ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK GIDA

Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

www.academicfoodjournal.com • Cilt/Volume:15 • Sayı/Number:1 Ocak - Mart 2017 ₺13 (KDV dahil)

İçerikten / *From the content*

Acrylamide Contents of Some Commercial Crackers, Biscuits and Baby Biscuits
Bazı Ticari Kraker, Bisküvi ve Bebek Bisküvilerindeki Akrilamid Miktarları

***Aspergillus sojae* Tarafından Üretilen Poligalakturonazın Kısmi Saflaştırılması için Kromatografik Bir Yaklaşım**
A Chromatographic Approach for Partial Purification of Polygalacturonase Produced by Aspergillus sojae

Turunçgil Kabuklarından Elde Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması
Comparison and Characterization of Pectins Obtained From Citrus Peels

Urfa Peynirlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Enterotoksin Üretim Potansiyeli ve Metisilin Dirençliliği
Enterotoxin Production Potential and Methicillin Resistance of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Urfa Cheeses

Fındık, Zeytin ve Pamuk Yağlarında Peroksit Oluşum Kinetiği
Kinetics of Peroxide Formation in Hazelnut, Olive and Cottonseed Oils

Farklı Yoğurt ve Yem Tüketiminin Ratlarda Serum Kolesterol Seviyesine Etkisi
Effect of Different Yogurt and Feed Consumption on Serum Cholesterol Levels in Rats

Endüstriyel Pekmez Üretim Sürecinde Enerji Analizi
Energy Analysis in Industrial Grape Molasses (Pekmez) Production Process

Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları
Potential Uses of Propolis in Food Industry

ACADEMIC FOOD JOURNAL
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

75

SİMEDYA GRUP

SİDAS MEDYA

www.academicfoodjournal.com

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL
AKADEMİK GIDA®
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

•Cilt/Volume:15 • Sayı/Number:1 • Yıl/Year:2017

www.akademikgida.com

ACADEMIC FOOD JOURNAL

A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

AKADEMİK GIDA®

ACADEMIC FOOD JOURNAL

Akademik Gıda® Dergisi Gıda Bilimi ve Teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Araştırma notu ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilmektedir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda® dergisi CAB Abstracts®, EBSCO, Index Copernicus, Food Science and Technology Abstracts (FSTA®) ve TÜBİTAK ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veri Tabanı tarafından indekslenmektedir.

Editör / Editor

Oğuz Gürsoy
(Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Yardımcı Editörler / Associate Editors

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)
Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)
Yusuf Yılmaz (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Teknik Editör / Technical Editor

Kübra Kocatürk (Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu

Mohamed H. Abd El-Salam (National Research Center, Egypt)
Sibel Akalın (Ege University, Turkey)
Abdullah Akdoğan (Pamukkale University, Turkey)
Nihat Akın (Selçuk University, Turkey)
Nesimi Aktaş (Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey)
Tapani Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Patricia-Munsch Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Muhammet Arıcı (Yıldız Technical University, Turkey)
Adriana Pavesi Arisseto (State University of Campinas, Brazil)
Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)
Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)
Jurislav Babić (University of Osijek, Croatia)
Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)
Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)
Noreddine Benkerroum (Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Morocco)
Yavuz Beyatlı (Gazi University, Turkey)
Kamil Bostan (İstanbul Aydın University, Turkey)
Rajka Božanić (University of Zagreb, Croatia)
Cengiz Caner (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Abdullah Çağlar (Afyon Kocatepe University, Turkey)
İbrahim Çakır (Abant İzzet Baysal University, Turkey)
Songül Çakmakçı (Atatürk University, Turkey)
İlyas Çelik (Pamukkale University, Turkey)
Utku Çopur (Uludağ University, Turkey)
Ahmet Hilmi Çon (Ondokuz Mayıs University, Turkey)
Mehmet Demirci (Namık Kemal University, Turkey)
Cynthia Ditchfield (University of Sao Paolo, Brazil)
Maria Elisabetta Guerzoni (University of Bologna, Italy)
Fahrettin Göğüş (Gaziantep University, Turkey)
Şebnem Harsa (İzmir Institute of High Technology, Turkey)
Arif Hepbaşlı (Ege University, Turkey)
Seda Ersus (Ege University, Turkey)
Adnan Hayaloğlu (İnönü University, Turkey)
Yekta Göksungur (Ege University, Turkey)
Mehmet Güven (Çukurova University, Turkey)
Filiz İçier (Ege University, Turkey)
Kadir Halkman (Ankara University, Turkey)
Hasan Fenercioğlu (Çukurova University, Turkey)
Mükerrem Kaya (Atatürk University, Turkey)
Semra Kayaardı (Celal Bayar University, Turkey)
Yonca Karagül-Yüceer (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Harun Kesenkaş (Ege University, Turkey)
Meral Kılıç (İstanbul Technical University, Turkey)
Piotr Koczon (Warsaw University of Life Sciences, Poland)
Celalettin Koçak (Ankara University, Turkey)
Ergun Köse (Celal Bayar University, Turkey)
Ahmet Küçükçetin (Akdeniz University, Turkey)
Mine Anğ Küçüker (İstanbul University, Turkey)
Erdoğan Küçüköner (Süleyman Demirel University, Turkey)
Jung Hoon Lee (Fort Valley State University, USA)
Sebahattin Nas (Pamukkale University, Turkey)
Gülden Ova (Ege University, Turkey)
Zümrüt B. Ögel (Konya Food and Agriculture University, Turkey)
Semih Ötleş (Ege University, Turkey)
Halil Özbaş (Süleyman Demirel University, Turkey)
Beraat Özçelik (İstanbul Technical University, Turkey)
Filiz Özçelik (Ankara University, Turkey)
Sami Gökhan Özkal (Pamukkale University, Turkey)
Mustafa Zafer Özel (University of York, UK)
Barbaros Özer (Ankara University, Turkey)
Edward Pospiech (Poznan University of Life Sciences, Poland)
Konstantinos Petrotos (Technological Educational Institute of Larissa, Greece)
Pican Prabasankar (CSIR-Central Food Technological Research Institute, India)
Jenny Ruales (Escuela Politécnica Nacional, Ecuador)
Osman Sağdıç (Yıldız Technical University, Turkey)
Saulius Satkauskas (Vytautas Magnus University, Lithuania)
Meltem Serdaroğlu (Ege University, Turkey)
Reyad R. Shaker (Jordan University of Science & Technology, Jordan)
Romeo Toledo (University of Georgia, USA)
Mahir Turhan (Mersin University, Turkey)
Yahya Tülek (Pamukkale University, Turkey)
Harun Uysal (Ege University, Turkey)
Mustafa Üçüncü (Ege University, Turkey)
Y. Sedat Velioğlu (Ankara University, Turkey)
Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)
Aydın Yapar (Pamukkale University, Turkey)
Hasan Yetim (Erciyes University, Turkey)
Atila Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)
Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)
Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda® / Academic Food Journal
Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) 2017

