).

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Zeolit ile modifiye edilen vakum fırında domates mayşesinin vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon sonuçları, izlenen CCRD deneme desenine göre Çizelge 1'de sırası ile verilmiştir. Vakum altında evaporasyon sonucu ulaşılan Briks değerlerinin 6.5-38 °Bx arasında değiştiği; atmosferik koşullarda ise salçanın Briks değerlerinin 6-61 °Bx arasında değiştiği bulgulanmıştır. Atmosferik koşullarda 90°C ve 6 saat süresince gerçekleştirilen evaporasyon denemesinde ürünün yandığı gözlemlenmiştir. Aynı koşullarda vakum altında işlem gören ürünün ise Briks değerinin 38 olduğu, herhangi bir yanmanın oluşmadığı; tanımlama olarak üç kez konsantre salça (15) sınıfına girdiği tespit edilmiştir. Vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon işlemlerinde, sıcaklık ve süre değişkenlerinin Briks değeri üzerine istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2).

Çizelge 2. Vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon sonucu üretilen domates salçalarının fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait ANOVA sonuçları  
 Table 2. ANOVA results for physical and chemical properties of tomato paste produced thorough evaporation under vacuum and atmospheric conditions

Varyasyon Kaynağı Variation Source	Briks Brix (°Bx)		Renk Yoğunluğu Chroma		% Likopen Artış Miktarı Increasing Amount of Lycopene %		Duyusal Kalite (Genel Tercih) Sensory Quality (Overall Acceptability)	
	Kareler Değeri Sum of Square	P-Değeri P-Value	Kareler Değeri Sum of Square	P-Değeri P-Value	Kareler Değeri Sum of Square	P-Değeri P-Value	Kareler Değeri Sum of Square	P-Değeri P-Value
<b>Vakum Evaporasyon</b> Vacuum Evaporation								
Model	933.2	0.000	69.84	0.002	102158	0.000	18.38	0.003
x <sub>1</sub> *	85.52	0.013	0.61	0.489	65.82	0.716	0.21	0.441
x <sub>2</sub> *	671.9	0.000	52.25	0.000	71047	0.000	5.23	0.005
x <sub>1</sub> ·x <sub>2</sub>	76.56	0.017	0.79	0.432	1182	0.152	0.72	0.174
x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	11.89	0.257	9.16	0.025	34.04	0.793	11.31	0.000
x <sub>2</sub> <sup>2</sup>	94.34	0.010	4.99	0.074	29582	0.000	1.92	0.043
Kalıntı Residual	54.63		7.96		3204		2.20	
Model Uygunsuzluğu Lack of Fit	54.38	0.000	3.45	0.472	2810.37	0.027	2.20	
Saf Hata Pure Error	0.25		4.51		394.5		0.00	
Toplam Total	987.9		77.80		105363		20.59	
<b>Atmosferik Evaporasyon</b> Atmospheric Evaporation								
Model	2490	0.002	83.70	0.011	31087	0.012	12.76	0.036
x <sub>1</sub> *	831.9	0.002	21.12	0.020	17012	0.003	0.28	0.506
x <sub>2</sub> *	873.2	0.002	62.55	0.001	4646	0.057	1.37	0.162
x <sub>1</sub> ·x <sub>2</sub>	552.3	0.006	91750	0.985	28.89	0.863	0.72	0.294
x <sub>1</sub> <sup>2</sup>	131.6	0.096	0.02	0.925	7335	0.024	6.03	0.014
x <sub>2</sub> <sup>2</sup>	131.6	0.096	0.01	0.944	3160	0.103	5.71	0.015
Kalıntı Residual	249.1		16.26		6290		3.94	
Model Uygunsuzluğu Lack of Fit	248.8	0.000	3.33	0.797	6204	0.000	3.94	
Saf Hata Pure Error	0.30		12.93		86.05		0.00	
Toplam Total	2739		99.96		37377		16.70	

\*x<sub>1</sub>:sıcaklık, x<sub>2</sub>:süre değişkenini göstermektedir.

\*x<sub>1</sub>:Temperature, x<sub>2</sub>:Time variables were shown.

Vakum altında evaporasyon denemeleri sonucunda ürün renk yoğunluğu (C\*) değerlerinin 11.55-20.03 aralığında değiştiği gözlenmiştir. Atmosferik koşuldaki evaporasyon denemeleri sonucunda ise ürün renk yoğunluğu (C\*) değerleri 9.97-19.57 aralığında değişmektedir (Çizelge 1). Domates püresinde ısı işlem ve yüksek basınç uygulamalarının ayrı olarak incelendiği bir çalışmada, işlem uygulanmayan materyalin C\* değeri 23.66 iken; ısı işlem uygulamasında C\* değeri 25.49, yüksek basınç uygulamasında basınç değerlerine bağlı olarak 23.71-25.49 arasında değişen C\* değerleri belirlenmiştir (16). Bu çalışmada kullanılan

domates (8.70) ile evaporasyon işlemleri sonucu oluşan salçaların (11.55-20.03 ve 9.97-19.57) C\* değerleri arasında da buna benzer olarak belirgin derecede bir fark görülmemiştir. Domates ürünlerine işlenen domatesin olgunlaşma derecesinin ya da kullanılan domates kültürünün, değişik aralıklarda bulunabilen C\* değerleri üzerinde, dolayısı ile renkte etkisi olduğu belirtilmektedir (10). Vakum altında gerçekleştirilen evaporasyon sonucunda üretilen salça için renk üzerine yalnızca süre parametresinin; atmosferik koşullarda ise sıcaklık ve süre parametrelerinin her ikisinin de istatistiksel olarak etkili olduğu

görülmüştür ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2). Son üründe arzu edilmeyen koyu rengin, yanık tadın ve siyah benekçiğin oluşmaması için ısı işlemin kontrol altında yapılması oldukça önemlidir (17). TKG Salça ve Püre Tebliği'ne göre, domates salçasında siyah benek miktarı en çok 7 adet/10 g, domates püresinde ise en çok 5 adet/10 g dır (15). Vakum altında pişirme/evaporasyon uygulanan  $90^{\circ}\text{C}/6$  saat işlem sonucu elde edilen salçada (38 Briks), 10 g üründe 22 adet siyah benek ile sonuç belirlenen sınırların üzerinde çıkmıştır. Bu deneme haricindeki vakum uygulanan ürünler, tebliğe uygun bulunmuştur. Vakum altında ve atmosferik koşullarda gerçekleşen her iki üretim tekniği için de salçada önemli bir kalite kriteri olan siyah benek sayısı, ısı işlemler sonucunda belirgin bir değişim göstermiştir. Uygulanan sıcaklık ve sürelerde, her iki parametre için koşulların ağırlaştırılması, siyah benek oluşumunda artışa neden olmaktadır. Her iki teknikte, işlem parametrelerinin siyah benek miktarı üzerine etkili olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Vakum altında ve atmosferik basınçta farklı işlem koşullarında zeolit ile modifiye edilmiş fırın içerisinde üretilen salça örneklerinin pH değerleri 4.09-4.49 arasında değişmekte olup, tebliğ uyarınca da domates salçası ve domates püresinde pH değerinin 3.9-4.6 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (15). Farklı işlem koşullarında üretilen salça örneklerinin pH değerleri evaporasyon işlem koşullarından istatistiksel olarak etkilenmemektedir ( $P > 0.05$ ). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, çeşitli özellikleri bulunan domates (cins, olgunluk vd.) ve domates salçasındaki likopen miktarı değerlerine bakılarak % likopen artış miktarının %28.57-3471.43 ve %4.66-930.69 gibi geniş aralıklarda olduğu hesaplanabilmektedir (18,19). Domates ürünlerinde konsantrasyon derecesinin artması ile birlikte toplam kuru madde miktarı yükseleceğinden, % likopen artışı gözlenmektedir. Bununla birlikte, muhafaza ve işlem koşullarının (ısı, ışık, süre vd.), domates ve ürünleri içeriğindeki likopenin degradasyonuna neden olduğu bilinmektedir (20). Vakum altında gerçekleştirilen denemeler sonucunda likopen miktarının, belirli bir düzeye kadar uygulanan sıcaklık ( $\sim 75-80^{\circ}\text{C}$ ) ve süre artışıyla doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Aynı sıcaklık ve farklı sürede yapılan tüm denemeler için % likopen artışı bu sonucu doğrulamaktadır. Aynı süre ve farklı sıcaklıkta vakum altında yapılan denemeler için ise  $90^{\circ}\text{C}/6$

saat ve  $94^{\circ}\text{C}/4.5$  saat gibi yüksek sıcaklıklarda  $70^{\circ}\text{C}/6$  saat ve  $66^{\circ}\text{C}/4.5$  saat denemelerine göre likopen miktarının azaldığı bulgulanmıştır. Bu sonuç, vakum uygulamaları ile istenilen düşük sıcaklığın üründeki likopen artışı üzerine olumlu etkisini göstermektedir. Atmosferik koşullarda yapılan denemeler sonucunda ise likopen miktarının, uygulanan sıcaklık ve süre artışıyla sürekli olarak doğru orantılı olduğu görülmüştür. Aynı sıcaklık ve farklı sürede yapılan denemeler için % likopen artışı bu durumu doğrulamakta ve % likopen değişimi, yüksek sıcaklıkla ilişkilendirilebilmektedir (Çizelge 1). Vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon işlemleri karşılaştırıldığında ise genel olarak vakum uygulamalarında belirlenen % likopen artış miktarının daha yüksek olması durumunun, ortamdaki oksijen miktarının az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Domates pulpunun ısıtılması sırasında değişen likopen miktarının araştırıldığı bir çalışmada da, farklı koşullarda tutulan örnekler için, en yüksek likopen kaybının (% 77.6)  $25^{\circ}\text{C}$ 'da hava ve ışık varlığında olduğu saptanmıştır (20). Vakum altında yapılan denemelerde üretilen salça için % likopen artış miktarı üzerine yalnızca süre parametresinin; atmosferik koşullarda ise sıcaklık parametresinin istatistiksel olarak etkili olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2).

Domates ve domates salçası için yapılan analizler ile alınan sonuçlar doğrultusunda ürünün konsantrasyon derecesini ve sınıflandırılmasını belirleyen Briks, tüketici tercihlerini doğrudan etkileyen renk ve duyu kalitenin yanı sıra; üründe bulunan yararlı bileşenlerin başında gelen likopenin % artış miktarı üzerine sıcaklığın ve sürenin etkisi incelenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde (ANOVA analizi), işlem değişkenlerinin salçanın kalite özellikleri üzerine etkisi % 95 güven seviyesinde Çizelge 2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Briks, renk yoğunluğu ( $C^*$ ), % likopen artış miktarı ve duyu kalite için de quadratik terimlerin eklenmesinin modelleri önemli ölçüde geliştirdiği bulgulanmıştır. Ayrıca, vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon için pH değeri dışındaki tüm analizlerde model uyumluluğu görüldüğü belirlenmiştir.

Çizelge 3'de görüldüğü gibi püre salça ve salça sınıfında tanımlanan  $80^{\circ}\text{C}/4.5$  saat (12 Briks),

80°C/6.62 saat (29 Briks) ve 90°C/6 saat (38 Briks) vakum pişirme/evaporasyon denemelerinde elde edilen ürünler panelistler tarafından puanlama sonucu genel tercih açısından 4 ve üzeri değerler olarak kabul görmüştür. 66°C/4.5 saat sonucu oluşan üründe, ekşi tat ve kötü koku nedeniyle en düşük puan ortaya çıkmıştır. Atmosferik koşullarda evaporasyon/pişirme sonucu elde edilen örneklerden sadece 80°C/6.62 saat (26 Briks) koşulunda elde edilen örnek panelistler tarafından puanlama sonucu genel tercih açısından 4 ve üzeri değer olarak kabul görmüştür. 70°C/6 saat (10.5 Briks), 80°C/4.5 saat (10.5 Briks) ve 94°C/4.5 saat (26 Briks) denemelerinde elde edilen örnekler ise 3 puanın üzerinde değerlendirilmiştir. 90°C/6 saat denemesinde oluşan üründe, yanma nedeniyle en düşük puan ortaya çıkmıştır. Genel olarak (66°C/4.5 saat denemesi hariç) duyuşsal değerlendirme sonuçlarına bakıldığında, vakum altında pişirme/evaporasyon sonucu elde edilen

örnekler daha yüksek beğeni kazanmıştır (Çizelge 3). Vakum altında evaporasyon ile üretilen salçanın duyuşsal değerlendirmesi (genel tercih) üzerine işlem parametresi olarak yalnızca süre önemli iken ( $P < 0.05$ ); atmosferik koşullarda ise her iki işlem parametresinin de istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ) (Çizelge 2).

Şekil 2'de görüldüğü gibi vakum altında üretilen salça örneklerinin Briks, renk yoğunluğu ve % likopen artış miktarı için sıcaklığa göre, süre artışının daha etkin bir değişken olduğu saptanmıştır. Duyuşsal kalite (genel tercih) için ise, sıcaklık artışı ile birlikte belirli noktaya kadar (~80°C) genel tercihte artma ve sonrasında azalma eğilimi görülmüş; 80°C civarı sıcaklıklarda en yüksek tercih edilme puanı bulunmuştur (Şekil 2). Ayrıca, süre artışı ile genel tercih puanında artan eğilim saptanmıştır. Atmosferik koşullarda gerçekleştirilen üretimlerde ise sıcaklık ve sürenin artışı ile birlikte Briks değerlerinde artma eğilimi

Çizelge 3. Vakum altında ve atmosferik koşullarda gerçekleştirilen evaporasyon sonucu elde edilen domates salçası için duyuşsal değerlendirme sonuçları

Table 3. Sensory evaluation results of tomato paste produced through evaporation under vacuum and atmospheric conditions

	Den. No Exp. no	Sıcaklık Temperature (°C)	Süre (saat) Time (hour)	Görünüş Appearance	Renk Colour	Koku Odour	Kıvam Consistency	Tat Taste	Genel Tercih Overall Acceptability
Vakum Evaporasyon Vacuum Evaporation	1	70	3	2.70±0.54	3.25±0.35	2.90±0.88	2.35±0.58	2.80±0.42	2.90±0.39
	2	90	3	2.05±0.67	2.15±0.42	2.10±0.47	1.45±0.54	2.35±0.74	1.85±0.66
	3	70	6	4.15±0.24	4.10±0.32	3.25±1.11	4.05±0.37	3.40±0.84	3.80±0.48
	4	90	6	4.35±0.24	4.50±0.41	4.10±0.21	4.90±0.32	4.20±0.42	4.45±0.16
	5	66	4.5	2.40±0.46	2.75±0.35	**	1.65±0.47	**	1
	6	94	4.5	2.40±0.46	2.25±0.42	2.45±0.69	2.10±0.21	2.35±0.47	2.20±0.26
	7	80	2.4	2.30±0.42	2.25±0.63	2.30±0.63	1.75±0.42	2.05±0.28	2.05±0.28
	8	80	6.6	4.65±0.12	4.80±0.24	4.65±0.41	4.25±0.21	4.40±0.21	4.60±0.34
	9	80	4.5	4.20±0.48	4.50±0.47	4.10±0.88	4.10±0.74	4.00±0.53	4.15±0.41
	10	80	4.5	4.00±0.35	4.40±0.33	4.00±0.49	3.90±0.32	4.00±0.11	4.30±0.42
	11	80	4.5	4.10±0.12	4.50±0.13	4.30±0.45	4.20±0.62	4.05±0.24	4.20±0.36
	12	80	4.5	4.30±0.24	4.40±0.25	4.00±0.12	4.00±0.31	4.20±0.61	4.00±0.40
	13	80	4.5	4.40±0.32	4.60±0.21	4.00±0.15	4.20±0.14	4.10±0.28	4.10±0.34
Atmosferik Evaporasyon Atmospheric Evaporation	1	70	3	2.65±0.37	2.65±0.78	2.45±0.58	2.05±0.42	2.35±0.54	2.35±0.32
	2	90	3	1.95±0.66	2.00±0.16	1.95±0.44	1.35±0.35	1.90±0.39	1.75±0.44
	3	70	6	3.25±0.85	3.60±0.78	3.30±0.98	3.05±0.64	3.35±0.85	3.30±0.58
	4	90	6	*	*	*	*	*	1
	5	66	4.5	2.40±0.26	2.75±0.35	2.10±0.34	1.65±0.64	1.95±0.41	2.10±0.26
	6	94	4.5	2.95±0.59	3.00±0.44	3.50±0.95	3.70±0.46	2.70±0.63	3.10±0.35
	7	80	2.4	1.90±0.55	2.05±0.71	1.45±0.90	1.20±0.41	1.60±0.74	1.55±0.63
	8	80	6.6	4.25±0.46	4.30±0.35	4.15±0.57	4.55±0.47	4.15±0.76	4.20±0.46
	9	80	4.5	3.70±0.42	4.45±0.39	3.70±0.54	3.40±0.69	3.70±0.53	3.75±0.79
	10	80	4.5	3.80±0.42	4.40±0.50	3.70±0.44	3.30±0.34	3.75±0.37	3.90±0.62
	11	80	4.5	3.70±0.35	4.60±0.44	3.60±0.32	3.35±0.46	3.65±0.12	3.70±0.64
	12	80	4.5	3.60±0.40	4.40±0.36	3.70±0.24	3.50±0.45	3.70±0.61	3.80±0.25
	13	80	4.5	3.70±0.44	4.50±0.53	3.80±0.54	3.40±0.34	3.70±0.36	3.75±0.16

\*üründe yanma nedeni ile puanlandırma yapılmamıştır.

\*\*üründe ekşi tat ve kötü koku nedeni ile puanlandırma yapılmamıştır.

\*No scoring was done with the reason for burning of the product.

\*\*No scoring was done with the reason for sour taste and bad odour of the product.

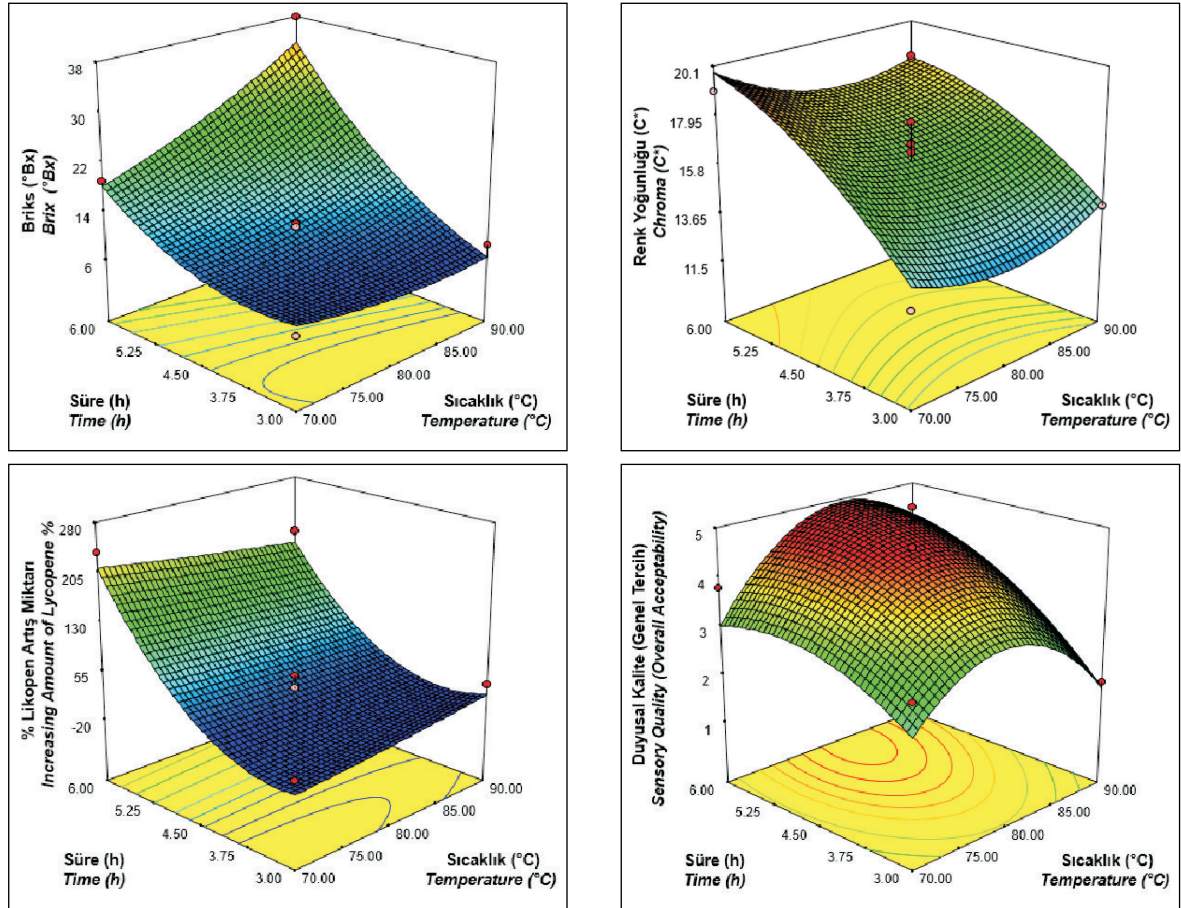
belirlenmiştir (Şekil 3). Ürünlerde % likopen artış miktarı içinse sıcaklık artışının daha etkin bir değişken olduğu saptanmıştır. Renk yoğunluğu ve duyu kalite (genel tercih) için ise süre artışının, sıcaklığa göre daha etkin bir değişken olduğu belirlenmiştir.