AKADEMİK GIDA

ABSTRACTED / INDEXED / LISTED IN

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

Akademik Gıda 15 (1) (2017)

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ **Editörden** / *Editorial*

■ MAKALELER / PAPERS

■ **Araştırma Makaleleri** / **Research Papers**

Acrylamide Contents of Some Commercial Crackers, Biscuits and Baby Biscuits / *Bazı Ticari Kraker, Bisküvi ve Bebek Bisküvilerindeki Akrilamid Miktarları* / *Cennet Pelin Boyacı Gündüz, Ayşe Kevser Bilgin, Mehmet Fatih Cengiz* **1 - 7**

Aspergillus sojae **Tarafından Üretilen Poligalakturonazın Kısmi Saflaştırılması için Kromatografik Bir Yaklaşım** / *A Chromatographic Approach for Partial Purification of Polygalacturonase Produced by Aspergillus sojae* / *Ilknur Sen, Marco A. Mata-Gomez, Marco Rito-Palomares, Canan Tari, Melike Dinç* **8 - 16**

Turunçgil Kabuklarından Elde Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması / *Comparison and Characterization of Pectins Obtained From Citrus Peels* / *Melih Güzel, Özlem Akpınar* **17 - 28**

Urfa Peynirlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Enterotoksin Üretim Potansiyeli ve Metisilin Dirençliliği / *Enterotoxin Production Potential and Methicillin Resistance of Staphylococcus aureus Strains Isolated from Urfa Cheeses* / *Kadriye Kübra Bingöl, Sine Özmen Toğay* **29 - 35**

Fındık, Zeytin ve Pamuk Yağlarında Peroksit Oluşum Kinetiği / *Kinetics of Peroxide Formation in Hazelnut, Olive and Cottonseed Oils* / *Sema Kaya, Emre Bakkalbaşı, İsa Cavidoğlu* **36 - 42**

Farklı Yoğurt ve Yem Tüketiminin Ratlarda Serum Kolesterol Seviyesine Etkisi / *Effect of Different Yogurt and Feed Consumption on Serum Cholesterol Levels in Rats* / *Nizam Mustafa Nizamlıoğlu, Nihat Akın* **43 - 50**

Endüstriyel Pekmez Üretim Sürecinde Enerji Analizi / *Energy Analysis in Industrial Grape Molasses (Pekmez) Production Process* / *Seda Genç* **51 - 59**

■ **Derleme Makaleler** / **Review Papers**

Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları / *Potential Uses of Propolis in Food Industry* / *Azize Atik, Tuncay Gümüş* **60 - 65**

Potansiyel Fonksiyonel Bileşen: Kahve Çekirdeği Zarı / *Potential Functional Ingredient: Coffee Silverskin* / *Gizem Ateş, Yeşim Elmacı* **66 - 74**

Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri / *Some Properties of Honey and Other Bee Products and Their Effects on Human Health* / *Ceren Mutlu, Mustafa Erbaş, Sultan Arslan Tontul* **75 - 83**

Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Üretimleri, Uygulama Yöntemleri, Fonksiyonları ve Kaslı Gıdalarda Kullanımları / *Edible Films and Coatings: Their Production, Application Methods, Functions and Uses in Muscle Foods* / *Serpil Tural, Furkan Türker Sarıcaoğlu, Sadettin Turhan* **84 - 94**

Et Ürünleri Formülasyonlarında Emülsifiye Edilmiş Yağların Kullanımı / *Uses of Emulsified Lipid Phases in Meat Product Formulations* / *Merve Karabıyıkoğlu, Meltem Serdaroğlu* **95 - 102**

■ **Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları** / *Guidelines to Authors*

Editörden / Editorial

ACADEMIC FOOD JOURNAL
AKADEMİK GIDA
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

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

Genel Yayın Yönetmeni
Şakir SARIÇAY
info@akademikgida.com
ssaricay@gmail.com

Editör
Doç. Dr. Oğuz GÜRSOY
ogursoy@yahoo.com

Yardımcı Editörler
Prof. Dr. Özer KINIK
Doç. Dr. Ramazan GÖKÇE
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Reklam Müdürü
Nurcan AKMAN ŞENGÖR

Hukuk Danışmanı
Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

Abone Sorumlusu
Halil SOLAK

Grafik Tasarım
İrem ŞİMŞEK ÇETİNKAYA

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 15
Sayı: 75
Ocak - Mart 2017
ISSN Print 1304-7582
ISSN Online 2148-015X
Akademik Gıda Dergisi
Bir SİMEDYA GRUP Yayınıdır.

Yayın Türü: Yerel Süreli
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 15. yayın yılının ilk sayısında sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 7 araştırma ve 5 derleme çalışması olmak üzere toplam 12 makale yer almaktadır. Yayıncı kuruluş dergi baskı maliyetlerinin artması nedeniyle derginin bu sayısından itibaren baskı işlemini bırakma ve yalnızca dijital (online) dergi yayınlama konusunda karar almış olup dergimiz bu sayıdan itibaren yalnızca elektronik ortamda yayımlanacaktır.