Zeolit ile modifiye edilen vakum fırın içerisinde gerçekleştirilen vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon denemeleri ile domates salçası üretimi için karşılaştırmalı sonuçlar elde edilmiştir. Evaporasyon işlem değişkenleri olarak seçilen sıcaklık ve sürenin yükselmesiyle birlikte genel olarak, ürünlerin Briks, renk yoğunluğu, siyah benek miktarı, likopen ve genel kabul edilebilirlik değerleri artmıştır. Vakum altında ve atmosferik koşullarda evaporasyon ile üretilen salça örnekleri için, işlem değişkenleri olan sıcaklık ve sürenin pH değerleri üzerine çok önemli bir etki göstermediği; görülen farklılıkların hammaddenin kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında zeolit ile modifiye edilen ve laboratuvar ölçeğinde olan sistem, ileriye dönük olarak ev tipi vakum altında pişirme ekipmanları geliştirilmesine ışık tutacak niteliktedir. Elde edilen örnekler göz önüne alındığında, üretilen salça miktarının artırılması ile daha belirgin sonuçların alınabilmesi için zeolit yatağın genişletilerek ölçek büyütme yapılması ve sistem etkinliğinin geliştirilmesi öngörülmektedir. Bu sistem tasarımı ile işlem verimliliğinin artırılması ve işlem süresinin kısaltması sağlanabilecektir.

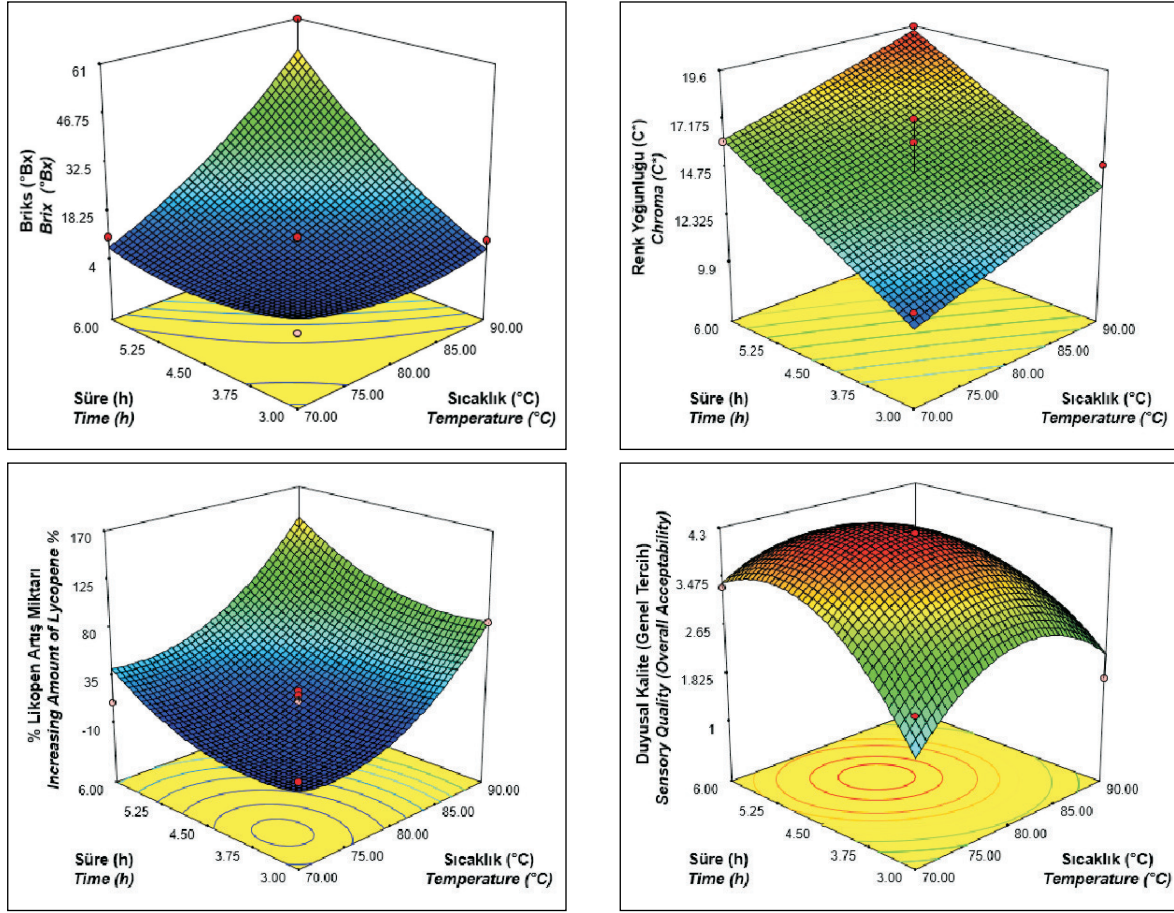
### Teşekkür

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü ile Arçelik A.Ş. ortak projesi (Proje No: 1139B411401988) olarak yürütülmüştür. 2209-B (2241/A) Sanayi Odaklı Lisans Bitirme Tezi Destekleme Programı kapsamında TÜBİTAK/BİDEB'e sağladığı maddi destekten dolayı teşekkür ederiz.



Şekil 2. Vakum altında gerçekleştirilen evaporasyon ile oluşan ürünlerin Briks, renk yoğunluğu (C\*), % likopen artış miktarı ve duyu kalite (genel tercih) puanlarının 3 boyutlu gösterimi  
Figure 2. 3-D graphs of Brix, chroma (C\*), increasing amount of lycopene %, and sensory quality (overall acceptability) scores of tomato paste produced thorough evaporation under vacuum





Şekil 3. Atmosferik koşullarda gerçekleştirilen evaporasyon ile oluşan ürünlerin Briks, renk yoğunluğu ( $C^*$ ), % likopen artış miktarı ve duyu kalite (genel tercih) puanlarının 3 boyutlu gösterimi

Figure 3. 3-D graphs of Brix, chroma ( $C^*$ ), increasing amount of lycopene %, and sensory quality (overall acceptability) scores of tomato paste produced thorough evaporation under atmospheric conditions

## KAYNAKLAR

1. Iborra-Bernad C, Philippon D, Garc a-Segovia P, Mart nez-Monz J. 2013. Optimizing the texture and color of sous-vide and cook-vide gren bean pods. *LWT - Food Sci Technol* 51: 507-513.
2. Garc a-Segovia P, Andrés-Bello A, Mart nez-Monz J. 2007. Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (M. pectoralis). *J Food Eng* 80: 813-821.
3. Andrés-Bello A, Garc a-Segovia P, Mart nez-Monz J. 2009. Effects of Vacuum Cooking (Cook-Vide) on the Physical-Chemical Properties of Sea Bream Fillets (*Sparus aurata*). *J Aquat Food Prod T* 18: 79-89.
4. Iborra-Bernad C, Tárrega A, Garc a-Segovia P. 2014. Comparison of Vacuum Treatments and Traditional Cooking Using Instrumental and Sensory Analysis. *Food Anal Methods* 7: 400-408.
5. Bozkurt H, Erkmn O. 2004. Effects of production techniques on the quality of hot pepper paste. *J Food Eng* 64: 173-178.
6. Demiray E. 2009. Kurutma İşleminde Domatesin Likopen, B-Karoten, Askorbik Asit ve Renk Değişim Kinetiğinin Belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 101 s.
7. Kirkin F. 2013. Ticari Olarak Üretilen Bazı Domates Salçalarının Özelliklerinin Belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tokat, Türkiye, 45 s.
8. Hayes WA, Smith PG, Morris AEJ. 1998. The Production and Quality of Tomato Concentrates. *Crit Rev Food Sci Nutr* 38 (7): 537-564.



9. Cemeroglu B. 2010. *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34, 2. Baskı, Ankara, Türkiye, s. 185-190, 351-362.
10. Lopez Camelo AF, Gomez PA. 2004. Comparison of color indexes for tomato ripening. *Hortic Bras*, v.22, n.3, 534-537.
11. Fish WW, Perkins-Veazie P, Collins JK. 2002. A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *J Food Compos Anal* 15: 309-317.
12. Altuğ T, Elmacı Y. 2005. *Gıdalarda duyuşal değerlendirme*. Meta Basım, İzmir, Türkiye, s. 55-65.
13. Koç B, Sakin-Yılmaz M, Kaymak-Ertekin F, Balkır P. 2014. Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. *J Food Sci Technol* 51 (7): 1377-1383.
14. Erbay Z, Koca N, Kaymak-Ertekin F, Ucuncu M. 2015. Optimization of spray drying process in cheese powder production. *Food Bioprod Process* 93: 156-165.
15. Anon 2014. Türk Gıda Kodeksi. Salça ve Püre Tebliği (2014/6). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 14 Haziran 2014 tarih ve 29030 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
16. Patras A, Brunton N, Da Pieve S, Butler F, Downey G. 2009. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. *Innov Food Sci Emerg* 10 (1): 16-22.
17. Velioglu HM, Boyacı İH, Kurultay Ş. 2011. Determination of visual quality of tomato paste using computerized inspection system and artificial neural Networks. *Comput Electron Agric* 77: 147-154.
18. Bramley PM. 2000. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 54: 233-236.
19. Shi J, Le Maguer M. 2000. Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 40 (1): 1-42.
20. Sharma SK, Le Maguer M, 1996. Kinetics of lycopene degradation in tomato pulp solids under different processing and storage conditions. *Food Res Int* 29 (3-4): 309-315.

## **EKSİPIYAN GIDA VE EMÜLSİYONLARIN KAROTENOİD BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Birgül Hızlar, Sibel Karakaya\***

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

Geliş / *Received*: 24.10.2016; Kabul / *Accepted*: 26.01.2017; Online baskı / *Published online*: 01.06.2017

Hızlar, B., Karakaya, S. (2017). Eksipiyen gıda ve emülsiyonların karotenoid biyoerişilebilirliği üzerine etkisi. *GIDA* (2017) 42 (4): 447-456 doi: 10.15237/gida.GD16095

### **Öz**

Son yıllarda beslenme alanındaki araştırmalar karotenoidlerin biyoerişilebilirliği ve biyoyararışlılığı üzerine yoğunlaşmıştır. Karotenoidlerin lipofilik yapısı ve bitkisel gıdalardaki spesifik lokalizasyonunun bir sonucu olarak, genellikle çiğ meyve ve sebzelerdeki biyoerişilebilirlikleri ve biyoyararışlılıkları düşüktür. Çünkü karotenoidlerin emilimlerinden önce hücre matriksinden açığa çıkmaları ve sindirim sırasında lipit fazına geçmeleri gerekmektedir. Karotenoidler gibi lipofilik karakterdeki biyoaktif bileşiklerin çoğunun biyoyararışlılığı suda çözünürlüğün düşük olması, yüksek erime sıcaklığı ve kimyasal stabilitenin zayıf olması gibi nedenlerle düşüktür. Bu sorunu çözmeye yönelik günümüz yaklaşımı, gıda matriksinin dizayn edilmesidir. Bu kapsamda araştırmalar halen devam etmektedir. Ancak en yeni yaklaşım faydalı etkinin eksipiyen gıdalarla artırılmasıdır. Buradaki temel fikir gıdanın, kompozisyonu ve/veya yapısı sağlık faydasını artıracak şekilde özel olarak dizayn edilmiş diğer bir gıda ile (eksipiyen gıda) birlikte tüketilmesidir. Bu makalede gıda matriksinin ve yapısının karotenoid biyoerişilebilirliği üzerine etkisi ve bu bilgiler ışığında dizayn edilen eksipiyen gıda ve emülsiyonlarla ilgili yapılan çalışmalar derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Eksipiyen gıda, eksipiyen emülsiyon, karotenoidler, biyoerişilebilirlik, biyoyararışlılık

## **THE EFFECTS OF EXCIPIENT FOODS AND EMULSIONS ON CAROTENOID BIOACCESSIBILITY**

### **Abstract**

Recently, increasing attention has been given to carotenoid bioaccessibility and bioavailability in the field of nutrition research. As a consequence of their lipophilic nature and their specific localization in plant-based tissues, carotenoid bioaccessibility and bioavailability is generally quite low in raw fruits and vegetables, since carotenoids need to be released from the cellular matrix and incorporated in the lipid fraction during digestion before being absorbed. However, the poor water-solubility, high melting point, and low oral bioavailability of lipophilic bioactive agents like carotenoids make them difficult to incorporate into many aqueous-based food products and may reduce their bioaccessibility within the gastrointestinal tract. Today's approach related to improve bioaccessibility is to design of food matrix. Recently, the newest approach, excipient food, has been introduced to improve the bioavailability of orally administered bioactive compounds. The main idea is combining food and another food (the excipient food) whose composition and/or structure is specifically designed to improve health benefits. This article reviews studies related to the impact of food matrix and structure on the bioaccessibility of carotenoids, and excipient foods and emulsions designed in the light of this knowledge.

**Keywords:** Excipient foods, excipient emulsions, carotenoids, bioaccessibility, bioavailability

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ sibel.karakaya@ege.edu.tr,

☎ (+90) 232 311 3012,

☎ (+90) 232 342 7592

## GİRİŞ

Günümüzde kalp hastalıkları, obezite, diyabet, hipertansiyon ve kanser gibi beslenmeyle ilişkili kronik hastalıkların riskini azaltmak üzere, işlem görmüş ya da görmemiş gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklere duyulan ilgi son derece yüksektir (1, 2). Özellikle, gıdalardan elde edilen w-3 yağ asitleri, yağda çözünen vitaminler, karotenoidler ve polifenoller gibi biyoaktif bileşiklerin tanımlanması, izolasyonu ve karakterizasyonu konusuna odaklanılmıştır. Aynı zamanda bu bileşiklerden maksimum düzeyde sağlık faydası elde edilmeye çalışılmaktadır (2). Ancak biyoaktif bileşiklerin ticari gıda ürünlerinde kullanımına ilişkin bazı sınırlamalar bulunmaktadır. Meyve ve sebzeler gibi çok sayıda doğal kaynaktan yer alan bu bileşiklerin biyoyararışlılığı/biyoerişilebilirliği oldukça düşüktür (2, 3).

Biyoerişilebilirlik, gastrointestinal bölgede gıda matriksinden ayrılan ve emilim için uygun olan sindirilmiş besin ögesi ve/veya biyoaktif bileşen miktarı yada fraksiyonudur. Bu nedenle biyoerişilebilirlik genellikle, gastrointestinal bölgenin modellendiği *in vitro* metotlarla değerlendirilmektedir (4, 5). Ancak intestinal mukozanın modellendiği Caco-2 hücre hatları da kullanılmaktadır (6). Biyoyararışlılık ise gıdanın bileşimindeki biyoaktif bileşenlerin sistemik dolaşıma geçebilen ve fiziksel fonksiyonlar ya da depolanmak üzere kullanılabilen oranı şeklinde tanımlanır. Biyoyararışlılık; biyoerişilebilirlik ve ardından gelen metabolik olayları, dokulara dağılım ve biyoaktiviteyi içeren bir terimdir (4, 5). Fakat biyoaktivite kavramı analizlerde, pratik ve etik olarak çeşitli zorluklara yol açar. Bu nedenle biyoyararışlılık genellikle, biyoaktivite kavramı göz ardı edilerek, sistemik döngüye ulaşan bileşen fraksiyonları şeklinde tanımlanır (7, 8). Bu makalede, karotenoid biyoerişilebilirliğine/biyoyararışlılığına etki eden faktörler ve bu konuda yapılmış çalışmalara yer verilmiştir. Aynı zamanda karotenoid biyoerişilebilirliğini/biyoyararışlılığını arttırmaya yönelik günümüz yaklaşımlarından ekspiyan gıda ve emülsiyonlarla ilgili yapılan çalışmaları derlemek amaçlanmıştır.

## KAROTENOID BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİ VE BİYOYARAYIŞLILIĞINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Gıdaların içinde yer alan biyoaktif bileşiklerin biyoyararışlılığı ve biyoerişilebilirliği üzerine gıda işleme yöntemleri (kesme, öğütme, yüksek basınç homojenizasyon, fermentasyon, termal uygulamalar, ultrasound, depolama vb.), gıdaların fizikokimyasal karakteristikleri (gıda matriksi, kristal ya da amorf yapı, mikro yapı içinde diğer bileşenlerin bulunması vb.), biyoaktif gıda bileşiklerinin özellikleri (kimyasal yapı, lipofilik ya da hidrofilik yapı, gıdadaki konsantrasyon) ve konakçı özellikler (sindirim enzimi aktivitesi, kolondan taşınma süresi, kolon mikroflorası, yaş ve cinsiyet gibi sistemik faktörler, patolojik rahatsızlıklar, fizyolojik koşullar) etki etmektedir (9-13).

Gıdadaki biyoaktif bileşenin biyoaktivitesini gösterebilmesi için tek koşul sindirim sırasında gıda matriksinden açığa çıkmasıdır. Genellikle kesme, öğütme, fermentasyon ve ısıl işlemler gıdanın hücresel yapısını parçalar. Bu uygulamaların biyoyararışlılık üzerine etkisi biyoaktif bileşene göre değişkenlik göstermektedir. Gıdanın yapısı ve uygulanan işlemlerin biyoerişilebilirlik ve biyoyararışlılık üzerine etkisi; gıdanın dokusu içinde yer alan biyoaktif bileşiklerin lokasyonuna göre de değişkenlik göstermektedir (7).

Ksantofiller genellikle proteinlerle birlikte yer alırlar. Örneğin yeşil yapraklı sebzelerde bulunan lutein kloroplastlarda yer alır. Karotenler ise kloroplastlar içinde yağ damlacıkları gibi bulunurlar. Ksantofiller bazen de kloroplast içinde yağ damlacıkları gibi yer alarak karotenlerle bir arada bulunabilirler. Örneğin havuç, domates ve papayada yarı kristal halde bulunurlar (14).

Karotenoidlerin biyoyararışlılığı ürünle ilgili endojen faktörlerle, prosesle ilişkili eksojen faktörlere bağlıdır. Karotenoid biyoerişilebilirliğini/biyoyararışlılığını etkileyen faktörler SLAMENGGHI kısaltmasıyla ifade edilmektedir. Kısaltmadaki harfler sırasıyla karotenoid türü, moleküler düzeydeki bağlar, karotenoid miktarı, matriks, efektör organ, besin ögesi durumu, genetik faktörler, konakçı özellikler ve bu değişkenler arasındaki interaksiyonlar olarak ifade edilebilir (15).

Gıda matriksinin kompozisyonu ve yapısal organizasyonu biyoaktif gıda bileşiklerinin biyoyararışlılığını etkilemektedir (3). Karotenoidler meyve ve sebze matriksinde gömülü halde bulunurlar. Biyoaktif gıda bileşiklerinin metabolize olabilmeleri için öncelikle buldukları gıda matriksinden açığa çıkmaları gerekmektedir (16). Tydeman ve ark., gerçekleştirdikleri çalışmada havuçta  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği için sindirim öncesi hücre duvarı yapısının tahrip edilmesinin mutlak bir gereklilik olduğu sonucunu ortaya koymuşlardır (17). Lemmens ve ark., işlem görmemiş ve pişirilmiş havuçta partikül boyutu ile  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği arasında güçlü bir ilişki olduğunu ve pişirme sonrası, çalışılan tüm partikül boyutlarında biyoreişilebilirliğin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Termal ya da mekanik yollarla matriks tahribatının  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği açısından kritik öneme sahip olduğu ortaya konmuştur (18). Havuç parçalarına uygulanan ön-ısısal işlem sonucundaki havuç sertliği ile  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği arasında negatif bir ilişki olduğu, havuç püresi eldesinde kullanılan ısısal işlemle matriksin hasar görmesi nedeniyle  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğinin arttığı saptanmıştır (19,20). Knockaert ve ark., havuç püresiyle yaptıkları çalışmada, 50 MPa'ın üstündeki basınç değerlerinde tahrip olan hücrelerde  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğinin arttığını, mikroskopik görüntülerin de bu bulguyu desteklediğini bildirmişlerdir (21). Isısal işlem görmüş havuç püresine yağ ilavesi karotenoidlerin ( $\beta$ -karoten ve  $\beta$ -karoten) biyoreişilebilirliğini, işlem görmemiş havuçlara göre 10 kat arttırmıştır (22). Havucun pişirilmesi sırasında zeytinyağı ilavesi karotenoid ekstraksiyonunu ve misel oluşumunu arttırmıştır (23). Anese ve ark., ultrasonik uygulamaların, hidrojen bağları ve hidroskopik interaksiyonlardan kaynaklanan yeni bir yapının oluşmasına neden olduğunu ifade etmişler ve bu durumun likopen biyoreişilebilirliğini azalttığını ortaya koymuşlardır (24). Colle ve ark., yüksek basınç homojenizasyonu sonucunda yapının direnciyle likopen biyoreişilebilirliği arasında ters bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (25). Lemmens ve ark. çalışmalarında pilot ölçekli olarak uyguladıkları ısısal işlemlerin havucun kalitesi, tekstürel ve besleyici özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Havuç sertliği kompresyon testi ile  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği ise *in vitro* sindirim ile değerlendirilmiştir. Sonuçta daha şiddetli olarak uygulanan ısısal

işlemin  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğini önemli derecede arttırdığı ortaya konulmuştur. Ancak bu durum havuç yapısında ve sertliğinde bozulmalara neden olmuştur. Sonuçta  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğini arttıracak ve aynı zamanda istenen havuç tekstürünün de elde edilebileceği bir ısısal işlem uygulama stratejisinin benimsenmesi gerekliliği ifade edilmiştir (26). Knockaert ve ark. zeytinyağı ilave edilmiş havuç püresinin yüksek basınç homojenizasyonu ile pastörize edilmesi sonucunda  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğinin arttığını saptamışlardır. Ancak yüksek basınçta uygulanan pastörizasyon için sonuç farklı olmuştur. Yağın yüksek basınç altında kristalleşerek  $\beta$ -karoten çözünürlüğünü engelleme olasılığı göz ardı edilmemelidir (21). Corte-Real ve ark., seçtikleri dört faktörün  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğini etkilediği hipotezini kurmuşlardır. Bu faktörler (i) kullanılan lipit matriksinin tipi (süt, krema, yağ), (ii) emülsifiye ajanının varlığı/yokluğu (lesitin, taurokolat), (iii) gastriklipaz ilavesi (iv) diğestanın son (20 ya da 200 nm) filtrasyonudur. Emülsifiye karışımının (lesitin+monoolein+oleik asit) eklenmesi  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliğini üç kat arttırmıştır. Ancak intestinal sindirim öncesi gastrik lipaz ve taurokolat ilavesi ile önemli bir değişim söz konusu olmamıştır.  $\beta$ -karoten biyoreişilebilirliği özellikle filtrasyon sonrasında yağ ile birlikte kullanımda süt ile birlikte kullanımına kıyasla daha yüksek bulunmuştur (16).

$\beta$ -karoten biyoyararışlılığı (%10-65) karotenler ile kompleks oluşturan proteinler, lif ve hücre duvarının sindirime direnç göstermesi nedeniyle genellikle düşüktür (27). Hidrofilik matriks içinde emülsiyon yapısındaki formülasyonların karotenoidlerin biyoyararışlılığını arttırdığı rapor edilmiştir (28). Hidrofobik karakterdeki biyoaktif bileşiklerin düşük biyoreişilebilirliğine çok sayıda faktör neden olmaktadır (29). Çeşitli fizikokimyasal ve fiziksel proseslerle gıda matriksinden kolaylıkla açığa çıkamamaları, gastrointestinal sıvılardaki düşük çözünürlük, yüksek erime noktası ve düşük kimyasal stabiliteye sahip olmaları lipofilik karakterdeki biyoaktif gıda bileşiklerinin biyoyararışlılığını azaltan faktörlerdir. Bu nedenle uzun dönemde potansiyel sağlık etkilerini tam anlamıyla gerçekleştirmezler (2,3). Bu noktadan hareketle lipofilik özellikteki biyoaktif bileşiklerin biyoyararışlılığını/ biyoreişilebilirliğini arttıracak stratejilerin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Doğru bir strateji geliştirebilmek

için öncelikle biyoaktif gıda bileşiğinin fizikokimyasal ve fizyolojik mekanizmalarının çok iyi bilinmesi gerekmektedir (30).

Genellikle gıdalarda bulunan hidrofobik karakterdeki biyoaktif bileşiklerin biyoyararlılığını artırmak üzere iki yaklaşım söz konusudur. İlki biyoaktif bileşiklerin bulunduğu yapıdan (meyve ve sebzelerden) izole edilerek uygun bir taşıma sistemine aktarılmasıdır (14). Biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonunda çoğunlukla kollodial taşıma sistemleri (moleküler kompleksler, mikroemülsiyonlar, emülsiyonlar, lipozomlar, katı sıvı nanopartiküller, biyopolimer partiküller ve mikrojeller) kullanılmaktadır. Emülsiyon bazlı taşıma sistemleri bu amaç için oldukça uygundur (3). Lipofilik karakterdeki biyoaktif bileşiklerin enkapsülasyonu; agregasyona karşı direnç sağlar, tekstür modüle edilir ve biyoyararlılık artar (31). Çok sayıda gıdada uygulanabilir olması ve prosese dönüştürülmesi kolay olduğu için gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır. İkinci yaklaşım ise, biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğini artırmak üzere onları özel olarak dizayn edilen eksojen gıdalarla tüketmektir (3). Bu konuda beslenme, eczacılık ve gıda bilimleri tarafından yapılan çalışmalar, çok sayıda biyoaktif bileşiğin birlikte tüketildiği gıdalardan etkilendiğini ortaya koymaktadır (30). Örneğin; lipit ilavesi eklenen lipidin tipine, miktarına ve yapısına bağlı olarak lipofilik biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğini arttırmaktadır (3). Karotenoidlerin çözünmesi ve emilimi için ortamda yağın bulunması gerekmektedir. Yağ asidinin zincir uzunluğu arttıkça lipofilik karakterdeki biyoaktif bileşiklerin karışım misel formu içinde çözünabilirliği de artmaktadır. Uzun zincirli yağ asitlerinin kullanımıyla apolar karakterdeki moleküller, orta zincirli yağ asitlerine göre karışım misel formunda daha kolay hapsolurlar. Orta zincirli yağ asitleri emülsiyonu çevreleyen sulu faza hızlıca geçme eğilimi gösterirken, uzun zincirli yağ asitleri o/w emülsiyonun ara fazında birikirler. Bu farklılık sonucunda uzun zincirli yağ asitlerinin kısa ve orta zincirli yağ asitlerine göre lipofilik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini daha fazla artırdığı saptanmıştır (32). Havuç ve domatesin *in vitro* sindirimi sırasında lipit ilavesi ile oluşan misel yapıların biyoaktif bileşiklerin çözünürlüğünü ve dolayısıyla biyoerişilebilirliklerini artırdığı belirlenmiştir.

Sebzelerle yağın birlikte tüketiminin, karotenoid biyoerişilebilirliğini artırdığı bilinmektedir (2). Hornero-Méndez ve ark., havuçların pişirilmesi sırasında eklenen zeytinyağının, karotenoid biyoerişilebilirliğini artırdığını saptamışlardır (33). Partikül boyutunun zeytinyağı ilave (o/w emülsiyon) edilmiş havuç ve domates örneklerindeki karotenoidlerin biyoerişilebilirliği üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, elde edilen o/w emülsiyonuyla karotenoid biyoerişilebilirliğinin arttığı ifade edilmiştir (34). Bir başka çalışmada ise domates pulpuna proses öncesi yağ ilave etmenin likopen biyoerişilebilirliğini artırdığı ancak farklı yağ asidi kompozisyonuna sahip (hindistan cevizi yağı, zeytinyağı ve balık yağı) yağ kullanımının proses koşullarına oranla karotenoid biyoerişilebilirliğini daha az etkilediği ifade edilmiştir (35). Domates pulpunda likopen biyoerişilebilirliğinin değerlendirildiği bir çalışmada ise karotenoid biyoerişilebilirliğinin ilave edilecek yağın miktarına ve yağ asidi kompozisyonuna göre ilave edilen yağ çeşidine bağlı olduğu ortaya konulmuştur (36). Salata yağının, sebzelerde bulunan karotenoidler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, ilave edilen yağ ile birlikte  $\beta$ -karotenin hücreden açığa çıkma oranının ve çözünürlüğünün arttığı belirlenmiştir. Ancak lutein  $\beta$ -karotene göre daha az hidrofobik olduğu için kullanılan tüm yağ tiplerinde lutein biyoerişilebilirliğinde artış görülmemiştir (37). Su, %5 oranında  $\beta$ -karotene zenginleştirilmiş (havuç kaynaklı) zeytinyağı ve emülsifiyer olarak farklı konsantrasyonlarda (%1-2-3-4) L- $\alpha$ -fosfotidilkolin içeren havuç bazlı model gıda emülsiyonuna *in vitro* lipit sindirimi uygulanarak  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliği değerlendirilmiştir. Sonuçta, fosfotidilkolinin emülsiyona eklenmesiyle biyoerişilebilirlikte artış gözlenmiştir (38).

Çoğu polisakkarit gastrointestinal sistemde vizkoziteyi, jel formunu artırarak kütle transferini değiştirir. Bazı diyet lifleri ise gıda matriksini oluşturan bileşiklerin etrafını geçirimsiz şekilde kaplayarak sindirimini inhibe eder ve biyoaktif gıda bileşenin açığa çıkma oranını azaltır (3). Yapılan bir çalışmada, yağ damlacıklarının nişasta temelli hidrojel içinde yer alması ile lipit sindiriminin ve  $\beta$ -karoten biyoerişilebilirliğinin serbest halde olan yağ damlacıklarına oranla arttığı ortaya konulmuştur. Bu durumun nişastanın,

lipit damlacıklarının ağız ve mide içerisinde agregasyonunu önlemesi ve bu yolla lipazın lipit fazına erişiminin artmasından ileri geldiği düşünülmektedir. Aynı zamanda nişastanın ortamda bulunması, gastrointestinal sıvıda  $\beta$ -karoten içeren misellerde yer alan proteinin çökmesini engellemiştir (39, 40). Pektin gibi çözünabilir liflerin diyetdeki yağların sindirimi süresince gerçekleşen fizikokimyasal olayları ve karotenoidler gibi lipofilik mikro besin öğeleri emilimini etkilediği bilinmektedir. Bu konuda yapılan bir başka çalışmada ise pektin konsantrasyonunun ve metil esterefikasyon derecesinin su içinde yağ emülsiyonunda (o/w emülsiyon) yer alan  $\beta$ -karoten üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada pektin tipine bağlı olarak lipit sindiriminin ve karotenoid biyoerişilebilirliğinin değiştiği saptanmıştır. En yüksek emülsiyon stabilitesi orta ya da yüksek metil esterefikasyon derecesine sahip %2 konsantrasyonda pektin kullanıldığında elde edilmiştir. *In vitro* mide sindirimi süresince pektinle oluşan jel benzeri yapının  $\beta$ -karotenin yağ damlacıkları içerisinde tutulmasını önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir (41).

Çoğu gıda proteini ve peptitleri güçlü antioksidan aktiviteleri nedeniyle biyoaktif bileşiklerin kimyasal degradasyona uğramalarını engeller. Örneğin  $\omega$ -3 yağ asitlerinin ve karotenoidlerin gastrointestinal sistemde okside olmasının önüne geçerler (3). Proteince zengin, yağı alınmış soya unu ilavesi, yaban mersini suyundaki antosiyaninlerin biyoyararışlılığını arttırmıştır (42).

## EKSİPIYAN GIDA

Son yıllarda fonksiyonel gıdaların üretimi ve kullanımına ilişkin talep artmaktadır. Yapılan çalışmalar, tüketicilerin fonksiyonel gıdaları satın alma kararlarında geleneksel gıdalara göre daha fazla bulunan sağlık üzerine olumlu özelliklerin etkili olduğunu göstermektedir (43). Ancak bilim dünyasında bu konuya yönelik başlıca kaygı biyoaktif bileşiklerin düşük biyoyararışlılığıdır. Bu sorunu çözmeye yönelik günümüz yaklaşımı gıda matriksinin dizayn edilmesidir. Bu kapsamda yukarıda özetlenen çalışmalar yapılmakta ve devam etmektedir. Ancak en yeni yaklaşım faydalı etkinin eksipiyen gıdalarla artırılmasıdır. Buradaki temel fikir gıdanın kompozisyonu ve/veya yapısı sağlık faydasını artıracak şekilde özel olarak dizayn edilmiş diğer bir gıda ile (eksipiyen gıda) birlikte tüketilmesidir (2). Eksipiyen gıdalar nutrasötiklerin biyoyararışlılığını arttırmak üzere onların biyoerişilebilirliği ( $B^*$ ), emilimi ( $A^*$ ) ve sindirim sonrası transformasyonu ( $T^*$ ) modüle edilerek spesifik olarak dizayn edilmektedir (44). Çizelge 1'de bazı nutrasötiklerin biyoyararışlılığını/ biyoerişilebilirliğini arttırmak üzere hazırlanabilecek potansiyel eksipiyen gıdalara örnekler verilmiştir (2).

Literatürde karotenoid biyoerişilebilirliğini birlikte tüketildiği eksipiyen gıdalarla arttırmaya yönelik bazı çalışmalar mevcuttur. Liu ve ark., gerçekleştirdikleri bir çalışmada, işlem görmemiş ve pişirilmiş sarı biberdeki karotenoid biyoerişilebilirliğinin eksipiyen gıda olarak yağ ilavesiyle arttığını saptamışlardır. Yağın zincir uzunluğunun; mikro yapısal değişiklikler, partikül özellikleri, lipit sindirilirliği ve karotenoid

Çizelge 1. Gıdalarda yer alan biyoaktif bileşenlerin biyoyararışlılığını/ biyoerişilebilirliğini arttırmak üzere hazırlanabilecek bazı potansiyel eksipiyen gıda örnekleri (2).

Gıda kaynağı	Biyoaktif bileşenler	Potansiyel eksipiyen gıda
<i>Salata</i> Marul, lahanana, havuç, domates, biber vb.	Karotenoidler	Salata sosu
<i>Pişmiş sebzeler</i> Havuç, biber, ıspanak, lahanana vb.	Karotenoidler	Sos
<i>Fındık ve tohumlar</i> Badem, ceviz, fıstık, ayçiçeği tohumu vb.	Karotenoidler, vitaminler, fitosteroller	Yenilebilir kaplamalar
<i>Meyveler</i> Yaban mersini, çilek, ahududu, elma, armut vb.	Flavonoidler, vitaminler	Krema, dondurma, yoğurt
<i>Balık</i> Somon, ton balığı, ringa balığı, uskumru vb.	$\omega$ -3 yağ asitleri	Sos
<i>İçecekler</i> Çay, kahve, sıcak çikolata vb.	Polifenoller	Süt, krema

biyoerişilebilirliği üzerine etkisi olduğu belirlenmiştir. Uzun zincirli yağ asitleri karotenoid biyoerişilebilirliğini arttırmıştır (45). Karakaya ve ark., tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise salata ile birlikte tüketildiğinde sebzelerde yer alan biyoaktif bileşiklerin olumlu etkilerini arttıracak bir sos dizayn edilmiştir. Çalışmada, salata sosu içerisinde yer alan biyoaktif bileşik içeriğini arttırmak üzere çimlendirilmiş mercimek, börülce filizi ve tohumu ile peynir altı suyu proteininden izole edilen kazeinomakropeptit ilave edilmiştir (46).

### **EKSİPIYAN EMÜLSİYON**

Bu kısımda, doğal ürünlerde bulunan biyoaktif gıda bileşiklerinin biyoerişilebilirliklerini arttıracak ekşi piyan emülsiyonların potansiyel uygulamalarından bahsedilecektir. Ekşi piyan emülsiyonların yaygın olarak kullanımlarından biri gastrointestinal sıvılarda yer alan hidrofobik özellikteki biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğini arttırmaya yönelik yapılan çalışmalardır. Lipit damlacıkları apolar bir solvent gibi davranarak hidrofobik biyoaktif bileşiklerin bitki dokuları içerisinde açığa çıkmalarını kolaylaştırmaktadır. Buna ek olarak triaçilgliseroller gibi sindirilebilir yağları içeren ekşi piyan emülsiyonlar hızlıca sindirilerek monoaçilgliseroller ve serbest yağ asitlerine dönüşeceklerdir. Bu lipit sindirim ürünleri fosfolipit, safra tuzları, kolesterol ile birlikte misel formundadır. Ekşi piyan emülsiyonların hidrofobik özellikteki biyoaktif bileşiklerin biyoerişilebilirliğini artırma özelliği miktara, kompozisyona, lipit damlacıklarının boyutuna bağlıdır. Bu faktörlerin etkisi biyoaktiflerin açığa çıkışı ve çözünürlüğünün artışından ileri gelmektedir (29).

Su içinde yağ emülsiyonları ya da nanoemülsiyonlar farklı mekanizmalarla hidrofobik, hidrofilik ve amfilik bileşenler içerecek şekilde dizayn edilebilirler ve bu özellikleri nedeniyle farklı biyoaktif bileşiklerin biyoyararışlılığını/ biyoerişilebilirliğini arttırabilirler. Nanoemülsiyon çözelti fazı içinde dağılmış halde 100 nm damlacık boyutundan küçük yapıları içeren emülsiyonlardır (47). Nanoemülsiyonlar, yerçekimine bağlı olarak ayrılmaya ve damlacık agregasyonuna karşı daha yüksek bir stabilite gösterirler ve geleneksel emülsiyonlara göre termodinamik açıdan daha stabildirler (44,48). Küçük damlacık boyutu bitki dokuları içerisinde kolaylıkla penetre olmak anlamına da geldiğinden karotenoid çözünürlüğünün artması

beklenmektedir. Bunun yanı sıra küçük yağ damlacıkları daha geniş yüzey alanına sahip olduklarından gastrointestinal bölgede daha kolay sindirilmekte ve bu özellik karotenoidler gibi lipofilik karakterdeki bir biyoaktif bileşiğin biyoerişilebilirliğini artırıcı etki oluşturmaktadır (47).

Su içinde yağ emülsiyonları, su fazı içinde dispers halde yer alan küçük yağ damlacıklarından oluşan ve her bir yağ damlası ince tabakalı emülsifiyer tarafından kaplanmış heterojen sistemlerdir (49). Yağ fazı sindirilebilir yağlar (triaçilgliseroller), sindirilemeyen yağlar (esansiyel yağlar, mineral yağları), antioksidanlar, renk maddeleri, fitokimyasallar, vitaminler gibi çok sayıda bileşeni bünyesinde barındırır. Su fazı içerisinde de emülsiyonun özelliklerini etkileyen çok sayıda bileşen yer alır. Örneğin asitler, bazlar, karbonhidratlar, tuzlar, proteinler, sürfektanlar, şelatlama ajanları bunlardan bazılarıdır. Başka bir deyişle, ekşi piyan emülsiyonların dizaynında farklı tiplerde ve konsantrasyonlarda çok sayıda bileşen kullanılabilir. Su içinde yağ emülsiyonlarında, gıda bileşenleri ve proses kolaylıkla formüle edilebilir ve geniş bir çeşitlilikte gıda üretimi (içecekler, yoğurtlar, salata sosları, soslar ve tatlılar vb.) gerçekleştirilebilir (29). Sonuç olarak nanoemülsiyonlar biyoaktif bileşiklerin biyoyararışlılığını/ biyoerişilebilirliğini arttırmak üzere gıda ile birlikte tüketilen bir ekşi piyan emülsiyon olabilirler. Ancak biyoaktif gıda bileşiklerinin biyoyararışlılığını arttırmada ekşi piyan nanoemülsiyonların etkisinin detaylı olarak incelenmesine gereksinim duyulmaktadır (48).

Süt doğal bir ekşi piyan emülsiyondur. Bünyesinde yer alan yağ damlacıkları, proteinler, karbonhidratlar ve mineraller sulu kısımına dispers halde yer alırlar. Ancak süt, gıdalarda yer alan biyoaktif bileşiklerin biyoyararışlılığını arttırdığı gibi azaltıcı etki de gösterebilmektedir. Çalışmalar yağsız sütün tam yağlı ya da yarım yağlı süte kıyasla çayın toplam antioksidan kapasitesini daha fazla azalttığını ortaya koymuştur. Bu noktada yağ damlacıkları koruyucu bir rol üstlenmektedir. Karışık meyve suyuna süt ilavesi, lipofilik nütrosötiklerin biyoerişilebilirliğinin artışına neden olurken, hidrofilik karakterde olanların biyoerişilebilirliğinde azalma meydana gelmiştir (29). Sütte yer alan proteinlerin ve minerallerin yeşil çay flavanollerinin (epikateşin, epigallokateşin-3-gallat, epigallokateşin vb.) biyoerişilebilirliği üzerine etkisinin incelendiği

bir çalışmada yeşil çay içerisine sodyum kazeinat,  $\beta$ -laktoglobulin ve  $\alpha$ -laktalbumin içeren protein çözeltileri ilave edilmiştir. Süt proteinlerinden özellikle sodyum kazeinatın yeşil çaydaki flavanol biyoerişilebilirliğini önemli derecede azalttığı ortaya konulmuştur. Ancak sütte bulunan kalsiyum, magnezyum gibi minerallerin bu durumun aksine flavanol biyoerişilebilirliğini önemli derecede arttırdığı ifade edilmiştir. Bu durumun mekanizması tam olarak bilinmese de sütte bulunan kalsiyum, magnezyum gibi mineraller ile flavanol arasındaki interaksiyon sonucu oluşan kompleks yapının sindirim süresince flavanolein stabilitesini koruduğu düşünülmektedir (50).

Zhang ve ark., tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise işlem görmemiş ve pişirilmiş havuçta bulunan karotenoidlerin biyoerişilebilirliğini arttıracak eksipiyen emülsiyonda, lipit konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Bu amaçla gastrointestinal bölge simule edilmiştir. Eksipiyen emülsiyonda; uzun zincirli trigliserit (mısır yağı) ve doğal emülsifiyer olarak da peynir altı suyu proteini kullanılmıştır. Yağ konsantrasyonunun artışına bağlı olarak karotenoid biyoerişilebilirliğinin arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca ağız, mide ve ince bağırsak sindirimleri boyunca partikül boyutunda, partikül yükünde ve mikro yapıdaki değişimler incelenmiştir (51).

Fıstık yağı içeren emülsiyonların domates suyundaki karotenoidler üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada likopen biyoerişilebilirliğinin emülsifikasyona ve emülsiyon ajanının tipine bağlı olarak değiştiği ortaya konulmuştur (52). Çeşitli emülsiyonların salata ve sebzelerdeki karotenoidlere etkisinin incelendiği bir çalışmada salataya ve sebzelere yapılan yağ ilavesinin, yağ asidi tipine bağlı olarak likopen biyoerişilebilirliğini arttırdığı görülmüştür (37). Yapılan bir çalışmada gastrointestinal koşullar simule edilerek domates suyundaki likopenin biyoerişilebilirliğini arttırmak üzere eksipiyen emülsiyon kullanımı amaçlanmıştır. Damlacık çapının ve termal uygulamaların (90 °C, 10 dakika) likopen biyoerişilebilirliği üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Eksipiyen emülsiyon kullanılmadığı koşullarda likopenin kromoplastta gömülü halde olduğu veya, doğal yapısı gereği biyoerişilebilirliği düşük bulunmuştur. En yüksek biyoerişilebilirlik küçük damlacık içeren emülsiyon kullanımında saptanmıştır. Termal uygulamanın domates hücrelerini düşük oranda tahrip ettiği ve bunun sonucunda likopen biyoerişilebilirliğindeki

artışın düşük düzeyde kaldığı ifade edilmiştir. Sonuçta, eksipiyen emülsiyonun domates suyundaki likopen biyoerişilebilirliğini arttırdığını söylemek mümkündür (47).

Mangoda bulunan karotenoidlerin biyoerişilebilirliğini arttırmak üzere eksipiyen nanoemülsiyonun etkisinin incelendiği bir çalışmada;  $d < 200$  nm olmak üzere sindirilebilir nanopartikülleri içeren su içinde yağ eksipiyen nanoemülsiyonu, yağ fazında orta ve uzun zincirli yağ asitleri içeren trigliserit kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan nanoemülsiyonlar mango ile karıştırılmış ve ağız, mide, ince bağırsak olmak üzere simule gastrointestinal bölgeden geçirilmiştir. Karotenoid biyoerişilebilirliği uzun zincirli yağ asidinden hazırlanan nanoemülsiyon > orta zincirli yağ asidinden hazırlanan nanoemülsiyon > tampon çözelti şeklinde olmuştur. Bu değişimin intestinal sıvıda yer alan misellerin çözünabilirliğindeki farklılıktan ileri geldiği bildirilmiştir (44).