Yeni yayın yılının getirdiği yeniliklerden biri de Akademik Gıda dergisinin TÜBİTAK-ULAKBİM tarafından sunulan dergi barındırma ve süreç yönetimi hizmeti veren DergiPark'a katılmış olması ve her makale için DOI numarası vermeye başlamasıdır.

Bu yıl ve önümüzdeki yıllarda daha fazla ulusal ve uluslararası veri tabanı ve indekste dizinlenmek ve derginin uluslararası düzeyde tanınırlığını arttırmak için çalışmalarımızı sürdürüyoruz. Dergimizin kalitesini ve uluslararası alanda saygınlığını arttırabilmemiz için etki faktörünün yükseltilmesi başlıca hedeflerimiz arasındadır. Bu nedenle siz değerli bilim insanlarından gerek dergimize ve gerekse diğer ulusal ve uluslararası dergilere gönderdiğiniz makalelerde Akademik Gıda dergisinde yayımlanan makalelere mümkün olduğunca atıf yapmanızı tekrar rica ediyoruz.

Katkılarınızla dergimizin daha iyi noktalara geleceğine yürekten inanıyoruz. Ayrıca, dergimizde araştırma makalelerinin ve İngilizce olarak yazılan makalelerin değerlendirme ve yayınlanma sürelerinin diğer makalelere kıyasla oldukça kısa olduğunu yazarlarımıza tekrar hatırlatmak istiyoruz.

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

Saygılarımızla.

Oğuz Gürsoy
Editör

Özer Kınık
Ramazan Gökçe
Yusuf Yılmaz
Yardımcı Editörler

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

1. Tarım ve Gıda Etiği Kongresi

Uluslararası katılımlı 1. Tarım ve Gıda Etiği Kongresi 10-11 Mart 2017 tarihlerinde Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi konferans salonunda gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **http://www.targetcongress.org** adresinden ulaşılabilir.

4. Uluslararası Beyaz Et Kongresi

Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Birliği Derneği (BESD-BİR) tarafından geleneksel olarak iki yılda bir düzenlenen Uluslararası Beyaz Et Kongrelerinin dördüncüsü 26-30 Nisan 2017 tarihleri arasında Antalya'da (Kaya Palazzo Golf Resort & Kaya Belek) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **http://beyazetkongresi.com/** adresinden ulaşılabilir.

1. Ulusal Sütçülük Kongresi

Süt bilimi ve teknolojisindeki son gelişmelerin ve ülkemiz süt sektörünün küresel rekabette ve tarımsal sürdürülebilirlikte başarılı olabilmek için izlemesi gereken stratejilerin tartışılacağı bir platform olarak planlanan 1. Ulusal Sütçülük Kongresi; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Et ve Süt Kurumu Genel Müdürlüğü ve Türkiye Süt, Et ve Gıda Üreticileri ve Sanayicileri Birliği (SETBİR) işbirliği ile 25-26 Mayıs 2017 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Konferans Salonunda gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **http://agri.ankara.edu.tr/1-ulusal-sutculuk-kongresi-25-26-mayis-2017/** adresinden ulaşılabilir.

3rd International Conference on Food and Biosystems Engineering (3rd FABE 2017)

Yunanistan'ın Teselya Teknolojij Eğitim Enstitüsü, Tarımsal Mühendislik Teknolojileri Bölümü, Gıda ve Biyosistem Mühendisliği Laboratuvarı (Larissa, Teselya, Yunanistan) tarafından üçüncüsü düzenlenecek olan 3. Uluslararası Gıda ve Biyosistem Mühendisliği Konferansı 1-4 Haziran 2017 tarihlerinde Rodos adasında bulunan Hotel Amathus Beach'de gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **http://www.fabe.gr** adresinden ulaşılabilir.

The 8th International Symposium EuroAliment

Romanya'da bulunan Galati Dunarea de Jos Üniversitesi Gıda Bilimi ve Mühendisliği Fakültesi tarafından 7-8 Eylül 2017 tarihlerinde the 8th International Symposium EuroAliment isimli sempozyum düzenlenecektir. Sempozyumla ilgili bilgilere **www.euroaliment.ugal.ro/** adresinden ulaşılabilir.

10. Gıda Mühendisliği Kongresi

Gıda Mühendisleri Odası tarafından iki yılda bir düzenlenmekte olan Gıda Mühendisliği Kongrelerinin onuncusu 9-11 Kasım 2017 tarihlerinde Side La Grande Resort Hotel & SPA'da (Side, Antalya) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **www.gidamuhendiligikongresi.org** adresinden ulaşılabilir.

3rd International Congress on Food Technology

Üçüncü Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongresi 7-9 Kasım 2018 tarihlerinde Kapadokya'da gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere **http://www.intfoodtechno2018.org/** adresinden ulaşılabilir.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 1-7, DOI: 10.24323/akademik-gida.305277

Research Paper / Araştırma Makalesi

Acrylamide Contents of Some Commercial Crackers, Biscuits and Baby Biscuits

Cennet Pelin Boyacı Gündüz[1], ✉, Ayşe Kevser Bilgin[2], Mehmet Fatih Cengiz[3]

[1]Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Food Engineering, Adana, Turkey
[2]Akdeniz University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Antalya, Turkey
[3]Akdeniz University, Center for Food Safety and Agricultural Researches, Antalya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 20.07.2016, Accepted (Kabul Tarihi): 06.12.2016
✉ *Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): pgunduz@cu.edu.tr (C.P. Boyacı Gündüz)*
+90 322 338 60 84 +90 322 338 21 77

ABSTRACT

In present study, acrylamide levels in a total of 90 commercial samples of crackers, biscuits and baby biscuits sold in Turkey were determined by the GC/MS method with bromine derivatization. Cracker samples (n=30) were divided into 4 groups as salty crackers, crackers with cheese, crackers with spices and crackers with sesame. Biscuit samples (n=27) were divided into 5 categories as wheat based biscuits, bran based biscuits, whole wheat biscuits, oat biscuits and wheat biscuits with cocoa. Baby biscuits (n=33) were grouped depending on their brand name. Mean acrylamide levels were 604, 495 and 153 µg/kg for crackers, biscuits and baby biscuits, respectively. Acrylamide contents showed a great variation among different brands and types of food samples since acrylamide can be found in a wide range of food products at different levels depending on the composition and processing parameters.