### SONUÇ

Tüm bu çalışmalar, eksipiyen gıda ve emülsiyonların dizaynında dikkatli olmanın önemini göstermektedir. Spesifik eksipiyen gıda bileşenlerinin rollerini anlayabilmek, interaksiyonlarını ve biyoyararlılık adına etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla gerçekleştirilmesi gereken daha fazla bilimsel çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. Örneğin kompleks bir diyetle tüketilen eksipiyen gıdanın biyoaktif gıda bileşiminin biyoyararlılığı üzerine etkisi incelenmelidir. Bunun yanı sıra eksipiyen gıdaların insan sağlığı üzerine olası yan etkilerinin de belirlenmesi gereklidir (19).

### KAYNAKLAR

1. Abuajah CI, Ogbonna AC, Osuji CM. 2015. Functional components and medicinal properties of food: A review. *J Food Sci Technol*, 52(5): 2522-2529.
2. McClements, D.J., 2015. Enhancing nutraceutical bioavailability through food matrix design. *Curr Opin Food Sci*, 4:1-6.
3. McClements, D.J., and Xiao, H., 2014. Excipient foods: designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. *Food Funct*, 5:1320-1333.



4. Parada, J., Aguilera, J.M., 2007. Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *J Food Sci*, 72(2):21-32.
5. Fernandez-Garcia, E., Carvajal-Lerida, I., Perez-Galvez, A., 2009. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutr Res*, 29(11):751-760.
6. Courraud, J., Berger, J., Cristol, J.P., Avallone, S., 2013. Stability and bioaccessibility of different forms of carotenoids and vitamin A during in vitro digestion. *Food Chem*, 136(2):871-877.
7. Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frigola, A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 13:155-171.
8. Holst, B., Williamson, G., 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Curr Opin Biotechnol*, 19:73-82.
9. Silve de Lima, A.C., da Rocha Viana, J.D., de Souza Sabino, L.B., da Silva, L.M., da Silva, N.K., de Sousa, P.H., 2016. Processing of three different cooking methods of cassava: Effects on in vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity. *Food Sci Technol*, In press.
10. Anese, M., Bot, F., Panozzo, A., Mirolo, G., Lippe, G., 2015. Effect of ultrasound treatment, oil addition and storage time on lycopene stability and in vitro bioaccessibility of tomato pulp. *Food Chem*, 172:685-691.
11. Kamiloglu, S., Pashi, A.A., Ozcelik, B., Camp, J.V., Capanoglu, E., 2015. Influence of different processing and storage conditions on in vitro bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. *Food Chem*, 186:74-82.
12. Pineda-Vadillo, C., Nau, F., Dubiard, C.G., Cheynier, V., Meudec, E., Sanz-Buenhombre, M., Guadaramma, A., Toth, T., Csvajda, E., Hingyi, H., Karakaya, S., Sibakov, J., Capozzi, F., Bordoni, A., Dupont, D., 2016. In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activities. *Food Res Int*, 88:284-292.
13. Sengul, H., Surek, E., Erdil, D.N., 2014. Investigating the effects of food matrix and food components on bioaccessibility of pomegranate (*Punicagranatum*) phenolics and anthocyanins using an *in-vitro* gastrointestinal digestion model. *Food Res Int*, 62:1069-1079.
14. Alminger, M., Aura, A.M., Bohn, T., Dufour, C., El, S.N., Gomes, A., Karakaya, S., Martinez-Cuesta, M.C., Mcdougall, G., J., Requena, T., Santos, C., N., 2014. In vitro models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 13:413-436.
15. West, C., E., Castenmiller, J.J.J.M., 1998. Quantification of the "SLAMENGHI" factors for carotenoid bioavailability and bioconversion. *Int J Vitam Nutr Res*, 68:371-377.
16. Corte-Real, J., Richling, E., Hoffmann, L., and Bohn, T., 2014. Selective factors governing in vitro  $\beta$ -carotene bioaccessibility: negative influence of low filtration cutoffs and alterations by emulsifiers and food matrices. *Nutr Res*, 34:1101-1110.
17. Tydeman, E. A., Parker, M. L., Wickham, M. S. J., Rich, G. T., Faulks, R. M., Gidley, M. J., 2010. Effect of carrot (*Daucuscarota*) microstructure on carotene bioaccessibility in the upper gastrointestinal tract: In vitro simulations of carrot digestion. *Journal of Agricultural and Food Chem*, 58:9847-9854.
18. Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., and Hendrickx, M., 2010. Particle size reduction leading to cell wall rupture is more important for  $\beta$ -carotene bio-accessibility of raw compared to thermally processed carrots. *J Agric Food Chem*, 58:12769-12776.
19. Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Oey, I., Van Loey, A., and Hendrickx, M., 2009. Towards a better understanding of the relationship between the  $\beta$ -carotene in vitro bio-accessibility and pectin structural changes: a case study on carrots. *Food Res Int*, 42:1323-1330.
20. Netzel, M., Netzel, G., Zabaras, D., Lundin, L., Day, L., Addepalli, R., 2011. Release and absorption of carotenes from processed carrots (*Daucuscarota*) using in vitro digestion coupled with a Caco-2 cell trans-well culture model. *Food Res Int*, 44:868-874.

21. Knockaert, G., Lemmens, L., Van Bugghenhout, S., Hendrickx, M., Van Loey, A., 2012. Changes in  $\beta$ -carotene bioaccessibility and concentration during processing of carrot puree. *Food Chem*, 133:60-67.
22. Hedren, E., Diaz, V., Svanberg, U., 2002. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *Eur J Clin Nutr*, 56:425-430.
23. Hornero-Mendez, D., Minguéz-Mosquera, M. I., 2007. Bioaccessibility of carotenes from carrots: effect of cooking and addition of oil. *Innov Food Sci and Emerg Technol*, 8:407-412.
24. Anese, M., Mirolo, G., Beraldo, P., and Lippe, G., 2013. Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. *Food Chem*, 136:458-463.
25. Colle, I., Van Bugghenhout, S., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2010. High pressure homogenization followed by thermal processing of tomato pulp: influence on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. *Food Res Int*, 43:2193-2200.
26. Lemmens, L., Colle, I., Knockaert, G., Van Bugghenhout, S., Van Loey, A., Hendrickx, M., 2013. Influence of pilot scale in pack pasteurization and sterilization treatments on nutritional and textural characteristics of carrot pieces. *Food Res Int*, 50:526-533.
27. Saini, R.K., Nile, S.H., Park, S.W., 2015. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res Int*, 76:735-750.
28. Yi, J., Zhong, F., Zhang, Y., Yokoyama, W., Zhao, L., 2015. Effects of Lipids on in Vitro Release and Cellular Uptake of  $\beta$ -Carotene in Nanoemulsion-Based Delivery Systems. *J Agric Food Chem*, 63(50):10831-10837.
29. McClements, D.J., Saliva-Trujillo, L., Zhang, R., Zhang, Z., Zou, L., Yao, M., Xiao, H., 2015. Boosting the bioavailability of hydrophobic nutrients, vitamins, and nutraceuticals in natural products using excipient emulsions. *Food Res Int*, Article in press.
30. McClements, D.J., Zou, L., Zhang, R., Salvia-Trujillo, L., 2015. Enhancing nutraceutical performance using excipient foods: Designing Food structures and compositions to increase bioavailability. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 14:824-847.
31. Wang, Z., Neves, M.A., Isoda, H., Nakajima, M., 2015. Preparation and Characterization of Micro/Nano-emulsions Containing Functional Food Components. *Jpn J Food Eng*, 16(4):263-276.
32. Salvia-Trujillo, L., Qian, C., Martin-Belloso, O., McClements, D.J., 2013. Modulating  $\beta$ -carotene bioaccessibility by controlling oil composition and concentration in edible nanoemulsions. *Food Chem*, 139:878-884.
33. Hornero-Mendez, D., Minguéz-Mosquera, M. I., 2007. Bioaccessibility of carotenes from carrots: effect of cooking and addition of oil. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 8:407-412.
34. Moelants, K.R.N., Lemmens, L., Vandebroek, M., Van Bugghenhout, S., Van Loey, A.M., Hendrickx, M. E., 2012. Relation between particle size and carotenoid bioaccessibility in carrot- and tomato-derived suspensions. *J Agric Food Chem*, 60:11995-12003.
35. Colle, I.J.P., Lemmens, L., Van Bugghenhout, S., Met, K., Van Loey, A., and Hendrickx, M., 2013. Processing tomato pulp in the presence of lipids: the impact on lycopene bioaccessibility. *Food Res Int*, 51:32-38.
36. Colle, I.J.P., Van Bugghenhout, S., Lemmens, L., Van Loey, A. M., and Hendrickx, M. E., 2012. The type and quantity of lipids present during digestion influence the in vitro bioaccessibility of lycopene from raw tomato pulp. *Food Res Int*, 45:250-255.
37. Nagao, A., Kotake-Nara, E., & Hase, M., 2013. Effects of fats and oils on the bioaccessibility of carotenoids and vitamin E in vegetables. *Biosci Biotechnol & Biochem*, 77:1055-1060.
38. Verrijssen, T., A., J., Smeets, K., H., G., Christiaens, S., Palmers, S., Van Loey, A., M., Hendrickx, M., E., 2015. Relation between in vitro lipid digestion and  $\beta$ -carotene bioaccessibility in  $\beta$ -carotene-enriched emulsions with different concentrations of L- $\alpha$ -phosphatidylcholine. *Food Res Int*, 67:60-66.
39. Mun, S., Kim, Y., R., McClements, D., J., 2015. Control of  $\beta$ -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food Chem*, 173: 454-461.
40. Mun, S., Kim, Y., R., Shin, M., McClements, D.J., 2015. Control of lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility using starch-based filled hydrogels: Influence of starch and surfactant type. *Food Hydrocoll*, 44:380-389.

41. Verrijssen, T.A.J., Balduyck, L., G., Christiaens, S., Van Loey, A., M., Van Buggenhout, S., Hendrickx, M., E., 2014. The effect of pectin concentration and degree of methyl-esterification on the in vitro bioaccessibility of  $\beta$ -carotene-enriched emulsion. *Food Res Int*, 57:71-78.
42. Ribnicky, D., M., Roopchand, D., E., Oren, A., Grace, M., Poulev A., Lila, M., A., Havenaar, R., Raskin, I., 2014. Effects of a high fat meal matrix and protein complexation on the bioaccessibility of blueberry anthocyanins using the TNO gastrointestinal model (TIM-1). *Food Chem*, 142:349-357.
43. Pappalardo, G, Lusk, J.L., 2016. The role of beliefs in purchasing process of functional foods. *Food Qual Pref*, 53:151-158.
44. Xuan Liu, Jinfeng Bi, Hang Xiao, David Julian McClements, 2016. Enhancement of Nutraceutical Bioavailability using Excipient Nanoemulsions: Role of Lipid Digestion Products on Bioaccessibility of Carotenoids and Phenolics from Mangoes. *J Food Sci*, 81(3):754-761.
45. Liu, X., Bi, J., Xiao, H., McClements, D.J., 2015. Increasing carotenoid bioaccessibility from yellow peppers using excipient emulsions: Impact of lipid type and thermal processing. *Agric Food Chem*, 63:8534-8543.
46. Karakaya, S., El, S.N., Şimşek, Ş., 2015. Functional Salad Dressing as an Excipient Food. *Turk J Agric - Food Sci Technol*, 3(11):849-855.
47. Salvia-Trujillo, L., McClements, D.J., 2016. Enhancement of lycopene bioaccessibility from tomato juice using excipient emulsions: Influence of lipid droplet size. *Food Chem*, 210:295-304.
48. Ranjan, S., Dasgupta, N, Chakraborty, A.R., Samuel, M., Ramalingam, C., Shanker, R., Kumar, A., 2014. Nanoscience and nanotechnologies in food industries: opportunities and research trends. *J Nanopartic Res*, 16:2464.
49. Bai, L., Huan, S., Gu, J., McClements, D.J., 2016. Fabrication of oil-in-water nanoemulsions by dual-channel microfluidization using natural emulsifiers: Saponins, phospholipids, proteins, and polysaccharides. *Food Hydrocoll*, 61:703-711.
50. Zhang, R., McClements, D.J., 2016. Enhancing nutraceutical bioavailability controlling the composition and structure of gastrointestinal contents: Emulsion-based delivery and excipient systems. *Food Struc*, 10:21-36.
51. Zhang, R., Zhang, Z., Zou, L., Xiao, H., Zhang, G., Decker, E.,A., McClements, D.J., 2015. Impact of Lipid Content on the Ability of Excipient Emulsions to Increase Carotenoid Bioaccessibility from Natural Sources (Raw and Cooked Carrots). *Food Biophys*, 11:71-80.
52. Degrou, A., George, S., Renard, C.M.G.C., Page, D., 2013. Physicochemical parameters that influence carotenoids bioaccessibility from a tomato juice. *Food Chem*, 136:435-441.

## **GIDA MADDELERİNDE *SALMONELLA* ARANMASINDA LAKTOZ BROTH VE TAMPONLANMIŞ PEPTONLU SU İLE ÖNZENGİNLEŞTİRME SÜRESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hilal Selamoğlu<sup>1</sup>, A. Kadir Halkman<sup>2\*\*</sup>**

<sup>1</sup>A. O. Ç. Süt Fabrikası, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölbaşı, Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 17.05.2017; Kabul / *Accepted*: 31.05.2017; Online baskı / *Published online*: 08.06.2017

Selamoğlu, H.; Halkman, A.K. (2017). Gıda maddelerinde *Salmonella* aranmasında laktoz broth ve tamponlanmış peptonlu su ile önzenginleştirme süresinin karşılaştırılması. GIDA (2017) 42 (4): 457-467 doi: 10.15237/gida.GD17046

### **Öz**

Bu çalışmada, gıdalarda *Salmonella* aranması amacıyla, önzenginleştirme aşamasında ISO tarafından önerilen tamponlanmış peptonlu su ile FDA tarafından kimi gıdaların analizi için önerilen laktoz broth, *S. Enteritidis* ATCC 13076 ve *S. Typhimurium* ATCC 13311 olmak üzere iki farklı *Salmonella* serotipi için denenmiştir. Çalışmada, refakatçi flora olarak *Escherichia coli* ATCC 10536 suşu kullanılmıştır. Işınlanarak sterilize edilmiş kıyma ve UHT süt, ayrı ayrı olmak üzere *S. Enteritidis* + *E. coli* ve *S. Typhimurium* + *E. coli* ile bulaştırılmış, 37 °C'ta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 15, 18, 21 ve 24. saatlerinde *Salmonella* ile *E. coli* sayımları selektif besiyeri kullanılarak yapılmış ve aynı zamanda pH değerleri ölçülmüştür. Denemelerin 2. aşamasında, *Salmonella* serotipleri asetik asit ile zayıflatılmış ve yukarıda belirtilen şekilde devam edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, tamponlanmış peptonlu suda pH stabil kalmış ( $P > 0.05$ ) ancak laktoz brotha pH düşmüştür ( $P < 0.05$ ). pH'nın düşmesi *Salmonella* serotiplerinin tümüyle yok olmasına yetecek kadar olmamıştır ve her koşulda *Salmonella* sayımı gerçekleştirilmiştir. *S. Typhimurium* serotipi özellikle laktoz brotha *S. Enteritidis* serotipine kıyasla daha düşük ( $P < 0.05$ ) sayım sonucu vermiştir. Tüm denemelerde ilerleyen inkübasyon süresine bağlı olarak laktoz brotha pH düşmesi olmakla beraber, bu düşüşün *Salmonella* sayısında önemli bir etkisi olmamıştır ( $P > 0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** *Salmonella*, önzenginleştirme, tamponlanmış peptonlu su, laktoz broth

## **COMPARISON OF THE PRE-ENRICHMENT TIME IN USING LACTOSE BROTH AND BUFFERED PEPTONE WATER FOR *SALMONELLA* DETECTION IN FOODS**

### **Abstract**

In this study; the usage of buffered peptone water recommended by ISO for pre-enrichment step for *Salmonella* detection in foods and lactose broth recommended by FDA for the analysis of some foods, was tested for the analysis of for two different serotypes of *Salmonella* (*S. Enteritidis* ATCC 13076 and *S. Typhimurium* ATCC 13311). *Escherichia coli* ATCC 10536 strain was used as an competitive flora in the study. The irradiated minced meat and UHT milk were separately contaminated with *S. Enteritidis* + *E. coli* and *S. Typhimurium* + *E. coli* and incubated at 37 °C for 24 hours. *Salmonella* and *E. coli* counts were performed at 15<sup>th</sup>, 18<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, and 24<sup>th</sup> hours of incubation by using selective medium and pH values were measured at the same time. In the second step of experiment, *Salmonella* serotypes were attenuated with acetic acid and the study was continued as described above. According to the results of the study, the pH value in buffered peptone water was stable ( $P > 0.05$ ) but, the same value was decreased in lactose broth ( $P < 0.05$ ). The decrease in pH was not enough to completely inhibit *Salmonella* serotypes and *Salmonella* counts were performed under all conditions. The serotype *S. Typhimurium* serotype showed lower ( $P < 0.05$ ) counts than the serotype *S. Enteritidis* in lactose broth. In all steps, due to the duration of incubation in all experiments there was a decrease in pH value in lactose broth but, this decrease was not a significant effect on *Salmonella* count ( $P > 0.05$ ),

**Keywords:** *Salmonella*, pre-enrichment, buffered peptone water, lactose broth

\* Bu çalışma, birinci yazarın YL tezi özetidir / *This paper is the summary of first author's M. Sc. thesis*

\*\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉ halkman@ankara.edu.tr,

© (+90) 0312 203 3300/3614-3625,

☎ (+90) 312 317 8711

## GİRİŞ

*Salmonella*, *Enterobacteriaceae* üyesi olup, genellikle koliform grup bakteriler tarafından yoğun şekilde kontamine olmuş gıdalarda rastlanır (Halkman vd., 1994; Montville ve Mathews, 2007). *Salmonella* cinsi; somatik, flagellar ve kapsüler antijen tiplendirmesine dayalı olarak 2600'e yakın serotipten oluşmaktadır. (Erol, 2007; Torlak, 2011). *Salmonella* spp. için gelişme sıcaklık aralığı 5-46 °C ve optimum gelişme sıcaklığı 35-37 °C'tir. 4-11 gibi geniş bir pH aralığında gelişme gösterirken, en uygun gelişme pH'sı ise 7.4'tür (Halkman vd., 1994; Aytaç ve Taban, 2010). Çeşitli karbohidratlardan asit ve/veya gaz oluştururlar, sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanırlar, H<sub>2</sub>S üretirler, lizin ve ornithini kadaverin ve putresine dekarboksile ederler, oksidaz negatif, katalaz pozitifler. Laktoz, sakkaroz ve üreyi metabolize edemezler. Bazı atipik *Salmonella* biyotipleri ise lizini dekarboksile edemezken, laktoz, sakkaroz ve üreyi kullanabilirler (Doğan, 1993; Vazgeçer ve Temiz, 2005; Ray ve Bhunia, 2016).

*Salmonella* cinsi, 2600 kadar farklı serotip içermesine karşın, bunlardan sadece 50 kadarı insanlarda patojenite gösterir. Hastalığa yol açan serotiplerin içinde *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* en önemli olanlardır. Bugün kayıtlara geçmiş şekli ile gıda kaynaklı hastalık etmenleri arasında en fazla hastalanmaya yol açan patojen, *Campylobacter jejuni* iken, patojenik *Salmonella* serotipleri en fazla ölüme neden olanlardır (D'aust, 1997; Zorba, 2010; Ray ve Bhunia, 2016).

Gıda kaynaklı hastalıklar ve ölümlere yol açması nedeni ile halk sağlığı açısından bugün üzerinde en çok çalışılan gıda kaynaklı patojenlerden birisi, *Salmonella* spp.'dir. TS EN ISO 6579/A1'e göre standart analizi, 25 g-mL gıda numunesinde var/yok şeklinde yapılır (Anonymous, 2010). Bu standarda göre, selektif olmayan tamponlanmış peptonlu su (TPS) besiyerinde 18 saat önzenginleştirme, Rappaport-Vassiliadis (RVS) broth ve Muller-Kauffman tetrathionate-novobiocine (MKTTn) broth olmak üzere 2 farklı selektif besiyerinde 24 saat süre ile selektif zenginleştirme ve ardından her iki selektif zenginleştirme besiyerinden birisi xylose lysine deoxycholate (XLD) agar ve diğeri kullanıcının tercihinine

birakılmış olmak kaydı ile 2 farklı selektif katı besiyerine sürme ve 24 saat inkübasyon yapılır. Selektif katı besiyerlerindeki inkübasyon sonunda 4 Petri kutusundan bir adedinden dahi *Salmonella* izole edilirse analiz edilen numunede *Salmonella* şüphesi var olarak analiz sonuçlandırılır. Agarlı besiyerinde tipik morfolojide *Salmonella* kolonisi görülmesi yeterli değildir. Biyokimyasal testler uygulanarak tanımlama devam eder ve en son olarak polivalan antiserum ile *Salmonella* tanımlaması biter. Standart gıda analizinde serotiplendirmeye gerek duyulmaz ve izolatin patojen olup olmadığı araştırılmaz. Bununla birlikte, özellikle salgınlarda klinik mikrobiyoloji kayıtları açısından hangi serotipin etmen olduğu genellikle araştırılır (Erol, 2007; Halkman, 2013). Ancak yeni Avrupa gıda yasalarına göre kanatlı hayvan etlerinde *Salmonella* bulunursa, bunun *S. Enteritidis* veya *S. Typhimurium* olup olmadığı önemlidir (Anonymous, 2017).

*Salmonella* spp.'nin bir yandan halk sağlığı açısından yüksek önemi diğer yandan gıda sanayisinde stok maliyetleri nedeni ile olabildiğince hızlı ve doğru bir şekilde analiz edilmesi gereklidir. Bu amaçla, analiz süresini kısaltmayı hedefleyen immunokromatografik analiz yöntemleri yanında genetik esaslı testler ile tanımla süresi kısaltılmakta ve sonuç daha kesin bir şekilde alınmaktadır. Benzer şekilde, immunomanyetik separasyon (IMS), 1980'li yılların başından beri kullanılmaktadır. Yeni ve hızlı analiz teknikleri arasında polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır (İbrahim vd., 1986; Holbrook vd., 1989; Tsai ve Slavik, 1991; Mercanoglu ve Griffiths, 2005; Myint vd., 2006; Ahmed, vd., 2014; Liandris vd., 2014).

*Salmonella* ve diğer patojenlerin analizinde hızlı yöntemlere, özellikle gıda sanayisinde rağbet artmakla birlikte, bugün için yasal analiz yöntemi International Standard Organisation (ISO) ve Food and Drug Administration (FDA) gibi uluslararası kuruluşlar tarafından önerilen klasik kültürel yöntemdir.

Özellikle en önemli gıda kaynaklı patojen olan *Salmonella* analizinde modifikasyon amaçlı olarak her yıl çok sayıda araştırma makalesi yayımlanmaktadır (Hoorfar ve Baggesen, 1998; Daquigan vd., 2016; Jean-Gilles Beaubrun, 2016; Poltronieri vd., 2016).

Gıdalardaki patojen analizlerinde en büyük sorunlardan biri, aranan bakterinin stres altında olmasıdır. Gerek selektif zenginleştirme sıvı besiyerleri gerek zenginleştirme sonrası kullanılan selektif katı besiyerleri, refakatçi floranın gelişmesini baskılayacak çeşitli inhibitör maddeler içerir. Bu selektif maddeler, hedef mikroorganizmanın gelişmesini minimum düzeyde baskılayarak, refakatçi florayı maksimum düzeyde baskılayarak selektif inhibitory ile kasıt budur. Bir diğer deyiş ile bu kimyasallar geniş spektrumlu antibiyotik değildir. Besiyerlerindeki derişimleri, hedef bakteriye minimum zarar verecek kadardır. Ancak, eğer hedef bakteri stres altında ise, bu kimyasalların varlığından olumsuz etkilenir ve selektif besiyerinde gelişemez. Sonucun sahte negatif olarak alınmasındaki temel nedenlerden birisi budur (Anonymous, 2005).

Gıdaların soğutulması, dondurulması, kurutulması, asitle muamelesi, koruyucu madde ilavesi, düşük dozda radyasyona maruz bırakılması gibi uygulamalar sonucunda, gıdadaki mikroorganizmalar strese girer. Stresin boyutu mikroorganizma türüne ve uygulanan stres faktörünün derişimine göre değişir. *Salmonella*, çevresel olumsuzluklara karşı sporsuz bir bakteri olması nedeni ile çok yüksek bir direnç göstermez ve stres altına girer (Doğan vd., 1994; Juneja vd., 2016). Bu sorundan kurtulmak için patojen analizlerinde bir ya da daha fazla (ardışık) zenginleştirme veya canlandırma işleminden sonra selektif katı besiyerine ekim uygulaması vardır.

Bakterinin hassasiyetine, çevresel faktörlerden ve/veya gıda işlemleri sırasında gördüğü olası zararlara göre selektif olmayan ön zenginleştirme ve arkasından selektif zenginleştirme olabileceği gibi doğrudan selektif zenginleştirme de olabilir (Pignato vd., 1995; Halkman, 2013; Lee vd., 2015).

ISO, 25 g-mL gıda numunesinde *Salmonella* spp. bulunmaması gerektiği için, 25 g-mL gıdanın incelenmesi gerektiğini bildirmiştir. Bu nedenle *Salmonella* belirleme yöntemlerinde gıdanın 25 g-mL'sinde bulunabilecek bir tek *Salmonella* hücrelerini belirlemesi gerekmektedir (Telli, 2006; Yuk vd., 2014; Anonymous, 2016a).

Bu amaçla gıda numunesi, selektif olmayan bir ortamda 16-24 saat süre ile inkübasyona bırakılır. *Salmonella* aranmasında önzenginleştirme

amacıyla ISO'ya göre gıdalarda TPS önerilirken, FDA, kurutulmuş yumurta sarısı ve beyazı ile bunları içeren kek, bisküvi, makarna, ekmek benzeri ürünlerde, süt, ayran, peynir mayası, peynir, taze, donmuş ve kurutulmuş sebze ve meyveler, et, et ikameleri, balık gibi çeşitli gıdalarda laktoz broth (LB) besiyeri kullanılmasını önermektedir (Anonymous, 2016b).

Dünyanın önde gelen kuruluşlarından biri olan FDA tarafından yayınlanan Bacteriological Analytical Manual (BAM)'in *Salmonella* aranması amacıyla farklı gıdalarda önzenginleştirme için LB besiyerinde 35 °C'ta 24±2 saat inkübasyon önermekte iken (Anonymous, 2016b), ISO ise TPS ile 35-37 °C'ta 16 saatten az 20 saatten çok olmamak üzere önzenginleştirme yapılması gerektiğini belirtmektedir (Anonymous, 2002).

*Salmonella* geri kazanılmasında önzenginleştirme ortamlarının seçimi kadar, inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları da önemlidir. Önzenginleştirme aşamasında inkübasyon süresinin kısaltılması, stres veya hasarlı hücrelerin onarımına yetmediği için tavsiye edilmemektedir (Halkman vd., 1994; Pignato vd., 1995; Zorba, 2010).

*Salmonella* analizinde ISO 6579'a göre hiçbir selektif inhibitör içermeyen ve refakatçi floranın olası olumsuz pH değişimlerine karşı tamponlanmış olan önzenginleştirme besiyeri kullanılır (Anonymous, 2002). Burada amaç eğer analiz edilen gıdada hasar görmüş *Salmonella* varsa, bakterinin hasarı onarmasıdır. Refakatçi floradaki sayı artışı önemsenmez.

LB bileşiminde bulunan laktoz, koliformlar tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır ve sonuçta besiyerinde asitlik giderek artar. Bu asitliğin, aktif *Salmonella* üzerinde bile ve özellikle uzun süren inkübasyonda, olumsuz bir etki yapacağı beklenebilir. Dolayısıyla, *Salmonella*, izleyen selektif zenginleştirme aşamasına aktif değil, stres altında girebilir. Bunun anlamı ise, muhtemel sahte negatif sonuçlardır (Al-Nabulsi vd., 2014; Burin vd., 2014). Rathnayaka (2011), *Salmonella* analizinde önzenginleştirmenin önemine dikkat çekmiştir.

Patojen *Salmonella* serotiplerine en çok rastlanılan gıda maddelerinin başında hayvansal ürünler gelmektedir (Var ve Evliya, 1995; Timme vd., 2012; Ahn vd., 2013). Hammadde, işleme teknolojisi ve depolama/ pazarlama koşulları *Salmonella* riskinin

daha da artmasına neden olmaktadır (D'aust, 1997; Torlak vd., 2013). Bu alışma kapsamında seçilen gıdalar, hayvansal ve işlenen ürünlerdir. Ayrıca bileşimlerinde bulunan farklı organik maddelerden, mikrofloradaki bakteri türlerinin gelişimi sırasında farklı metabolitlerin oluşması beklenmektedir.

*Salmonella*, gıda kaynaklı ölümlere en fazla neden olan patojen olması nedeniyle gıda mikrobiyolojisini en fazla ilgilendiren bakteridir (Trampel vd., 2014). Buna bağlı olarak gıdalardaki varlığı doğru bir şekilde analiz edilmeli, özellikle sahte negatif sonuçlardan kaçınılmalıdır. Bu çalışmanın amacı ISO ve FDA yöntemlerini kıyaslamak değil, sadece önzenginleştirme amacıyla kullanılan TPS ve LB besiyerlerinin kıyaslanmasıdır. Nitekim selektif zenginleştirme ve selektif katı besiyerleri, ISO yöntemine göre devam etmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

#### Kültürler

Denemelerde gıda numunelerinden geri alma amacıyla kullanılacak olan *S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. Typhimurium* ATCC 13311 ve *E. coli* ATCC 10536 suşları, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. Bu bakterilerin seçilme amacı, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerinin gıda kaynaklı hastalık ve ölümlerde en yaygın görülen serotipler olmasıdır. Analiz edilecek gıda numunesinde sadece *Salmonella* varsa önzenginleştirme besiyerinin ne olduğu hiç önemli değildir. Ancak bu araştırmanın temelini oluşturan sorgulama, refakatçi flora varlığı durumunda *Salmonella* serotiplerinin davranışını belirlemektir. Bu amaçla refakatçi florayı temsil etmek amacı ile *E. coli* seçilmiştir.

#### Geri Alma Denemesi Materyali

Bu çalışmada, geri alma denemesi materyali olarak et ve süt olmak üzere iki farklı gıda kullanılmıştır. Denemeler boyunca sadece tarafımızca kullanılan mikroorganizmaların dışında mikroflora olmaması amacıyla; ticari bir firmaya ait UHT süt tercih edilmiş, kıyma rneği ise Ankara piyasasından sağlanmış, 25 g tartılıp, alüminyum folyo ile

paketlenerek Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Sarayköy Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde 10 kGy doz değerinde işinlanarak sterilize edilmiştir.

### Yöntem

#### Aktif Mikroorganizma Kltrlerindeki Sayımın Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak olan mikroorganizmalar, tryptic soy brotha (TSB; Merck 1.05459) aşılanıp, 37 C'ta 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmişlerdir (Kang vd., 2015). Inkübasyon sonrası maximum recovery diluent (MRD; Merck 1.12535) içeren tüplerde 1:9 oranında standart yöntemle seyreltmeler yapılmış ve *S. Enteritidis* ile *S. Typhimurium* XLD agar (Merck 1.105287), *E. coli* ise Fluorocult VRB (FVRB) agar (Merck 1.04030) besiyerinde yayma yöntemi ile sayıları belirlenmiştir (Anonymous, 2005).

#### Aktif Kültürle nzenginleştirme Denemesi

Çalışmanın ilk aşamasında bakteriler, TSB'a aşılanıp 37 C'ta 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmişlerdir. Daha önceden inkübasyon sonrası tespit edilen bakteri sayılarına göre, en düşük miktarda ilave edilecek şekilde seyreltmeleri yapılıp, 25 g-mL kıyma ya da süt eklenmiş 225 mL TPS ya da LB'a aktif *S. Enteritidis* + *E. coli* ya da *S. Typhimurium* + *E. coli* olacak şekilde inoklasyonlar yapılmıştır. İnoküle edilen bakterilerin numunelere ne kadar ilave edildiği yani inokülüm sayısı *Salmonella* için XLD agar, *E. coli* ise FVRB agarda standart yöntemle belirlenmiştir. Et veya süt eklenmiş iki önzenginleştirme besiyeri 37 C'ta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her 15; 18; 21 ve 24. saatlerde pH kontrolü yapılıp bu sürelerde *Salmonella* ve *E. coli* sayımları yapılmıştır.

#### Zayıflatılmış Kültürle nzenginleştirme Denemesi

Gıda materyalinden *Salmonella* geri alınması aşamasında, çeşitli önzenginleştirme besiyerleri arasındaki farklılığın belirlenmesinde, aktif bakteriye kıyasla, stres altındaki bakterinin kriter olarak alınması gerektiği ve böylelikle gerçekçi stres faktörlerinin *Salmonella* zerindeki etkisinin daha iyi anlaşılması için ortam yaratılmak istenmiştir. *Salmonella* serotiplerinin strese sokulması



amacıyla asetik asit ile muamele uygulanmıştır (Al-Nabulsi vd., 2014; Burin vd., 2014). Bu amaçla çalışmada kullanılan iki *Salmonella* serotipi, TSB'a aşılanıp 37 °C'ta 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiş, daha sonra üzerlerine asetik asit ilave edilerek ortamın pH'sı 4.0; 4.3 ve 4.5'e ayarlanarak bakterilerin strese girmesi sağlanmıştır. Bu pH'larda 0; 15; 30 ve 60. dakikalarda sayım yapılmış ve sonuçlara göre en uygun pH ve süre seçilmiştir.

Strese sokulmuş bakteriler ile yukarıda "aktif kültürle özenleştirme denemesi" bölümünde anlatıldığı şekilde devam edilmiştir.

#### İstatistiksel Analizler

Tüm çalışmalar 2 tekerrürlü olarak uygulanmıştır. Analiz sonuçları SAS programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca Duncan testi de uygulanmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Aktif Kültürle Özenleştirme Deneme Sonuçları

Süt ve kıyma numuneleri ile birlikte özenleştirme besiyerine düşük miktarlarda ilave edilen kültür kombinasyonlarının başlangıç sayım sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Kültürlerin başlangıç inokülüm sayıları özellikle düşük tutulmaya çalışılmıştır. Ayrıca gıda numuneleri ve kültürler ilave edilmeden önce özenleştirme besiyerlerinin başlangıç pH kontrolleri de yapılmıştır. pH kontrolü, özenleştirme besiyerindeki mikrofloranın davranışına göre değişen asitliğin takibi açısından önemlidir. Çalışma sürecinin her aşamasında kontrol edilen başlangıç pH değerleri, TPS için  $7.02 \pm 0.05$  iken, LB'ta  $6.88 \pm 0.08$  şeklinde olmuştur.

Özenleştirme aşamasında; toplam 24 saatlik inkübasyon sürecinde 15; 18; 21. ve 24. saatlerde pH değişimi Şekil 1a ve 1b'de verilmiştir. Kıymada TPS'de her iki serotip birbirlerine çok yakın pH değerleri vermiş ve pH  $6.63 \pm 0.02$  -  $6.74 \pm 0.01$  aralığında değişmiştir. Gerek serotip gerek inkübasyon süresi açısından istatistiksel açıdan

fark görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). LB özenleştirme ortamında pH daha düşük seyretmiş, *S. Enteritidis* serotipinde, *S. Typhimurium* serotipine kıyasla, zaman içinde pH biraz daha fazla düşmüştür. Kıyma örneğinde TPS ile LB arasında pH açısından istatistiksel açıdan önemli fark bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Bu sonuç normaldir, çünkü LB besiyerinde pH'yı nötralize edebilecek/ tamponlayabilecek bir bileşen yoktur.

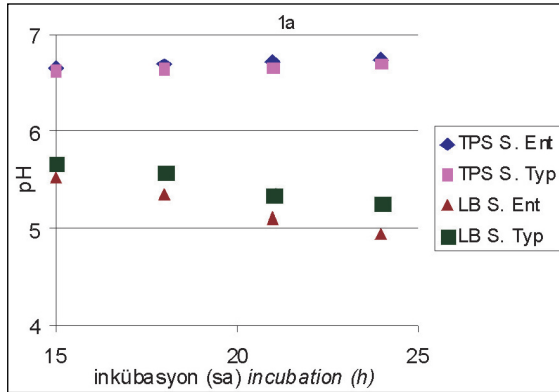
Aktif *Salmonella* kültürleri ile aşılanan sütte pH değişimi, kıymaya göre farklı bir seyir izlemiştir. Yine her iki *Salmonella* serotipi, TPS'de birbirlerine çok yakın pH değerleri vermişler ve gerek serotip gerek inkübasyon süresi açısından istatistiksel açıdan fark görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). LB besiyerinde *S. Enteritidis* olan kombinasyonda, *S. Typhimurium* olana kıyasla zaman içinde pH daha fazla düşmüştür ( $P < 0.05$ ). Kuşkusuz, burada pH'nın daha fazla düşmesinden sorumlu olan *S. Enteritidis* değildir çünkü LB bileşiminden ve içindeki süt örneğinden asit oluşturabilecek metabolizmaya sahip değildir.

TPS bileşimi "Peptone 10.0 g/L; NaCl 5.0 g/L;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  9.0 g/L;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.5 g/L" ve LB bileşimi "Peptone 5.0 g/L; Meat (beef) extract 3.0 g/L; Lactose 5.0 g/L" şeklindedir. TPS'da gelişen bakteriler, başka bir karbon kaynağı olmaması nedeniyle gelişmeleri için gereken azot ve karbon (enerji) kaynağı olarak peptonu kullanırlar. Peptonların kullanımı ile pH'da bir miktar yükselme olur ancak fosfat tampon, pH'da bakteri gelişimini engelleyecek değişime izin vermez. LB'ta tampon görevini üstlenecek bileşenler yoktur ve ayrıca alternatif karbon kaynağı olarak laktöz vardır. *Salmonella* gibi laktozu karbon kaynağı olarak kullanamayan bakteriler, azot ve karbon gereksinmelerini, besiyeri bileşimindeki pepton ve et özütünden karşılarlar. Besi ortamında sadece *Salmonella* gibi laktoz negatif bakteriler varsa pH'da yükselme olması beklenir. *E. coli*, laktoz pozitif ve karbon kaynağı olarak laktozu kullanır. Laktozun metabolize edilmesi sonunda asidik ürünler ortaya çıkar. *E. coli*, azot gereksinimini karşılamak için pepton ve/ veya et özütünü kullanmak zorundadır. Bu sırada pH bir miktar yükselir ancak oluşan asitler, bazik ürünlerden

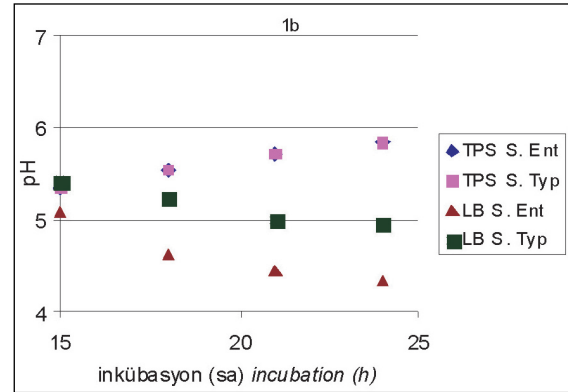
Çizelge 1. Özenleştirme besiyerlerine eklenen aktif kültürlerin gıda örneklerine göre başlangıç sayıları (log KOB/250 mL)  
Table 1. Initial culture counts (log CFU/250 mL) of active cultures added to pre-enrichment media for different food samples

Gıda Numuneleri Food samples	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Enteritidis</i>
UHT Süt UHT milk	2.39±0.29	2.49±0.43	2.16±0.15
Kıyma Minced meat	1.82±0.12	1.66±0.31	1.88±0.19





Şekil 1a. Aktif kültürde kıymada pH değişimi  
TPS: Tamponlanmış peptonlu su; LB: Laktoz broth  
Figure 1a. pH change in minced meat with active culture.  
TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth



Şekil 1b. Aktif kültürde sütte pH değişimi  
TPS: Tamponlanmış peptonlu su; LB: Laktoz broth  
Figure 1b. pH change in milk with active culture.  
TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth

daha fazla olduğu için pH'da inkübasyon süresi içinde gözle görülür bir azalma olur. Buna bağlı olarak LB'ta süt örneği ile çalışılırken, *S. Enteritidis* olan kombinasyonda pH'nın daha düşük olarak ölçülmesinin nedeni, *S. Typhimurium* olan kombinasyonda bu serotipin peptonların parçalanma ürünlerini daha fazla oluşturarak pH'yı diğer serotipe kıyasla daha fazla yükselttiği düşünülebilir (Barrow ve Feltham, 2004; Tunail, 2009; Dwivedi vd., 2014; Ray ve Bhunia, 2016).

Yapılan bir rekabet çalışmasında *Lactobacillus crispatus* ve *Clostridium lactatifermentans* karışık ve tek kültürlerinin, yapay etlik piliç bağırsak ortamında *S. Enteritidis* serotipi üzerinde inhibisyon etkisi 5.8 ve 7.0 pH'larda araştırılmış ve sonuçta inhibisyonunda görülen fark, laktozdan oluşan laktat, asetat ve propiyonat ile ilişkilendirilmiştir (Wielen vd., 2002).

Bir başka çalışmada ise (Kang vd., 2015), *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* inaktivasyonunda pH ve ohmik ısıtmanın etkisi araştırılmış ve pH'nın etkisi gösterilmiştir.

Çizelge 2'de kıyma ve süte aktif halde inoküle edilen *Salmonella* serotiplerinin özenleştirme besiyerlerinde inkübasyon süresi boyunca gelişimi verilmiştir.

*E. coli*, gerek kıyma gerek süt örneğinde, TPS ve LB ortamlarında ve her iki serotipin varlığından etkilenmeden standart gelişimini sürdürmüştür ve yaklaşık olarak 8 - 9 log KOB/mL sayım sonucu vermiştir ( $P > 0.05$ ). Özellikle süt örneğinde LB ortamındaki inkübasyonda düşen pH'ya rağmen gelişmesini kolaylıkla sürdürebilmesi, *E. coli*'nin *Salmonella* serotiplerine kıyasla aside daha dirençli olması ile açıklanabilir.