Keywords: Acrylamide, GC-MS, Thermal processing contaminants, Biscuits, Crackers

Bazı Ticari Kraker, Bisküvi ve Bebek Bisküvilerindeki Akrilamid Miktarları

ÖZ

Bu çalışmada, Türkiye'de satılan 90 adet ticari kraker, bisküvi ve bebek bisküvisi örneklerindeki akrilamid düzeyleri brom türevlendirmesi sonrasında Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi metoduyla araştırılmıştır. Kraker örnekleri (n=30) tuzlu, peynirli, baharatlı ve susamlı krakerler olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Bisküvi örnekleri (n=27) ise 5 gruba ayrılarak sade, kakaolu, kepekli, tam buğday ve yulaflı bisküviler olarak sınıflandırılmıştır. Bebek bisküvileri (n=33) markalarına göre gruplandırılmışlardır. Kraker, bisküvi ve bebek bisküvisi örneklerindeki ortalama akrilamid düzeyleri sırasıyla 604, 495 ve 153 µg/kg olarak belirlenmiştir. Akrilamid gıdaların kompozisyonuna ve işleme parametrelerine bağlı olarak pek çok gıdada bulunmakta ve düzeyleri farklı markalara ve gıda çeşitlerine göre değişmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, GC-MS, Isıl işlem kontaminantları, Bisküvi, Kraker

INTRODUCTION

Acrylamide (CH_2=CH-$CONH_2$) is a colorless, odorless and water soluble (215.5 g/100 mL at 30°C) crystalline chemical compound (CAS Registry Number 79-06-1) with a molecular mass of 71.08 g/mole [1, 2]. It is an important industrial chemical used in the production of polyacrylamide, which is used in electrophoretic separation, water treatment and paper processing [2-4]. Before detection in foods, the main concern was occupational exposure or at low levels non-occupational exposure as a result of the migration of acrylamide from food packaging material or from water through water treatment [5]. In April 2002, acrylamide was detected in

carbohydrate rich foods processed at high temperatures and discovery of acrylamide in foods attracted considerable attention worldwide since it is classified as probably carcinogenic to humans (Group 2A) by the International Agency for Research on Cancer [6].

People are exposed to acrylamide by diet as a result of the consumption of acrylamide rich food products. The Maillard reaction between reducing sugars and free asparagine during high temperature processing was reported as the main and the most probable pathway for the formation of acrylamide in foods [7-9]. Therefore, acrylamide can be found at different levels in carbohydrate rich foods heated at high temperatures during their production and processing such as potato products, cereal products and roasted coffee [10, 11]. Cereal products including biscuits, baby biscuits, breads, crackers and breakfast cereals contain acrylamide at various levels. Ölmez et al. [12] reported an overview of acrylamide contents in a total of 311 processed and traditional Turkish foods. Results of this study showed that mean acrylamide levels in crackers (n=18), biscuits (n=16) and baby biscuits (24) were 247, 198 and 152 µg/kg, respectively. Şenyuva and Gökmen [13] showed acrylamide levels in 120 analyzed food samples taken randomly from markets in Turkey. In this study, the highest mean acrylamide level reached to 1072 µg/kg in crackers. In a study by Pacettia et al. [14], acrylamide levels in selected Colombian foods (n=112) were determined and bakery products like biscuits (1104 µg/kg), showed the highest mean acrylamide value. In another study, acrylamide contents in commercial biscuits and bread derivatives marketed in Spain were investigated [15]. In biscuits, mean and highest acrylamide contents were 423 and 2085 µg/kg, respectively. Biscuits and crackers may contain high acrylamide levels, and these foods might pose serious public health risks since these foods are widely consumed by people especially children. It was reported that acrylamide exposure of children is higher than that of adults [16-18]. Mean acrylamide exposure levels in Europe were estimated by the European Food Safety Authority (EFSA) as 0.31-1.1, 0.43-1.4, 0.70-2.05 and 1.2-2.4 µg/kg body weight (bw)/day for adults (>18 years), for adolescents (11-17 years), for children and for toddlers (1-3 years), respectively [11]. It is apparent from the reported data that exposure of toddlers is in the highest range.

In a previous work of ours, exposure of the toddlers was estimated as 1.43 µg/kg bw/day and following bread, the food products that contributed to the acrylamide exposure the most were crackers, biscuits and baby biscuits accounting of the 25, 19 and 11 % of the total dietary intake of acrylamide by toddlers [19, 20]. These food products were major sources of dietary acrylamide exposure due to their relatively high consumption rate and/or high acrylamide levels [11, 17, 18, 20-29]. Therefore, exposure to acrylamide is of concern for consumers due to its potential carcinogenicity and content of acrylamide in commonly consumed food products must be determined by highly sensitive methods. In the literature, a great number of methods have been reported for analyzing acrylamide levels of the food products. These methods are mainly based on mass spectrometry as the determinative technique coupled with liquid chromatography or gas chromatography [14, 15, 30-35].

The aim of this present study was to determine the contents of acrylamide in crackers, biscuits and baby biscuits of different brands and types which are commonly consumed in Turkey by GC/MS after bromination.

MATERIALS and METHODS

Chemicals and Standards

Acrylamide standard (>99%), the internal standard $^{13}C_3$-acrylamide (1,2,3- $^{13}C_3$ - acrylamide, >99%) and the acrylamide derivative (2,3 dibromopropionamide >99.5%) were obtained from Dr**.** Ehrenstorfer GmbH **(**Augsburg**,** Germany), Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, USA) and Chem Service Inc. (West Chester, USA), respectively. Ethyl acetate was purchased from Sigma**-**Aldrich (St. Louis, USA). Other chemicals were used of brand Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Water was produced by an ultrapure (18.2 MΩ cm at 25°C) purification system (Bedford, USA). Food products were randomly collected from five different supermarkets in Antalya in 2012.