Çizelge 2. Aktif *Salmonella* serotiplerinin iki farklı özenleştirme besiyerinde gelişimi (log KOB/mL)  
Table 2. Growth of active *Salmonella* serotypes in two different pre-enrichment media (log CFU/mL)

Gıda Food	İnkübasyon (sa) Incubation (h)	<i>S. Enteritidis</i>		<i>S. Typhimurium</i>	
		TPS	LB	TPS	LB
Süt Milk	15	8.08±0.18 <sup>aA</sup>	7.52±0.38 <sup>aA</sup>	8.09±0.01 <sup>aB</sup>	7.50±0.15 <sup>aA</sup>
	18	8.19±0.19 <sup>aA</sup>	7.35±0.45 <sup>aA</sup>	8.12±0.11 <sup>aAB</sup>	7.44±0.50 <sup>aA</sup>
	21	8.20±0.09 <sup>aA</sup>	6.68±1.08 <sup>aA</sup>	8.23±0.01 <sup>aAB</sup>	6.41±1.53 <sup>aA</sup>
	24	8.20±0.06 <sup>aA</sup>	6.40±1.50 <sup>aA</sup>	8.36±0.10 <sup>aA</sup>	5.31±2.06 <sup>aA</sup>
Kıyma Minced meat	15	7.92±0.18 <sup>aA</sup>	7.68±0.28 <sup>aA</sup>	8.20±0.12 <sup>aA</sup>	7.79±0.14 <sup>aAB</sup>
	18	8.03±0.01 <sup>aA</sup>	7.12±0.17 <sup>aA</sup>	8.27±0.07 <sup>aA</sup>	7.99±0.04 <sup>aA</sup>
	21	8.14±0.22 <sup>aA</sup>	7.42±0.02 <sup>aA</sup>	8.30±0.08 <sup>aA</sup>	7.96±0.02 <sup>aA</sup>
	24	8.15±0.25 <sup>aA</sup>	6.80±0.50 <sup>aA</sup>	8.38±0.08 <sup>aA</sup>	7.59±0.02 <sup>aB</sup>

<sup>aB</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ )

<sup>AB</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ )

<sup>ab</sup> The values shown in different letters within a line are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>AB</sup> The values shown in different letters within a column are significantly different ( $P < 0.05$ )

TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth

### Zayıflatılmış Kültür İnoküle Edilmiş Özenleştirme Besiyerinden *Salmonella* Geri Alınma Sonuçları

Analizlerin ikinci aşamasında, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* serotiplerinin zayıflatılması amacıyla asetik asit ile daha önceden belirlenen pH ve süre kombinasyonu ile muamele edilmiştir (Çizelge 3). Yapılan denemeler sonucunda en uygun pH olarak 4.3 ve süre olarak 60 dk olarak belirlenmiş ve *Salmonella* serotipleri bulunan bu sonuçlar doğrultusunda asetik aside maruz bırakılmıştır (Yuk vd., 2014; Kang vd., 2015). Bu aşamada *E. coli* için herhangi bir zayıflatma işlemi uygulanmamıştır. Amaç *Salmonella* için *E. coli* varlığında gıda içerisinde doğal bir ortam yaratılmak istenmesidir.

Çizelge 3. *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un pH 4.3'te asetik asit uygulama sonrası belirlenen sürelerde alınan sayım sonuçları (log KOB/mL)

Table 3. Enumeration results of *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* after treatment with acetic acid at pH 4.3 (log CFU/mL)

Uygulama süresi (dk) Treatment time (minute)	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Typhimurium</i>
0	8.04±0.29	8.06±0.72
15	7.11±0.11	7.30±0.62
30	6.03±0.06	6.27±0.65
60	4.95±0.10	5.05±0.16

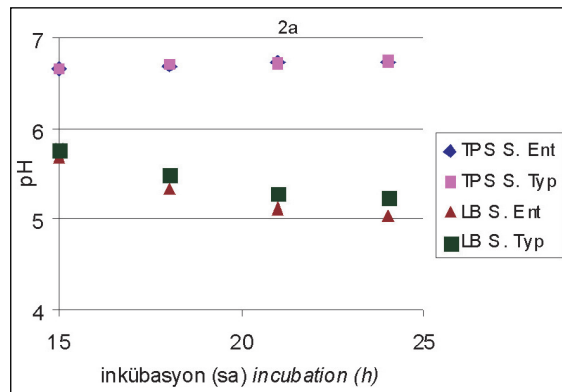
TPS ve LB'a inoküle edilen kültür kombinasyonlarının başlangıç sayım sonuçları *E. coli* için 3.3±0.19; *S. Typhimurium* için 2.38±0.12 ve *S. Enteritidis* için 2.51±0.2 log KOB /250 mL-g şeklindedir.

Çalışmanın devamı, ilk aşamadaki gibi sürdürülmüştür. Zayıflatılmış *Salmonella* serotiplerinin bir koliform grup bakteri olan aktif *E. coli* suşu ile

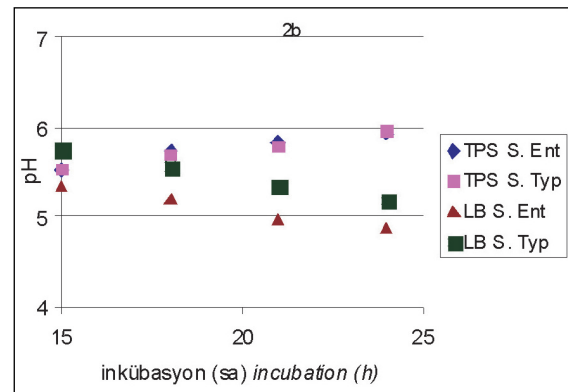
farklı özenleştirme besiyerlerinde birbiri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Özenleştirme aşamasında; 24 saatlik inkübasyon sürecinde 15; 18; 21 ve 24. saatlerde pH değişimi şekil 2a ve 2b'de verilmiştir.

pH değişimi açısından zayıflatılmış *Salmonella* serotipleri ile yapılan deneme de, aktif kültürler ile yapılan deneme sonuçlarına kısmen benzemektedir çünkü LB ortamında da pH düşüşünden sorumlu olan bakteri *E. coli* olup, bu bakteriye herhangi bir zayıflatma işlemi uygulanmamıştır. LB'ta pH azalması TPS'ye göre istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ). Ancak, bu uygulamada *Salmonella* serotipleri arasında aktif kültürdekinden farklı olarak pH değişiminde fark görülmemiş, her 2 serotipin varlığında ve her 2 gıda örneğinde pH aynı şekilde düşmüştür ( $P > 0.05$ ). Bu sonuç, aktif kültürde *S. Typhimurium*'un daha fazla metabolik aktivite göstererek pH'yı yükselttiği şeklindeki yorumu desteklemektedir. Bir diğer deyiş ile zayıflatılma uygulaması özellikle *S. Typhimurium* için daha etkili olmuş ve pH'yı yükseltebilecek yeterli metabolik aktivite gösterememiştir.

Çizelge 4'te 15; 18; 21 ve 24. saat inkübasyon sürelerinde zayıflatılmış *Salmonella* serotiplerinin sayısındaki değişim verilmiştir. Aktif kültürle yapılan denemede olduğu gibi *S. Enteritidis* serotipi her 2 gıda örneği ve özenleştirme ortamından etkilenmemiş ( $P > 0.05$ ), ancak *S. Typhimurium* LB'ta daha düşük sayılar vermiştir ( $P < 0.05$ ). *E. coli* ise, gıda örneği, özenleştirme besiyeri ve *Salmonella* serotipinden etkilenmeyip yine çok yaklaşık olarak 8-9 log CFU/g-mL sayım sonucu vermiştir ( $P > 0.05$ ).



Şekil 2a. Zayıflatılmış kültürde kıymada pH değişimi; TPS: Tamponlanmış peptonlu su; LB: Laktöz broth  
Figure 2a. pH change in minced meat with passive (injured) culture. TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth



Şekil 2b. Zayıflatılmış kültürde sütte pH değişimi; TPS: Tamponlanmış peptonlu su; LB: Laktöz broth  
Figure 2b. pH change in UHT milk with passive (injured) culture. TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth

Çizelge 4. Zayıflatılmış *Salmonella* serotiplerinin iki farklı önzenginleştirme besiyerinde gelişimi (log KOB/mL)  
Table 4. Growth of passive (injured) *Salmonella* serotypes in two different pre-enrichment media (log CFU/mL)

Gıda Food	İnkübasyon (sa) Incubation (h)	S. Enteritidis		S. Typhimurium	
		TPS	LB	TPS	LB
Süt Milk	15	8.03±0.18 <sup>ab</sup>	7.77±0.16 <sup>ab</sup>	6.36±0.16 <sup>ab</sup>	4.44±0.08 <sup>ab</sup>
	18	7.99±0.18 <sup>ab</sup>	7.45±0.44 <sup>ab</sup>	6.62±0.28 <sup>ab</sup>	4.71±0.14 <sup>ba</sup>
	21	8.11±0.13 <sup>ab</sup>	6.10±1.22 <sup>ab</sup>	6.56±0.22 <sup>ab</sup>	3.65±0.35 <sup>ba</sup>
	24	8.03±0.08 <sup>ab</sup>	6.41±1.16 <sup>ab</sup>	7.02±0.09 <sup>ab</sup>	4.10±0.12 <sup>ba</sup>
Kıyma Minced meat	15	8.19±0.01 <sup>ab</sup>	7.50±0.42 <sup>ab</sup>	4.60±0.08 <sup>ab</sup>	3.96±1.06 <sup>ab</sup>
	18	8.11±0.06 <sup>ab</sup>	7.45±0.63 <sup>ab</sup>	4.93±0.62 <sup>ab</sup>	4.02±1.42 <sup>ab</sup>
	21	8.14±0.11 <sup>ab</sup>	7.40±0.43 <sup>ab</sup>	5.20±0.16 <sup>ab</sup>	4.85±2.25 <sup>ab</sup>
	24	8.05±0.05 <sup>ab</sup>	7.25±0.32 <sup>ab</sup>	5.70±0.20 <sup>ab</sup>	4.37±1.57 <sup>ab</sup>

<sup>ab</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ )

<sup>AB</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ )

<sup>ab</sup> The values in different letters within a line are significantly different ( $P < 0.05$ )

<sup>AB</sup> The values in different letters within a column are significantly different ( $P < 0.05$ )

TPS: Buffered peptone water; LB: Lactose broth

Ramrani vd. (2010), baharat içeren yüksek asitli gıdalarda *S. Typhimurium* serotipinin geri alınması üzerine yaptıkları bir çalışmada 3 log KOB/ 250 mL ve daha az sayıda bakteri varlığında, bazı durumlarda geri alamama sorununu, çift kuvvetli TPS kullanarak asitliğin daha iyi nötralize edildiğini ve bu şekilde sorunun çözüldüğünü bildirmişlerdir. *Salmonella* analizinde özellikle asit karakterli gıda örnekleri ile çalışıldığında, çift kuvvetli önzenginleştirme besiyeri kullanılması Dwivedi vd. (2014) tarafından da önerilmektedir.

## SONUÇ

*Salmonella*, bilinen en tehlikeli gıda kaynaklı patojenlerden biri olmasına rağmen, gıdalarda refakatçi flora olarak bulunan başta *E. coli* olmak üzere, diğer bakterilere kıyasla fizyolojik karakterler bakımından daha zayıftır. Asitlik, çeşitli kimyasallar, düşük sıcaklık vb. olumsuz koşullardan önemli ölçüde etkilenir. Hasar görme (stres) derecesine bağlı olarak, selektif katı besiyerlerinde gelişip koloni oluşturamayabilir. Bu gibi mikroorganizmalar "canlı ancak kültüre alınamayan (Viable but non-culturable; VBNC) olarak tanımlanırlar. *Salmonella*, dışkı kökenli enterik bir bakteri olduğu için, *Salmonella* bulaşmış gıdalarda aynı çevresel kökenden gelen, başta koliform grup bakteriler olmak üzere, çok sayıda tür ve miktarda refakatçi flora bulunur.

Bu çalışmada, iki önemli uluslararası kuruluş tarafından önerilen, önzenginleştirme besiyerleri karşılaştırılmış ve inkübasyon sürecinde, çeşitli inkübasyon sürelerinde mikroorganizma gelişimi

izlenerek, pH ile birlikte sayıdaki değişim gözlemlenmiştir. Serotip farkının da önemli olup olmadığının araştırılması için, 2 farklı *Salmonella* serotipi denenmiştir. Analizler sonucunda, UHT süt ve kıyma örnekleri için önzenginleştirme aşamasında belirlenen inkübasyon sürelerinde yapılan analizler sonucunda, *S. Enteritidis* serotipinin aktif ve zayıflatılmış olması, önzenginleştirme besiyerlerindeki farklılık, mikroorganizma sayısında istatistiksel olarak fark oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). Ancak zayıflatılmış *S. Typhimurium* serotipinde LB'taki sayı TPS'dan daha düşüktür ( $P < 0.05$ )

Her 2 gıda örneğinde de inkübasyon süresince pH, TPS'da stabil kalmış ancak beklenildiği gibi LB'ta düşmüştür. Bununla beraber, pH'daki azalma, *Salmonella* serotiplerinin tümüyle yok olmasına yetecek düzeyde olmamıştır.

Sonuç olarak; denemelerde kullanılmış olan aktif ve zayıflatılmış *Salmonella* suşları, önzenginleştirme amacıyla kullanılan LB ve TPS besiyerleri, kıyma ve süt örnekleri arasında kimi koşullarda fark bulunmuşsa da, her koşulda selektif besiyerinde *Salmonella* sayım sonucu alınmıştır.

**Teşekkür:** Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 15H0443008 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

Ahmed, O.B., Asghar, A.H., Abd El-Rahim, I.H., Hegazy, A.I. (2014) Detection of *Salmonella* in food samples by culture and polymerase chain reaction methods. *J Bacteriol Parasito*, 5:187. doi: 10.4172/2155-9597.1000187.

- Ahn, D.U., Kim, I.S., Lee, E.J. (2013). Irradiation and additive combinations on the pathogen reduction and quality of poultry meat. *Poult Sci*, 92:534-545. doi: 10.3382/ps.2012-02722.
- Al-Nabulsi A.A., Olaimat A.N., Osaili T.M., Shaker R.R., Elabedeen N.Z., Jaradat Z.W., Abushelaibi A., Holley R.A. (2014). Use of acetic and citric acids to control *Salmonella* Typhimurium in tahini (sesame paste). *Food Microbiol*, 42:102-108. doi: 10.1016/j.fm.2014.02.020.
- Anonymous (2002). Microbiology of the Food Chain -- Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1: Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Draft International Standard ISO/DIS 6579. International Organization for Standardization ISO. Switzerland, 48 s.
- Anonymous (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A.K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 358 s. ISBN : 975-00373-0-8.
- Anonymous (2010). Gıda ve Hayvan Yemleri - *Salmonella*. Türk Standartları Enstitüsü TS EN ISO 6579/A1. Ankara, 7 s.
- Anonymous (2016a). Microbiology of food and animal feed - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* -- Part 2: Enumeration by a miniaturized most probable number technique. ISO/TS 6579-2:2012. [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail.htm?csnumber=56713](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=56713). (Accessed: 18 September 2016).
- Anonymous (2016b). Bacteriological Analytical Manual, Chapter 5 *Salmonella*. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm> (Accessed: 20 August 2016).
- Anonymous (2017). Commission regulation (EU) No 1086/2011 <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A02011R1086-20111117> (Accessed: 20 February 2017).
- Aytaç, S.A., Taban, B.M. (2010). Gıda kaynaklı intoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ed O. Erkmen. Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık Ltd., Ankara, 552 s. ISBN: 978-605-4334-02-5.
- Barrow, G.L., Feltham, R.K.A. (Eds) (2004). Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 3<sup>rd</sup> Edition. Cambridge University Press, U. K., 352pp. ISBN: 9780521543286.
- Burin, R.C.K., Silva Jr., A., Nero, L.A. (2014). Influence of lactic acid and acetic acid on *Salmonella* spp. growth and expression of acid tolerance-related genes. *Food Res Int*, October:726-732. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.019>.
- Daquigan, N., Grim, C.J., White, J.R., Darcy, E., Hanes, D.E., Karen G., Jarvis K.G. (2016). Early recovery of *Salmonella* from food using a 6-hour non-selective pre-enrichment and reformulation of tetrathionate broth. *Front Microbiol*, December doi: 10.3389/fmicb.2016.02103.
- D'aust, J.Y. (1997). *Salmonella* species. Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers. Eds. M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville. American Society for Microbiology, Washington, USA, 768 pp.
- Dwivedi, H.P., Mills, J.C., Devulder, G. (2014). Enrichment. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Robinson, R. (chief Ed.) 2<sup>nd</sup> Edition. Vol 2. Elsevier Ltd, Oxford, UK. pp 637-643. ISBN: 9780123847331.
- Doğan, H.B. (1993). Gıda maddelerinde *Salmonella* aranması üzerinde karşılaştırmalı bir araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 93 s.
- Doğan, H.B., Halkman, A.K., Rahati Noveir, M. (1994). Gıdalarda hızlı *Salmonella* Kontrolü Üzerine Bir Araştırma. *GIDA*, 19(5):305-311.
- Erol, İ. (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. 1. Baskı. Pozitif Matbaacılık. Ankara, 392s. ISBN: 978-975-00131-0-9.
- Halkman, A.K. (2013). Gıda Mikrobiyolojisi II Ders Notları. Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü. Basılmamış.
- Halkman, A.K., Doğan, H.B., Rahati Noveir, M. (1994). Gıda maddelerinde *Salmonella* ile *E. coli* arama ve sayılma yöntemlerinin karşılaştırılması. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 21, Armoni Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 93s.
- Holbrook, R., Anderson, J.M., Baird-Parker, A.C., Doos, L.M. (1989). Rapid detection of *Salmonella* in foods - A convenient two day procedure. *Lett Appl Micr*, 8:139-142. doi: 10.1111/j.1472-765X.1989.tb00259.x.
- Hoorfar, J., Baggesen, D.L. (1998). Importance of pre-enrichment media for isolation of *Salmonella* spp. from swine and poultry. *FEMS Microbiol Lett*, 169(1):125-130. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13308.x

- Ibrahim, G.F. (1986). A review of immunoassays and their application to *Salmonellae* detection in foods. *J. Food Prot*, 49(4):299-310.
- Jean-Gilles Beaubrun, J., Flamer, M.L., Addy, N., Ewing, L., Gopinath, G., Jarvis, K., Grim, C., Hanes, D.E. (2016). Evaluation of corn oil as an additive in the pre-enrichment step to increase recovery of *Salmonella* Enterica from oregano. *Food Microbiol*, 57:195-203. doi: 10.1016/j.fm.2016.03.005.
- Juneja, V.K., Valenzuela-Melendres, M., Heperkan, D., Bautista, D., Anderson, D., Hwang, C., Peña-Ramos, A., Camou J.P., Torrentera-Olivera, N. (2016). Development of a predictive model for *salmonella* spp. reduction in meat jerky product with temperature, potassium sorbate, ph, and water activity as controlling factors. *Int J Food Microbiol*, 236:1-8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.028.
- Kang, D-H., Lee, J-Y., Kim, S-S. (2015). Effect of pH for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* in orange juice by ohmic heating. *LWT - Food Sci Techno*, 62, June:83-88. doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.020.
- Lee, K-Y., Runyon, M., Herrman, T. J., Phillips, R., Hsieh, J. (2015). Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*, 47, 264-276. doi: 0.1016/j.foodcont.2014.07.011.
- Liandris, E., Gazouli, M., Taka, S., Andreadou, M., Vaiopoulou, A., Tzimotoudis, N., Kasampalidis, I., Mpaseas, D., Fyliousis, G., Poltronieri, P., Cook, N., Ikonomopoulos, J. (2014). Evaluation of the microbial safety of child food of animal origin in Greece. *J Food Sci*, 79(3):M362-368. doi: 10.1111/1750-3841.12366.
- Mercanoglu, B., Griffiths, M.W. (2005). Combination of immunomagnetic separation with real-time PCR for rapid detection of *Salmonella* in milk, ground beef and alfalfa sprouts. *J. Food Prot*, 68(3): 557-561. doi: 10.4315/0362-028X-68.3.557
- Montville, T.J., Mathews, K.R. (2007). Growth, survival and deaths of microbes in foods. In "Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers 3<sup>rd</sup> Ed. Edited by M.P. Doyle and L.R. Beuchat" ASM Pres. Washington D.C.
- Myint, M.S., Johnson Y.J., Tablante N.L., Heckert R.A. (2006). The effect of pre-enrichment protocol on the sensitivity and specificity of PCR for detection of naturally contaminated *Salmonella* in raw poultry compared to conventional culture. *Food Microbiol*, 23(6):599-604. doi: 10.1016/j.fm.2005.09.002.
- Pignato, S., Marino, A.M., Emanuele, M.C., Iannotta, V., Caracappa, S., Giammanco, G. (1995). Evaluation of new culture media for rapid detection and isolation of *Salmonellae* in foods. *Appl Environ Microbiol*, 61(5):1996-1999.
- Poltronieri, P., Cimaglia, F., De Lorenzis, E., Chiesa, N., Mezzolla, V., Reza, I.B. (2016). Protein chips for detection of *Salmonella* spp. from enrichment culture. *Sensors (Basel)*. 16(4):574 doi: 10.3390/s16040574.
- Ramnani, P., Jarvis, B., Mackey, B. (2010). Comparison between pre-enrichment in single- or double-strength buffered peptone water for recovery of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 from acidic marinade sauces containing spices. *Food Control*, 21: 1303-1306. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.03.005.
- Rathnayaka, R.M.U.S.K. (2011). Effect of sample pre-enrichment and characters of food samples on the examination for the *Salmonella* by plate count method and fluorescent in-situ hybridization technique. *Am Food Techno*, 6:851-856. doi: 10.3923/ajft.2011.851.856.
- Ray, B., Bhunia, A. (2016). Temel Gıda Mikrobiyolojisi. 5. basımdan çeviri. Çeviri Editörü Heperkan, D. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd., Ankara, Türkiye, 608 s. ISBN 978-605-320-543-2.
- Telli, R. (2006). Afyon'da tüketime sunulan tavuk karkas ve tavuk eti örneklerinde *Salmonella* spp. varlığının klasik kültür tekniği ile saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı.
- Timme, R.E., Allard, M.W., Luo, Y., Strain, E., Pettengill, J., Wang, C., Li, C., Keys, C.E., Zheng, J., Stones, R., Wilson, M.R., Musser, S.M., Brown, E.W. (2012). Draft genome sequences of 21 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis strains. *J Bacteriol*, 194:5994-5995. doi: 10.1128/JB.01289-12.

- Torlak, E. (2011). Gıda mikrobiyolojisinde *Enterobacteriaceae* üyeleri için kromojenik ve florojenik besiyerleri. *Türk Hij ve Den Biyol Derg*, 68(1):49-58.
- Torlak, E., Sert, D., Serin, P. (2013). Fate of *Salmonella* during sesame seeds roasting and storage of tahini. *Int J Food Microbiol*, 163:214-217. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.010.
- Trampel, D.W., Holder, T.G. Gast, R.K. (2014). Integrated farm management to prevent *Salmonella enteritidis* contamination of eggs. *J Appl Poult Res*, 23(2):353-365. doi: 10.3382/japr.2014-00944.
- Tsai, H.S.C., Slavik, M.F. (1991). Rapid method for detection of *Salmonellae* attached to chicken skin. *J Food Saf*, 11:205-214.
- Tunail, N. (2009). *Mikrobiyoloji*. Pelin Ofset Tipo Matbaacılık, Ankara, Türkiye, 434 s. ISBN: 978-605-603-62-0-0.
- Var, I., Evliya, B. (1995). Çeşitli yumurtalarda *Salmonella* taraması. *GIDA*, 20(6):387-391.
- Vazgeçer, B., Temiz, A. (2005). *Salmonella* izolasyonu ve tanımlanması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(4):1-27. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050401.pdf.
- Van der Wielene, P.W.J.J., Lipman, L.J.A., van Knapen, F., Biesterveld, S. (2002). Competitive exclusion of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis by *Lactobacillus crispatus* and *Clostridium lactatifermentans* in a sequencing fed-batch culture. *Appl Environ Microbiol*, 68(2):555-559. doi: 10.1128/AEM.68.2.555-559.2002.
- Yuk, H-G., Yang, Y., Kadim, M.I., Khoo, W.J., Zheng, Q, Setyawati, M.I., Shin, Y-J., Lee, S-C. (2014). Membrane lipid composition and stress/virulence related gene expression of *Salmonella* Enteritidis cells adapted to lactic acid and trisodium phosphate and their resistance to lethal heat and acid stress. *Int J Food Microbiol*, 191:24-31. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.034.
- Zorba, N.N. (2010). Gıda Kaynaklı Enfeksiyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ed O. Erkmek. Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık Ltd., Ankara, Türkiye, 552 s. ISBN: 978-605-4334-02-5.

## **NOHUTTA TANE (TOHUM) KABUĞUNUN TÜM TANENİN FİZİKSEL, KİMYASAL VE BESLENME ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Sedat Sayar\*, Selen Çalışkantürk Karataş**

Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Mersin, Türkiye

Geliş / *Received*: 07.11.2016; Kabul / *Accepted*: 27.04.2017; Online baskı / *Published online*: 08.06.2017

Sayar, S., Çalışkantürk Karataş, S. (2017). Nohutta tane (tohum) kabuğunun tüm tanenin fiziksel, kimyasal ve beslenme özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2017) 42 (4): 468-476 doi: 10.15237/gida.GD16092

### **Öz**

Nohut, dünyada en fazla tüketilen baklagiller içerisinde ikinci sırada yer almaktadır. Bu çalışmada, nohut tanesinin kabuk kısmının tüm tanenin kimyasal içerik ve beslenme özellikleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda taneden ayrılan kabuk kısımları ve kabuksuz nohudun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, örneklerin besleyicilik özellikleri açısından önemli olan fenolik madde içerikleri, antioksidan aktiviteleri ve safra asitlerini bağlama kapasiteleri de analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre nohut kabuğunun tüm nohut tanesinin yaklaşık %5'lik bir kısmını oluşturduğu ve diğer baklagil kabuklarına göre daha ince olduğu görülmüştür. Kabuk ve kabuksuz nohudun diyet lif içerikleri sırasıyla %73.89 ve %13.51 olarak bulunmuştur. Toplam sindirilebilirlik değerleri ise sırasıyla %15.4 ve %74.5 olarak belirlenmiştir. Ayrıca nohudun kabuk kısmının mineral maddelerce kabuksuz kısma göre daha zengin olduğu sonucuna varılmış, ancak beslenme özellikleri açısından incelendiğinde nohut kabuğunun tüm nohut tanesi içerisindeki katkısının düşük olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Nohut, nohut kabuğu, sindirilebilirlik, fenolik madde, kimyasal içerik, safra asitleri bağlama.

## **EFFECT OF SEED COAT ON THE PHYSICAL, CHEMICAL AND NUTRITIONAL PROPERTIES OF WHOLE CHICKPEA**

### **Abstract**

Chickpea is the second most consumed legume in the world. In this study, the effects of seed coat on chemical composition and also on the nutritional properties of whole chickpea seed were studied. In this context some physical and chemical analysis were conducted on both seed coat and coatless chickpea flour. Phenolic content, antioxidant activity and bile acid binding capacity of the samples were also determined, in order to specify the nutritional benefits of the samples. The results showed that seed coat constitute approximately 5% of the whole chickpea seed and the seed coat thickness was found to be thinner than most of the other legumes. Chickpea seed coat was found to be rich in dietary fiber and minerals. However, the contribution of the seed coat on nutritional benefits of the whole seed were determined to be limited.

**Keywords:** chickpea, chickpea seed coat, digestibility, phenolic substances, chemical composition, bile acid binding.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ssayar@mersin.edu.tr,

☎ (+90) 324 361 0001,

☎ (+90) 324 361 0032

## GİRİŞ

Dünyada, fasulye ve bezelyeden sonra en çok üretilen baklagil çeşidinin nohut olduğu belirtilmektedir (1). Önemli bir protein ve karbonhidrat kaynağı olan nohudun, özellikle hayvansal kaynaklardan yeterli proteinin sağlanamadığı ülkelerdeki yetiştiriciliği ile dikkat çekmektedir (2). Dünya nohut üretiminin yaklaşık %65'lik kısmını gerçekleştiren Hindistan, üretim miktarı açısından dünya birincisi durumundadır. Bunu sırasıyla Avustralya, Türkiye ve Pakistan izlemektedir. Nohut, ülkemizde en çok üretilen baklagil durumunda olup yıllık toplam üretim miktarı ise 500 bin ton civarındadır (1, 3). Dünya baklagil üretiminden önemli pay alan ülkemiz aynı zamanda ihracatçı ülke konumundadır. Nohut tanelerinin renk ve şekilleri arasında bazı farklar bulunmakta ve buna göre "kabuli" veya "desi" olarak isimlendirilmektedir (4-5). Kabuli tipi tanelerin ince bir kabuğa sahip olduğu ve renginin beyaz ve krem rengi aralığında olduğu belirtilmektedir. Buna karşın desi tipi nohudun ise sarımsı kahverengi ile siyah aralığında bir renge sahip olduğu ve kabuğunun daha kalın olduğu ifade edilmiştir (5). Ayrıca kabuli tipi nohudun 100 tane ağırlığı 70 g'a kadar olabilirken desi çeşidinde bu değer en fazla 28 g olabilmektedir (5).

Literatürde nohudun kimyasal bileşimi ile ilgili birçok çalışma mevcuttur. Tane bileşiminin yaklaşık %80'i karbonhidrat ve proteinlerden oluşmaktadır. Nohudun kuru madde bazında, ortalama %24 protein, %55 karbonhidrat, %4 mineral madde, %6 yağ ve %10 diyet lifi içerdiği belirtilmiştir (6-7). Nohutta bulunan ham lif miktarının selüloz ve hemiselülozlardan oluştuğu ve tanenin kabuk miktarı ile doğru orantılı bir değişim gösterdiği ortaya konulmuştur (8-9). Nohut tanesinin kabuk miktarının ise %5-19 aralığında olduğu belirtilmiştir (10-12).

Nohut, diğer yemeklik baklagiller içerisinde en fazla tüketim şekline sahip tür olarak bilinmektedir. Ülkemizde nohudun kabuli çeşidi birçok şekilde tüketilmektedir. Nohudun diğer ülkelerde de oldukça fazla sayıda tüketim şekline sahip olduğu görülmektedir (13-14). Bu tüketim şekillerinde nohut tanesi bazen kabuklu şekliyle ve bazen de kabuksuz olarak tüketilebilmektedir. Dünyada tüketilen birçok baklagil çeşidinin kabuk

kısımları gerek kimyasal bileşim ve gerekse besleyicilik özelliği açısından incelendiğinde tanenin diğer kısmına göre daha farklı özelliklere sahip olduğu bilinmektedir.

Literatürde çeşitli baklagillerin kabuk kısımlarının kimyasal bileşimi, fonksiyonel özellikleri ve beslenme sağlığı açısından önemli bazı özelliklerinin ortaya konulması ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (12, 15-20). Ancak nohut kabuğunun tüm tanenin kimyasal bileşimi ve beslenme özellikleri üzerindeki etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Dolayısıyla bu çalışmada nohudun kabuk kısmının tam tanenin temel bileşim öğeleri ve besleyicilik özellikleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada kullanılan kabuli tipi nohut (8 mm) bir baklagil işleme tesisinden sağlanmıştır. Öncelikle örnek içerisinde bulunan yabancı maddeler ve kırık tane gibi kısımlar elle ayıklanmıştır. Kabuk kısmının taneden ayrılması için nohutlar öncelikle kısmi bir parçalama işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra tane kabukları ve kabuksuz nohut kısımları ayıklanmış ve laboratuvar ölçekli bir değirmende (ZM-1, Retch, Haan, Germany) 0.5 mm elek kullanılarak öğütülmüştür.

### Fiziksel özellikler

Kabuk oranı gravimetrik olarak, kabuk kalınlığı ölçümü ise 0.001 mm hassasiyete sahip dijital mikrometre (Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japan) yardımıyla belirlenmiştir. Örneklerin su tutma kapasitesi ise Filipovic ve ark. (21)'de verilen yöntemle yapılmıştır. Özetle 50 mL kapasiteli Falkon tüpüne 2.5 g örnek tartılmış ve üzerine 30 mL saf su eklenmiş ve karıştırılmıştır. Tüpler 30°C sıcaklığındaki su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu süre içerisinde örnekler her 10 dakikada bir çalkalanmıştır. Daha sonra karışım 5000g hızda 5 dakika santrifüj edilmiş (Medifriger BL-S, Selecta, Spain) ve üst kısım ile hidrate olmuş (alt kısım) ortamdan ayrılmıştır. Örneklerin su tutma kapasitesi hidrate olmuş örnek ile daha sonra bunun kurutulması sonucu elde edilen örneğin ağırlık farkından hesaplanmıştır.



### Kimyasal özellikler

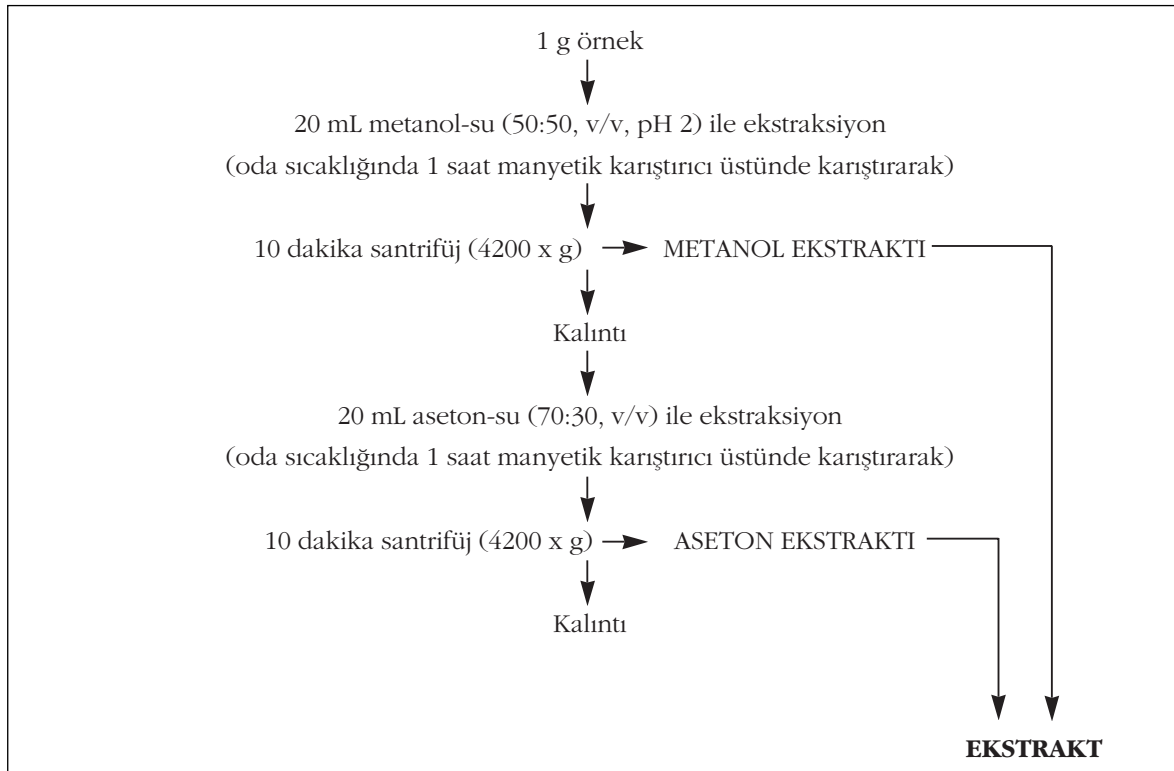
Örneklerin nem (Metot No: 44-15A), protein (Metot No: 46-30), kül (Metot No: 08-01) ve toplam lipit (Metot No: 30-25) içeriği Uluslararası Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (American Association of Cereal Chemists International) standart yöntemlerine göre yapılmıştır (22-23). Toplam nişasta,  $\beta$ -glukan ve toplam diyet lif içeriklerinin analizi hazır kitler (Megazyme Ltd., Co., Wicklow, Ireland) kullanılarak sırasıyla Metot No: 76-13, Metot No: 32-13 ve Metot No: 32-21 (23)'e göre gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde, toplam kondense tanen ve antioksidan aktivite analizleri metanol-su (50:50, v/v, pH 2) ve devamında aseton-su (70:30, v/v) ile elde edilen ekstraktlarda gerçekleştirilmiştir (24). Ekstraksiyon yönteminin ayrıntıları Şekil 1'de verilmiştir. Toplam fenolik madde ve toplam kondense tanen analizleri Heimler ve ark. (25)'e göre yapılmış ve toplam fenolik madde miktarı gallik asit, toplam kondense tanen miktarı ise (+)-kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite, Moure ve ark. (26)'da verilen yöntemle göre ekstraktlarda antioksidan aktiviteye sahip

maddelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikalini indirgemeleri prensibine dayanan yöntemle göre yapılmıştır. Sonuçlar TROLOX (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) eşdeğeri cinsinden belirlenmiştir.

### In vitro sindirim ve safra asitleri bağlama kapasitesi

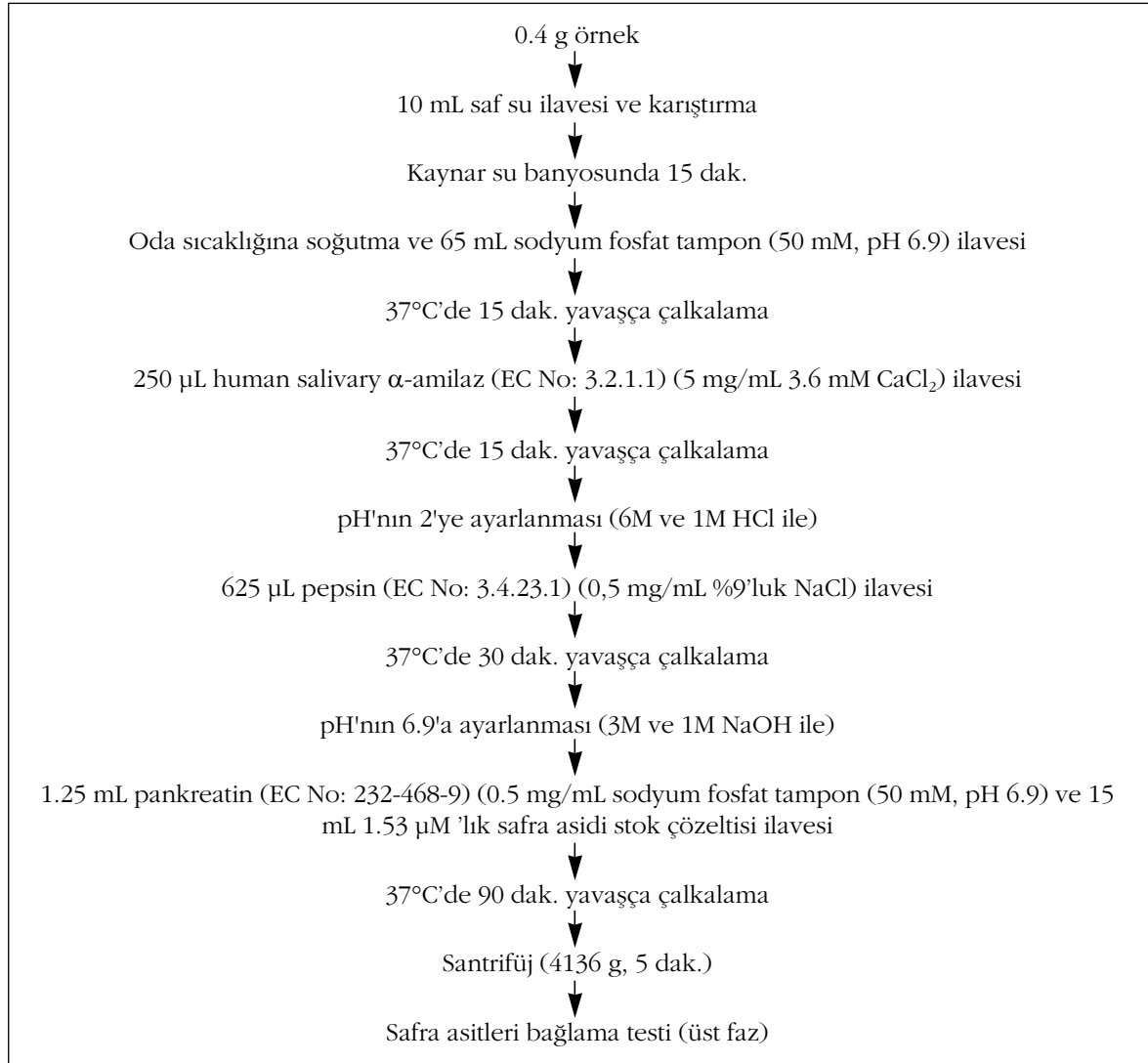
Örneklerin in vitro sindirimi Sayar ve ark. (27)'de verilen yöntemle göre yapılmıştır. Yöntemin ayrıntılı akım şeması Şekil 2'de verilmiştir. Özetle, örnekler öncelikle 37 °C'de sırasıyla insan tükürüğü  $\alpha$ -amilazı (human salivary  $\alpha$ -amylase; EC No: 3.2.1.1), pepsin (EC No: 3.4.23.1) ve pankreatin (EC No: 232-468-9) enzimleri ile muamele edilmiştir. Her bir enzim uygulaması öncesinde karışımın pH'sı enzimin optimum pH değerine ayarlanmıştır. Enzimin uygulanma süresi insan sindirim sistemi benzetişimi dikkate alınarak  $\alpha$ -amilaz, pepsin ve pankreatin için sırasıyla 15, 30 ve 90 dakika olarak belirtilmiştir. Belirli derişimdeki kolik, deoksikolik, taurokolik ve glikokolik asitlerinin tuzlarından oluşan safra karışımı pankreatin uygulaması işleminden önce eklenmiştir. İşlem sonunda karışım santrifüjlenmiş



Şekil 1. Fenolik madde ve antioksidan kapasitesi analizlerinde kullanılan ekstraksiyon yönteminin akım şeması  
Figure 1. Flow chart of the extraction method used for total phenolic content and antioxidant capacity analysis

ve hidrolizat (supernatant) ve sindirilememiş kısım (presipitat) birbirlerinden ayrılmıştır. Örneklerin toplam sindirilebilirliği aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır.

Biotec Plc, Wicklow, Ireland) kullanılarak yapılmıştır. Örneklerin safra asitlerini bağlama kapasiteleri örneğe eklenen miktar ile hidrolizatta bulunan miktar arasındaki farktan hesaplanmıştır.



Şekil 2. Safra asitleri bağlama kapasitesi analizlerinin akım şeması  
Figure 2. Flow chart of the bile acid binding capacity analysis

$$\text{Toplam sindirilebilirlik, \%} = \frac{M_s - M_p}{M_s} \times 100 \quad (1)$$

(MS, in vitro sindirim işlemine alınan örneğin kuru ağırlığı, g; MP ise sindirilemeyen kısmın (santrifüleme işlemin sonundaki çökelti) kuru ağırlığı, g'dır).

Hidrolizatta safra asitleri tayini ise hazır analiz kitleri (Bile Acid Kit: Product No: 450A, Trinity

### İstatistiksel analizler

Tüm analizler, aksi belirtilmedikçe, üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. İstatistiksel analizlerde SPSS (SPSS Version 12.0, SPSS Inc., IL) paket programı kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve en önemli farklar (least significant difference, LSD) testi kullanılmıştır (P=0.05).

## SONUÇ ve TARTIŞMA

### Fiziksel özellikler

Çalışmada kullanılan nohut örneğinin kabuk miktarı  $4.7 \pm 0.2$ , kabuk kalınlığı ise  $0.085 \pm 0.012$  mm olarak belirlenmiştir. Belirlenen kabuk miktarı değerinin literatürde soya fasulyesi (%7.0), bezelye (%13.5), maş fasulyesi (%8.8) ve börülce (%7.5) için verilen değerlerden (28-29) daha düşük olduğu belirlenmiştir. Nohudun kabuk kalınlığının diğer baklagillerden daha ince olduğu görülmektedir. Literatürde çeşitli fasulye türleri ve börülce için verilen kabuk kalınlığı değerleri sırasıyla 0.13-0.14 mm ve 0.11 mm'dir (30-31).

Nohut kabuğu ve kabuksuz nohut unlarının su tutma kapasiteleri ise sırasıyla  $4.71 \pm 0.01$  ve  $0.80 \pm 0.00$  g/g kuru madde olarak belirlenmiştir. Beklendiği gibi nohudun kabuk kısmının su tutma kapasitesinin kabuksuz nohut unundan yaklaşık 6 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durumun kabuğun kimyasal yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü kabuk kısmı, yoğun olarak selülozik maddeler içermekte ve bu polisakaritlerin su tutma kapasitesinin diğer karbonhidrat ve diğer gıda bileşenlerinden çok daha fazla olduğu bilinmektedir (32). Su tutma kapasitesi diyet liflerin beslenme sağlığı üzerindeki etkilerini belirleyen en önemli faktörlerden birisidir.