Sampling

Widely consumed brands and types of crackers, biscuits and baby biscuits samples were selected for the study. A total of 90 samples were analyzed to determine the acrylamide levels. Samples were categorized to sub-groups depending on their brand and/or composition. Cracker samples (n=30) were grouped as salty crackers (15), crackers with cheese (4), crackers with spices (6) and crackers with sesame (5). Biscuit samples (n=27) were divided into 5 categories as wheat based biscuits (18), bran based biscuits (4), whole wheat biscuits (2), oat biscuits (1) and wheat biscuits with cocoa (2). Baby biscuits (n=33) were grouped depending on their brand and number of samples for each group were ranged from 4 to 9.

Sample Extraction and Bromination

Before extraction, LOD (limit of detection) and LOQ (limit of quantification) values were estimated as three times and ten times the standard deviation, respectively. For the recovery test, six replicates were conducted with two different concentrations (at a final concentration of 0.3 mg/kg and 1 mg/kg) by spiking a baby biscuit sample with $^{13}C_3$-internal acrylamide standard.

Sample extraction and bromination was carried out according to a procedure reported previously [36, 37]. Ground samples defatted by *n*-hexane (1:1) and 1 g of defatted sample was suspended in 8.2 mL of water (60°C). Suspension was spiked with 200 µL $^{13}C_3$-internal standard (15 mg/L) and stirred on a magnetic heater stirrer. Proteins were removed by using Carrez clearing agents. This mixture was centrifuged and then aqueous

layer was filtered through a 0.45 µm syringe filter. For the derivatization, 300 µL of bromine solution (15.2 g of potassium bromide, 0.8 mL of hydrobromic acid, 5 mL of 1.6% saturated bromine water and 60 ml of distilled water) was added to the clarified solution. The reaction mixture was transferred into an ice bath to allow the reaction in the dark. Approximately an hour later, reaction was completed and excess bromine was decomposed by adding sodium thiosulfate solution. Then 2 mL of ethyl acetate was added, and the tubes were centrifuged at 5000 rpm for 10 minutes. The upper phase was transferred into a GC-MS vial and triethylamine (1:10) was added to convert the acrylamide derivative, 2,3 dibromopropionamide (2,3-DBPA), to a more stable derivative, 2-bromopropionamide (2-BPA), prior to analyses.

GC-MS Conditions

A Thermo Scientific ISQ GC-MS system (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) equipped with a fused capillary column (TR-WAX, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) was used in acrylamide analysis. The oven temperature program was as follows: A 50°C initial temperature was held for a minute, then increased to 180°C at 20°C/min, then to 260°C by a rate of 10°C/min, and held for 10 min at this temperature. The injection block, detector and ion source temperatures were 240, 250 and 230°C, respectively. Carrier gas (helium) flow through the column was 1 mL/min. Injection volume was 2 µL and identification was determined using Selective Ion Monitoring (SIM) mode.

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using the SPSS 17 (Statistical Package for the Social Sciences) software. Statistical significance was considered at $p<0.05$.

RESULTS and DISCUSSION

In our previous works, acrylamide levels of different food products were determined by adapting an extraction, GC-MS and bromination method, and then these values were used to calculate the acrylamide intake and exposure of toddlers [19, 37]. In present study, a total of 90 samples including crackers, biscuits and baby biscuits were analyzed by categorizing the food products into sub-groups. LOD and LOQ values were estimated to be 7.46 µg/kg and 24.88 µg/kg, respectively. The LOQ value was less than the maximum recommended LOQ values of the analytical methods should meet for foods of infants and young children for cereal products as 30 and 50 µg/kg, respectively as reported by European Commission [38, 39]. Recovery was 83% that agrees with those obtained in previous studies [40, 41]. Acrylamide contents of 90 commercial samples ranged from below the LOQ to 2666 µg/kg depending on the type of products. Acrylamide contents of the commercial samples are shown in Table 1. Mean acrylamide levels of the crackers, biscuits and baby biscuits were determined as 604, 495 and 153 µg/kg, respectively. Crackers were divided into 5 categories and the highest acrylamide levels among the sub-groups of the crackers were determined in the crackers with spices reaching to 2666 µg/kg. Mean acrylamide contents in all crackers types were aligned from high to low as crackers with spices (1376 µg/kg) > salty crackers (524 µg/kg) > crackers with sesame (339 µg/kg) > crackers with cheese (76 µg/kg). Biscuits were grouped depending on the type of products. Mean acrylamide contents of biscuits were 337 µg/kg, 633 µg/kg, 755 µg/kg and 923 µg/kg for wheat based biscuits, whole wheat biscuits, bran based biscuits and wheat biscuits with cocoa, respectively. Only a sample was analyzed in the category of oat biscuits and acrylamide level of this product was almost the highest among the biscuits reaching to 1153 µg/kg. Acrylamide levels in baby biscuits were lower than the biscuits and crackers. Acrylamide contents of different brands of baby biscuits were aligned from high to low as brand 1 baby biscuits with banana (302 µg/kg) > brand 3 baby biscuits (265 µg/kg) > Brand 3 baby biscuits with banana (129 µg/kg) > Brand 1 baby biscuits (123 µg/kg) > Brand 2 baby biscuits (67 µg/kg).

There were statistically insignificant differences between mean acrylamide levels of crackers and biscuits ($p>0.05$). On the other hand, it was observed that differences in the acrylamide contents of baby biscuits were statistically significant at the level of 5% when they were compared to the acrylamide levels of biscuits and crackers (Table 1).