### Kimyasal özellikler

Nohut kabuğu ve kabuksuz nohut ununa ait kimyasal içerik analizlerinin sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Nohut kabuğunda belirlenen protein ve nişasta kısımlarının yoğun olarak kabuğun kotiledonlardan ayrılması işlemi sırasında nohudun kotiledonlarından kabuğa geçen, yani etkili bir kabuk-kabuksuz kısım (kotiledon) ayırımının yapılamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kabuksuz nohut ununun

toplam lipit içeriği %6.17 olarak tespit edilmiştir. Belirlenen bu lipit içeriğinin, literatürde de belirtildiği gibi (33), diğer birçok baklagilin lipit içeriğinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Nohudun kabuk kısmında lipit içeriği, muhtemelen çok düşük miktarlarda olmasından dolayı belirlenememiştir. Aynı duruma nohudun kabuksuz kısmında yapılan lignin analizinde de karşılaşılmıştır. Burada da herhangi bir lignin miktarı saptanmamıştır. Kabuk kısmının lignin içeriği de diğer baklagil kabuklarına göre düşük bulunmuştur. Literatürde börülce kabuğu için lignin içeriğinin %7.5-23.6 (34), soya fasulyesi kabuğu için ise %2.5-5.9 (35) aralığında olduğu belirtilmiştir. Kabuk kısmının beklendiği gibi kül ve toplam diyet lif içeriklerinin kabuksuz kısma göre önemli miktarda daha yüksek oldukları görülmüştür. Bu durum özellikle mineral madde ve sindirimi mümkün olmayan bileşenlerin daha çok gıdaların dış kabuklarında yoğunlaşmış olmasından kaynaklanmaktadır. Beslenme sağlığı açısından bakıldığında özellikle yüksek oranda mineral madde ve diyet lifi içermesi önemli bir avantaj olarak değerlendirilmektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde nohut kabuğunun toplam fenolik madde ve kondense tanen içeriğinin kabuksuz nohut unundan daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum genel olarak baklagillerde beklenen bir sonuç değildir. Literatürde birçok baklagil ile ilgili yapılan çalışmalarda kabuk kısmının tanenin kalan kısmına göre daha yüksek oranda fenolik madde ve kondense tanen içerdiği belirtilmektedir (12, 17, 36). Antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında ise nohut kabuğunun kabuksuz nohut ununa göre daha yüksek bir aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak her iki kısımda belirlenen bu değerlerin oldukça düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Literatürde, bu çalışmada kullanılan ekstraksiyon koşulları kullanılarak yapılan bir çalışmada,

Çizelge 1. Nohut kabuğu ve kabuksuz nohut ununun kimyasal bileşimi (% kuru madde temelinde)

Table 1. Proximate composition of chickpea seed coat and coatless chickpea flours (% dry matter basis)

Kimyasal içerik Proximate content	Örnek Sample	
	Nohut kabuğu Chickpea seed coat	Kabuksuz nohut Coatless chickpea
Protein <i>Protein</i>	10.72±0.02	18.18±0.16
Nişasta <i>Starch</i>	6.55±0.29	45.31±0.43
Toplam lipit <i>Total lipid</i>	-	6.86±0.21
Kül <i>Ash</i>	6.17±0.08	3.10±0.02
Lignin <i>Lignin</i>	1.58±0.09	-
Toplam diyet lifi <i>Total dietary fiber</i>	73.89±2.41	13.51±2.03
$\beta$ -glukan <i><math>\beta</math>-glucan</i>	0.08±0.03	0.04±0.01

Çizelge 2. Nohut kabuğu ve kabuksuz nohut ununun antioksidan aktiviteleri ve fenolik madde ve kondense tanen içerikleri  
 Table 2. Antioxidant activity, total phenolic content, and condensed tannin content of chickpea seed coat and coatless chickpea flours

Parametre Parameter	Örnek Sample	
	Nohut kabuğu Chickpea seed coat	Kabuksuz nohut Coatless chickpea
Toplam fenolik madde, mg gallik asit eşdeğeri/g Total phenolics, mg gallic acid equivalent/g	0.62±0.07	0.82±0.11
Toplam kondense tanen, mg (+)-kateşin eşdeğeri/g Total condensed tannin, mg (+)-catechin equivalent/g	0.13±0.04	0.61±0.18
Antioksidan aktivite, mg TROLOX eşdeğeri/g Antioxidant activity, mg TROLOX equivalent/g	0.36±0.08	0.17±0.06

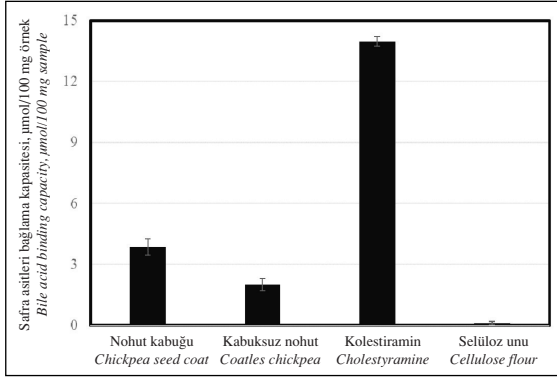
buğday ve yulaf kepeğinin toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla 2.8 ve 2.0 mg GAE/g olarak belirlemiştir (24). Aynı çalışmada bu örneklerin antioksidan aktiviteleri sırasıyla 1.1 ve 0.9 mg TROLOX/g olarak bulunmuştur. Troszynska ve Ciska (19)'da ise renkli kabuklara sahip bir bezelye çeşidinin kondense tanen miktarının 2.2 mg CE/g olduğu belirtilmiştir. Görüldüğü gibi bu çalışmada gerek nohut kabuğu ve gerekse kabuksuz nohudun fenolik madde, kondense tanen ve antioksidan aktiviteye sahip madde miktarlarının diğer gıda örneklerinden önemli derecede daha düşük olduğu görülmektedir. Literatürde mevcut olan diğer çalışmalar incelendiğinde ise özellikle renkli kabuklara sahip baklagillerin yüksek miktarda antioksidan aktiviteye sahip madde içerdikleri tespit edilmiştir (37-38).

### In vitro sindirim ve safra asitleri bağlama kapasitesi

Eşitlik 1 kullanılarak nohut kabuğu ve kabuksuz nohudun toplam sindirilebilirliği sırasıyla %15.4±0.6 ve %74.5±1.5 olarak belirlenmiştir. Literatürde benzer yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda yulaf unu ve buğday kepeği için belirlenen sindirilebilirlik değerlerinin sırasıyla %77-81 ve %28-32 arasında olduğu belirtilmiştir (27, 39). Bu çalışmada nohut kabuğu için belirlenen sindirilebilirlik değerinin buğday kepeğinde de daha düşük olmasının temel nedeninin nohut kabuğunun bileşiminden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada sindirilemeden kalın bağırsağa ulaşan karbonhidrat bileşenlerinin burada fermente olarak kalın bağırsak sağlığı için önemli olan bazı maddelerin oluşumuna katkı sunduğu belirtilmektedir. Yukarıda verilen sindirilebilirlik

değerleri incelendiğinde nohut kabuğunun %84.6'sı ve kabuksuz nohudun ise %25.5'inin sindirilemediği, dolayısıyla bu kısmın kalın bağırsak için potansiyel fermantasyon substratı olarak değerlendirilebileceği görülmektedir. Ancak kalın bağırsağa ulaşan bu kısmın mevcut mikroflora ile hangi oranda fermente edilebileceğini önceden kestirmek kolay değildir.

In vitro koşullarda nohut kabuğu, kabuksuz nohut, kolestimamin ve selüloza ait safra asitleri bağlama kapasitesi değerleri Şekil 3'te verilmiştir. Bu deneylerde safra asidi bağlama özelliği olmayan selüloz negatif kontrol, safra asidi bağlayıcı özelliği olan anyonik bileşik kolestimamin ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (40-41). Sonuçlar incelendiğinde kolestimamin adlı maddenin safra asidi bağlama kapasitesi 13.97 µmol/100 mg olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol olan selülozun ise beklendiği gibi oldukça düşük bir safra asidi bağlama kapasitesine (0.12 µmol/100 mg) sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçların literatürde kolestimamin ve selüloz için belirlenen değerlere oldukça yakın olduğu görülmektedir (27, 42-43). Çalışmada kullanılan nohut kabuğu ve kabuksuz nohut unu için belirlenen safra asitleri bağlama kapasitesi değerleri sırasıyla 3.86 ve 2.01 µmol/100 mg'dır. Elde edilen bu sonuçların literatürde farklı çalışmalarda farklı şekilde verilen sonuçlarla karşılaştırılabilmesi için safra asidi bağlama miktarları genellikle kolestimamine göre yapılmaktadır (27, 43). Yani kolestimaminin bağladığı miktar 100 olarak alınıp diğer sonuçlar buna göre göreceli olarak hesaplanmaktadır. Bu durumda nohut kabuğu ve kabuksuz nohudun kolestimamine göre safra bağlama kapasiteleri sırasıyla %28 ve %14 olarak hesaplanmıştır. Literatürde kolza tohumu için bu değerler %24 (44), buğday kepeği için %16 (45) ve yulaf unu için %11 (27) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3. Örneklerin safra asitlerini bağlama kapasiteleri  
Figure 3. Bile acid binding capacity of the samples

Sonuç olarak nohut tanesinin yaklaşık %5'lik kısmını oluşturan kabuğun beslenme açısından önemli özellikleri incelendiğinde kabuğun diyet lifi ve mineral maddelerce zengin olması ön plana çıkan en önemli özelliklerdir. Ancak besleyicilik özelliği açısından önemli olan faydaların göstergeleri olarak kabul edilen fenolik madde içeriği, antioksidan kapasitesi ve safra asitleri bağlama test sonuçları değerlendirildiğinde nohut kabuğunun tüm nohut tanesi içerisindeki katkısının düşük olduğu görülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışmanın bir kısmı TÜBİTAK 107O397 no'lu proje sonuçlarından üretilmiştir.

### KAYNAKLAR

1. FAOSTAT 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> (Accessed 3 October 2016).
2. Karakullukçu E, Adak MS. 2008. Bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinin tuza toleranslarının belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (4), 313-319.
3. Anon 2013. Baklagil raporu. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, <http://arastirma.tarim.gov.tr/gaputaem/Belgeler/tar%C4%B1msal%20veriler/gaputaem%20gncel/Baklagil%20Raporu.pdf> (Erişim tarihi: 02/10/2016).
4. Singh U, Subrahmanyam N, Kumar J. 1991. Cooking quality and nutritional attributes of some newly developed cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J Sci Food Agric*, 55(1), 37-46.

5. Segev A, Badani H, Kapulnik Y, Shomer I, Oren-Shamir M, Galili S. 2010. Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J Food Sci*, 75(2), 115-119.

6. Williams PC, Singh KB. 1987. *Nutritional quality and the evaluation of quality in breeding programmes*. The Chickpea. Saxena MC, Singh KB (eds), CAB International Wallingford, Oxon, UK, pp. 329-356.

7. Meiners CR, Derise NL, Lau MG, Ritchey SJ, Murphy EW. 1976. Proximate composition and yield of raw and cooked mature dry legumes. *J Agric Food Chem*, 24(6), 1122-1125.

8. Singh U. 1985. Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.): current study and future research needs. *Plant Foods Hum Nutr*, 35(4), 339-351.

9. Chavan JK, Kadam SS, Salunkhe DK. 1986. Biochemistry and Technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 25(2), 107-158.

10. Singh U, Kumar J, Jambunathan R, Smithson JB. 1980. Variability in the seed coat content of desi and kabuli chickpea cultivars. *Int Chickpea News*, 3, 18-21.

11. Klamczynska B, Czuchajowska Z, Baik, BK. 2001. Composition, soaking, cooking and thermal characteristics of starch of chickpeas, wrinkled peas and smooth peas. *Int J Food Sci Technol*, 36(5), 563-572.

12. Dueñas M, Estrella I, Hernández T. 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur Food Res Technol*, 219(2), 116-123.

13. Saxena, MC (ed), Singh, KB (ed). 1987. *The Chickpea*. CAB International Wallingford, Oxon, UK, 368 p.

14. Hawtln L (ed). 1981. *The Chickpea Cookbook*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria, 65 p.

15. Choung MG, Baek IY, Kang ST, Han WY, Shin DC, Moon HP, Kang KH. 2001. Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *J Agric Food Chem*, 49(12), 5848-5851.

16. Dalgherty DD, Byung-Kee B. 2003. Isolation and characterization of cotyledon fibers from peas, lentils, and chickpeas. *Cereal Chem*, 80 (3),310-315.
17. Duenas M, Hernandez T, Estrella I. 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chem*, 98(1), 95-103.
18. Moise JA, Han S, Gudynaite-Savitch L, Johnson DA, Miki BL. 2005. Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 41(5), 620-644.
19. Troszynska A, Ciska E. 2002. Phenolic compounds of seed coats of white and colored varieties of pea (*Pisum sativum* L.) and their total antioxidant activity. *Czech J Food Sci*, 20(1), 15-22.
20. Yoshida K, Sato Y, Okuno R, Kameda K, Isobe M, Kondo, T. 1996. Structural analysis and measurement of anthocyanins from colored seed coats of Vigna, Phaseolus, and Glycine legumes. *Biosci Biotechnol Biochem*, 60(4), 589-593.
21. Filipovic N, Djuric M, Gyura J. 2007. The effect of the type and quantity of sugar-beet fibers on bread characteristics. *J Food Eng*, 78(3), 1047-1053.
22. AACC 1995. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9<sup>th</sup> Edition, St. Paul, Minnesota, USA.
23. AACC 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th Edition. St. Paul, Minnesota, USA.
24. Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F. 2005. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. *J Agric Food Chem*, 53(12), 5036-5040.
25. Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Romani A. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of Phaseolus vulgaris L. dry beans. *J Agric Food Chem*, 53(8), 3053-3056.
26. Moure A, Franco D, Sineir J, Domínguez H, Núñez MJ, Lema JM 2000. Evaluation of extracts from Gevuina avellana hulls as antioxidants. *J Agric Food Chem*, 48(9), 3890-3897.
27. Sayar S, Jannink JL, White PJ. 2005. In vitro bile acid binding of flours from oat lines varying in percentage and molecular weight distribution of  $\beta$ -glucan. *J Agric Food Chem*, 53(22), 8797-8803.
28. Latunde-Dada GO. 1991. Some physical properties of ten soybean varieties and effects of processing on iron levels and availability. *Food Chem*, 42(1), 89-98.
29. Ehiwe AOF, Reichert RD. 1987. Variability in dehulling quality of cowpea, pigeonpea, and mung bean cultivars determined by tangential abrasive dehulling device. *Cereal Chem*, 64(2), 86-90.
30. Moraes RA, Sales MP, Pinto MSP, Silva LB, Oliveira AEA, Machado OLT, Fernandes KVS, Xavier-Filho J. 2000. Lima bean (*Phaseolus lunatus*) seed coat phaseolin is detrimental to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). *Braz J Med Biol Res*, 33(2), 191-198.
31. Silva LB, Sales MP, Oliveira AE, Machado OL, Fernandes KV, Xavier-Filho J. 2004. The seed coat of Phaseolus vulgaris interferes with the development of the cowpea weevil [*Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae)]. *An Acad Bras Cienc*, 76(1), 57-65.
32. Robertson JA, de Monredon FD, Dysseler P, Guillon F, Amado R, Thibault JF. 2000. Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *LWT-Food Sci Technol*, 33(2), 72-79.
33. de Almeida Costa GE, da Silva Queiroz-Monici K, Reis SMPM, de Oliveira AC. 2006. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chem*, 94(3), 327-330.
34. Morrison IM, Asiedu EA, Stuchbury T, Powell AA. 1995. Determination of lignin and tannin contents of cowpea seed coats. *Ann Bot*, 76(3), 287-290.
35. Mullin WJ, Xu W. 2001. Study of soybean seed coat components and their relationship to water absorption. *J Agric Food Chem*, 49(11), 5331-5335.
36. Ranilla LG, Genovese MI, Lajolo FM. 2007. Polyphenols and antioxidant capacity of seed coat and cotyledon from Brazilian and Peruvian bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem*, 55(1), 90-98.
37. Beninger, CW, Hosfield GL. 2003. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from Phaseolus vulgaris L. seed coat color genotypes. *J Agric Food Chem*, 51(27), 7879-7883.

38. Anton AA, Ross KA, Beta T, Fulcher RG, Arntfield SD. 2008. Effect of pre-dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT-Food Sci Technol*, 41(5), 771-778.
39. Amrein TM, Gränicher P, Arrigoni E, Amad R. 2003. In vitro digestibility and colonic fermentability of aleurone isolated from wheat bran. *LWT-Food Sci Technol*, 36(4), 451-460.
40. Lebet V, Arrigoni E, Amad R. 1998. Measurement of fermentation products and substrate disappearance during incubation of dietary fibre sources with human faecal flora. *LWT-Food Sci Technol*, 31(5), 473-479.
41. Wood PJ, Arrigoni E, Miller SS, Amad R. 2002. Fermentability of oat and wheat fractions enriched in (Beta)-glucan using human fecal inoculation. *Cereal Chem*, 79(3), 445.
42. Sayar S, Jannink J L, White PJ. 2011. Textural and Bile Acid-Binding Properties of Muffins Impacted by Oat  $\beta$ -Glucan with Different Molecular Weights. *Cereal Chem*, 88(6), 564-569.
43. Sayar S, Jannink JL, White PJ. 2006. In vitro bile acid binding activity within flour fractions from oat lines with typical and high  $\beta$ -glucan amounts. *J Agric Food Chem*, 54(14), 5142-5148.
44. Yoshie-Stark Y, Wada Y, Wäsche A. 2008. Chemical composition, functional properties, and bioactivities of rapeseed protein isolates. *Food Chem*, 107(1), 32-39.
45. Camire ME, Zhao J, Violette DA. 1993. In vitro binding of bile acids by extruded potato peels. *J Agric Food Chem*, 41(12), 2391-2394.

## İçindekiler / Content

### Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Özkaynak Kanmaz, E.; *The effect of roasting process on fatty acid composition and phenolic content of whole flaxseed, flaxseed flour and flaxseed meal flour* / Tane keten tohumu, keten tohumu unu ve keten tohumu küspesi ununun yağ asidi kompozisyonu ve fenolik bileşik içeriğine kavurma işleminin etkisi .....382-391

Özkaynak Kanmaz, E., Saral, Ö.; *The effect of extraction parameters on antioxidant activity of subcritical water extracts obtained from mandarin peel* / Mandalina kabuğundan elde edilen kritik altı su ekstraktlarının antioksidan aktivite düzeyine ekstraksiyon parametrelerinin etkisi .....405-412

Tezel, G.B., Uzuner, S., Keklikcioglu Cakmak, N.; *Modeling of burger parameters for CMC-guar gum based polymer network* / CMC-guar gum polimer ağı için burger modeline ait parametrelerin modellenmesi ..... 413-421

### Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Ulusoy Ş., Doğruyol, H., Üçok Alakavuk, D., Tosun, Ş.Y.; *Monosodyum glutamatın balık çorbası ve balık köftesinin duyu özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of monosodium glutamate on the sensory properties of fish soup and fish ball*.....339-347

Şahintürk, M., Öner, Z.; *Isparta'da üretilen eşek sütünün kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi* / Determination of chemical and microbiological properties of donkey's milk produced in Isparta ... 348-354

İncedayı, B.; *Gazlı ıhlamur çayı içeceğinin bazı özelliklerinin araştırılması* / *A research on some properties of carbonated linden herbal tea beverage*.....355-363

Özvural, E.B.; *Çemen ekstraktı ve timol içeren filmlerle kaplanan köftelerin bazı kalite özelliklerinin incelenmesi* / *Evaluation of some quality characteristics of the patties coated with films including fenugreek extract and thymol*.....364-371

Özer, C.O.; *Fermente et model sistemi içerisinde kuşburnu (Rosa canina L.) meyvesi kullanımı* / *The use of rose hip fruit (Rosa canina L.) in fermented meat model system*.....372-381

Türker, İ., İşleroğlu, K.; *Mahlep püresinin kızılötesi ışınlama ile kurutulması işleminde antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasite değişim kinetiği* / *Kinetics of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity changes of mahaleb puree in infrared drying process* .....422-430

Karatepe, M., Bağcı, C., Karatepe, B., Şenel, T., Karadere, A.; *Niğde'de tüketime sunulan peynirlerde akar varlığının araştırılması* / *Research on occurrence of mites in cheese consumed in Niğde*..... 431-436

Atak, Z., Baysan, U., Devseren, E., Tomruk, D., Koç, M., Karataş, H., Kaymak-Ertekin, F.; *Zeolit yatak ile modifiye edilmiş vakum fırında domates salçası üretimi* / *Tomato paste production in the modified vacuum oven with zeolite bed*.....437-446

Selamoğlu, H., Halkman, A. K.; *Gıda maddelerinde Salmonella aranmasında laktöz broth ve tamponlanmış peptonlu su ile özenleştirme süresinin karşılaştırılması* / *Comparison of the pre-enrichment time in using lactose broth and buffered peptone water for Salmonella detection in foods*.....457-467

Sayar, S., Çalışkantürk Karataş, S.; *Nohutta tane (tohum) kabuğunun tüm tanenin fiziksel, kimyasal ve beslenme özellikleri üzerine etkisi* / *Effect of seed coat on the physical, chemical and nutritional properties of whole chickpea*.....468-476

### Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Var, I., Çelik, Ç.; *Salgınlara neden olan bazı gastroenterit virüslerinin irdelenmesi* / *Review of some gastroenteritis viruses causing outbreaks* .....392-404

Hızlar, B., Karakaya, S.; *Eksiyan gıda ve emülsiyonların karotenoid biyoerişilebilirliği üzerine etkisi* / *The effects of excipient foods and emulsions on carotenoid bioaccessibility*.....447-456