Figure 1 shows how many samples in the ranges of <LOQ, LOQ–200, 200–400, 400–600, 600-800, 800-1000 1000-1200 and 1200< µg acrylamide/kg sample to show the different acrylamide levels and variation between the samples. Acrylamide levels were the highest in crackers among the food groups and reached to above 2000 µg/kg in some cracker types. Biscuits followed to crackers and in some types acrylamide levels reached to above 1000 µg/kg.

In other studies on acrylamide levels of food products in Turkey, high levels of acrylamide were reported in crackers and biscuits that were in agreement with our results [12, 13]. Şenyuva and Gökmen [42] reported the acrylamide levels in totally 30 crackers and biscuits samples as 1072 and 389 µg/kg, respectively. In baked cereal based foods, acrylamide is formed as a result of the high temperature baking. Therefore, acrylamide was reported at different levels in biscuits and crackers [14, 43, 44]. In present study, wide variation in the acrylamide contents of different brands and types of food groups were observed as indicated from the high levels of standard deviation values. Similar findings were obtained by other researchers [12, 13, 45]. This variation can be as a result of the different composition and processing conditions in different brands and types of food samples since acrylamide formation is directly related to these factors. Differences in the raw material composition such as free asparagine and reducing sugar content, food product formulations, processing methods and parameters such as pH, water content, high temperature (more than 120°C) and time could be the sources for variation in acrylamide levels as reported

by other researchers [7, 8, 45-57]. Crackers with spices were the sub-group of crackers containing appreciably high levels of acrylamide with mean and the highest values of 1376 and 2666 mg/kg, respectively. Differences in the mean acrylamide levels of the crackers with spices were statistically significant when they were compared to the other types of crackers as it can be seen in Table 1. Since the formulation was not known completely, it is not possible to discuss the effects of ingredients. But it is known that these types of crackers contain some spices, such as pepper, and these spices can positively or negatively affect the acrylamide formation. In the literature, there are some studies evaluating the impact of spices on acrylamide formation. But these studies were focused on the antioxidant effect of the spices to reduce the acrylamide levels in different matrixes such as cakes and potatoes and some of the spices decreased the acrylamide formation while some of them increased or did not have any effect on acrylamide levels [58, 59]. But crackers with spices include different constituents depending on the brand and need to be further assessed from the ingredients point of view to discuss the effects of spices in details.

Table 1. Acrylamide levels in commercial crackers, biscuits and baby biscuits (µg/kg)

Food Product	n[1]	Mean±SD[2]	Range	Subgroup	n[1]	Mean±SD[2]	Range
				Salty crackers	15	524^{b}±457	<LOQ- 1251
				Crackers with cheese	4	76^{b}±153	<LOQ- 307
Crackers	30	604^{a}±694	<LOQ- 2666	Crackers with spices	6	1376^{a}±1035	566-2666
				Crackers with sesame	5	339^{b}±344	<LOQ- 814
				Wheat based biscuits	18	337^{b}±352	<LOQ- 1072
				Bran based biscuits	4	755^{ab}±374	344-1097
				Whole wheat biscuits	2	633^{ab}±143	532-735
Biscuits	27	495^{a}±403	<LOQ- 1177	Oat biscuits	1	1153^{a}±0	1153
				Wheat biscuits with cocoa	2	923^{ab}±359	669-1177
				Brand 1 baby biscuits	9	123^{a}±245	<LOQ- 588
				Brand 1 baby biscuits with banana	4	302^{a}±202	377-433
Baby biscuits	33	153^{b}±201	<LOQ- 588	Brand 2 baby biscuits	9	67^{a}±110	<LOQ- 306
				Brand 3 baby biscuits	5	265^{a}±198	<LOQ- 548
				Brand 3 baby biscuits with banana	6	129^{a}±205	<LOQ- 539
Total	90	406^{b}±508	<LOQ- 2666				

Different letters indicate significant differences among food products and among sub-groups independently (Duncan (0.05), within same column). [1]: number of samples; [2]: standard deviation

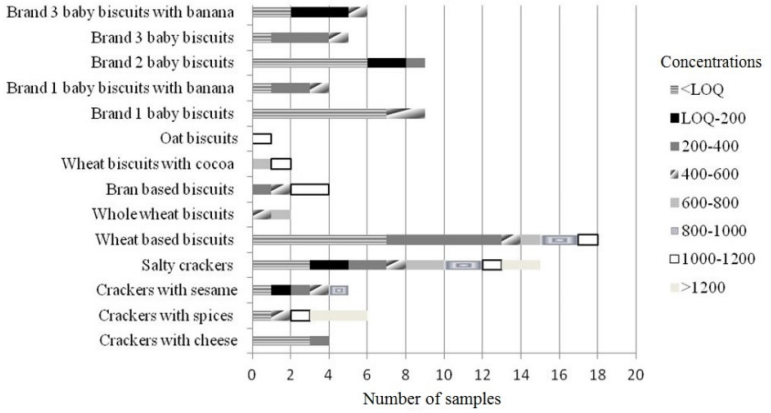


Figure 1. Number of samples in various ranges of acrylamide (µg/kg)

Acrylamide level of biscuits was the lowest in wheat based biscuits in comparison to other biscuits (Table 1). Asparagine is an important precursor for the formation of acrylamide since it is the main amino acid that reacts with reducing sugars to produce acrylamide as it was reported [60]. Acrylamide concentration of bakery products can change depending on the type of flour used in the production [61]. It is known that free asparagine content of the sifted wheat flour is less than the whole grain flours [46]. As a result of that, acrylamide contents of wheat based biscuits were 337 µg/kg that was lower than other biscuits types in the present study. This finding was in consistent with our previous study that reported the lower acrylamide levels of wheat breads compared to the other bread types [36]. In the present study, acrylamide levels of the bran based biscuits were higher than the wheat and whole wheat based biscuits. This result is in consistent with the finding of high free asparagine content in bran when it is compared to other parts of the cereal grain [46]. Taeymans et al. [45] also reported that addition of whole wheat flour and bran to biscuit formulas tended to

increase acrylamide in comparison with plain counterparts. In the present study, the highest acrylamide levels in biscuits were determined in the oat biscuits. It was reported that free asparagine content of the oat flour is high and result of the present study is in consistent with that finding [62]. Cocoa beans contain free asparagine and roasting process increases acrylamide in cocoa [63]. Results of our study showed that wheat biscuits with cocoa also contained important levels of acrylamide reaching to 1177 µg/kg.

This present study analyzed 33 baby biscuits samples including different brands and types commonly consumed by toddlers in Turkey and mean acrylamide levels of baby biscuits were 153 µg/kg, which was in agreement with previous studies [12, 25]. However, there were not any significant differences in the acrylamide levels of baby biscuits belonging to different brands and types. Higher levels of acrylamide in baby biscuits samples were reported by other researchers from different countries reaching to 1217 µg/kg with the mean value of 324 µg/kg [23]. The mean acrylamide content in baby biscuits determined in our study was also lower than those of reported in Poland (219 µg/kg) [29]. The highest amount revealed in baby biscuits in a single sample (588 µg/kg) was lower than that found in Germany (633 µg/kg) [17]. EFSA reported acrylamide amounts of biscuits and rusks for infants as a sub-group in the monitoring study of 2010 in Europe as 86 µg/kg [43].

Results of our study showed that baby biscuits contain lower acrylamide when they are compared to biscuits and crackers. Exact formulation and processing parameters are not known completely, therefore, it is not easy to discuss the differences in acrylamide levels. But if we compare wheat biscuits and crackers with baby biscuits, because baby biscuits that were bought in our study were made of wheat instead of other cereals, wheat biscuits and crackers are thinner as they are observed. In the study of Açar and Gökmen [64], crust-like model was developed, and it was reported that the product thickness significantly influence acrylamide formation rate during baking. Therefore, lower acrylamide values in baby biscuits can be related to its thickness. But there is need for more studies to discuss the acrylamide formation in different food products by developing models.

CONCLUSIONS

This research reports the acrylamide contents of commercial crackers, biscuits and baby biscuits obtained from Turkish market. The mean acrylamide contents of these products ranged from below the LOQ to 2666 µg/kg. The results revealed that acrylamide contents of different brands and types of samples show a wide variation as indicated from the high levels of standard deviation. Composition and processing conditions play an important role in acrylamide formation, as different ingredients have various amounts of free asparagine and reducing sugars available for the reaction for the formation of acrylamide. Therefore, different amounts of acrylamide may be present in a wide range of food products depending on the ingredients and processing parameters. The food product groups that were chosen for the present study are commonly consumed foods by people especially children. Exposure of children is higher than adults as a result of the lower body weight of children and also high consumption rate of crackers and biscuits. As a result of that, mitigation strategies in commercial samples must be a high priority to decrease acrylamide exposure levels.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Scientific Projects Coordination Unit of Akdeniz University (Antalya, Turkey) for financial support (Project 2012.02.0121.001). They are also grateful to Food Security and Agricultural Research Center of Akdeniz University for their helps in acrylamide analysis.

REFERENCES

[1] EPA, 1994. Chemical summary for acrylamide. http://www.epa.gov/chemfact/s_acryla.txt (erişim tarihi: 24 Şubat 2012).

[2] Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P., 2002. Acrylamide in food: mechanisms of formation and infuencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition* 46(4): 159-172.

[3] Friedman, M., 2003. Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4504-4526.

[4] Wenzl, T., De La Calle, M.B., Anklam, E., 2003. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. *Food Additive and Contaminants* 20(10): 885-902.

[5] Tritscher, A.M., 2004. Human health risk assessment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters* 149(1-3): 177-186.

[6] WHO-IARC, 1994. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Some Industrial Chemicals. Lyon, France. p. 389.

[7] Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T., 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature* 419: 448-449.

[8] Stadler, R., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P.A., Robert, M.C., Riediker, S., 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* 419: 449-450.

[9] Zyzak, D.V., Sanders, R.A., Stojanovic, M., Tallmadge, D.H., Eberhart, B.L., Ewald, D.K., Gruber, D.C., Morsch, T.R., Strothers, M.A., Rizzi, G.P., Villagran, M.D., 2003. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4782-4787.

[10] Claus, A., Carle, R., Schieber, A., 2008. Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science* 47(2): 118-133.

[11] EFSA, 2011. Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007- 2009 and exposure assessment. *EFSA Journal* 9(4).

[12] Ölmez, H., Tuncay, F., Özcan, N., Demirel, S., 2008. A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(7): 564-568.

[13] Şenyuva, H.Z., Gökmen, V., 2005. Survey of acrylamide in Turkish foods by an in-house validated LC-MS method. *Food Additives and Contaminants* 22(3): 204-209.

[14] Pacetti, D., Gil, E., Frega, N.G., Alvarez, L., Duenas, P., Garzon, A., Lucci, P., 2015. Acrylamide levels in selected Colombian foods. *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance* 8(2): 99-105.

[15] Rufian-Henares, J.A., Arribas-Lorenzo, G., Morales, F.J., 2007. Acrylamide content of selected Spanish foods: survey of biscuits and bread derivatives. *Food Additives and Contaminants* 24(4): 343-350.

[16] Boon, P.E., Mula, A.D., Voet, H., Donkersgoed, G., Brette, M., Klaveren, J.D., 2005. Calculations of dietary exposure to acrylamide. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 580(1–2): 143-155.

[17] Hilbig, A., Freidank, N., Kersting, M., Wilhelm, M., Wittsiepe, J., 2004. Estimation of the dietary intake of acrylamide by German infants, children and adolescents as calculated from dietary records and available data on acrylamide levels in food groups. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 207(5): 463-471.

[18] Mojska, H., Gielecin, I., Szponar, L., Oltarzewski, M., 2010. Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food and Chemical Toxicology* 48(8-9): 2090-2096.

[19] Cengiz, M.F., Gündüz, C.P.B., 2013. Acrylamide exposure among Turkish toddlers from selected cereal-based baby food samples. *Food and Chemical Toxicology* 60: 514-519.

[20] Boyaci, C.P., 2012. Küçük çocuk beslenmesinde kullanılan bazı ek gıdalardan kaynaklanan akrilamid maruziyetinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, p.102.

[21] Sirot, V., Hommet, F., Tard, A., Leblanc, J.C., 2012. Dietary acrylamide exposure of the French population: results of the second French Total Diet Study. *Food and Chemical Toxicology* 50(3-4): 889-894.

[22] Claeys, W., Baert, K., Mestdagh, F., Vercammen,J., Daenens, P., Meulenaer,B., Maghuin-Rogister, G., Huyghebaert, A., 2010. Assessment of the acrylamide intake of the Belgian population and the effect of mitigation strategies. *Food additives and contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment* 27(9): 1199-1207.

[23] Matthys, C., Bilau, M., Govaert, Y., Moons, E., De Henauw, S., Willems, J.L., 2005. Risk assessment of dietary acrylamide intake in Flemish adolescents. *Food and Chemical Toxicology* 43(2): 271-278.

[24] Dybing, E., Sanner, T., 2003. Risk Assessment of Acrylamide in Foods. *Toxicological Sciences* 75(1): 7-15.

[25] Konings, E.J.M., Baars, A.J., Klaveren, J.D., Spanjer, M.C., Rensen, P.M., Hiemstra, M., Kooije, J.A., Peters, P.W.J., 2003. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. *Food and Chemical Toxicology* 41(11): 1569-1579.

[26] Svensso, K., Abramsson, L., Becker, W., Glynn, A., Hellenas, K.E., Lind, Y., Rosen, J., 2003. Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food and Chemical Toxicology* 41(11): 1581-1586.

[27] Saleh, S.I., El-Okazy, A.M., 2007. Assessment of the mean daily dietary intake of acrylamide in alexandria. *The Journal of the Egyptian Public Health Association* 82(3-4): 331-345.

[28] Arisseto, A.P., Figueiredo-Toledo, M.C., Govaert,Y., Loco, J., Fraselle S., Degroodt, J.M., Rosseto-Caroba, D.C., 2009. Contribution of selected foods to acrylamide intake by a population of Brazilian adolescents. *LWT - Food Science and Technology* 42(1): 207-211.

[29] Mojska, H., Gielecinska, I., Stos, K., 2012. Determination of acrylamide level in commercial baby foods and an assessment of infant dietary exposure. *Food and Chemical Toxicology* 50(8): 2722-2728.

[30] Bortolomeazzi, R., Munari, M., Anese, M., Verardo, G., 2012. Rapid mixed mode solid phase extraction method for the determination of acrylamide in roasted coffee by HPLC-MS/MS. *Food Chemistry* 135(4): 2687-2693.

[31] Karasek, L., Wenzl, T., Anklam, E., 2009. Determination of acrylamide in roasted chestnuts and chestnut-based foods by isotope dilution HPLC-MS/MS. *Food Chemistry* 114(4): 1555-1558.

[32] Kim, C.T., Hwang, E.S., Lee, H.J., 2007. An improved LC-MS/MS method for the quantitation of acrylamide in processed foods. *Food Chemistry* 101(1): 401-409.

[33] Pittet, A., Périsset, A., Oberson, J.M., 2004. Trace level determination of acrylamide in cereal-based foods by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1035(1): 123-130.

[34] Mo, W.M., He, H.l., Xu, X.M., Huang, B.F., Ren, Y.P., 2014. Simultaneous determination of ethyl carbamate, chloropropanols and acrylamide in fermented products, flavoring and related foods by gas chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. *Food Control* 43: 251-257.

[35] Mizukami, Y., Kohata, K., Yamaguchi, Y., Hayashi, N., Sawai, Y., Chuda, Y., Ono, H., Yada, H., Yoshida, M., 2006. Analysis of acrylamide in green tea by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(19): 7370-7377.

[36] Boyaci Gündüz, C.P., Cengiz, M.F., 2015. Acrylamide Contents of Commonly Consumed Bread Types in Turkey. *International Journal of Food Properties* 18(4): 833-841.

[37] Cengiz, M.F., Boyaci Gündüz, C.P., 2014. An eco-friendly, quick and cost-effective method for the quantification of acrylamide in cereal-based baby foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(12): 2534-2540.

[38] EC-European Commission, 2007. Commission recommendations of 3 May 2007 on the monitoring of acrylamide levels in food. *Official Journal of the European Union* 123: 33-39.

[39] EC- European Commission, 2010. Commission recommendations of 2 June 2010 on the monitoring of acrylamide levels in food. *Official Journal of the European Union* 137:4-10.

[40] Hoenicke, K., Gatermann, R., Harder, W., Hartig, L., 2004. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography tandem mass spectrometry and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 520: 207-215.

[41] Bent, G.-A., Maragh, P., Dasgupta, T., 2012. Acrylamide in Caribbean foods: Residual levels and their relation to reducing sugar and asparagine content. *Food Chemistry* 133(2): 451-457.

[42] Mesias, M., Morales, F.J., 2016. Acrylamide in Bakery Products. In Acrylamide in Food, edited by V. Gökmen, Academic Press, 131-157 p.

[43] EFSA, 2012. Scientific Report of EFSA Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010. 10: 2938p.

[44] Pugajeva, I., Zumbure, L., Melngaile, A., Bartkevics, V., 2014. Determination of acrylamide levels in selected foods in Latvia and assessment of the population intake. *Foodbalt* 111-116.

[45] Taeymans, D., Wood, J., Ashby, P., Blank, I., Studer, A., Stadler, R.H., Gonde, P., Van Eijck, P., Lalljie, S., Lingnert, H., Lindblom, M., Matissek, R., Muller, D., Tallmadge, D., O'brien, J., Thompson, S., Silvian, D., Whitmore, T., 2004. A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(5): 323-347.

[46] Fredriksson, H., Tallving, J., Rosén, J., Åman, P., 2004. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry* 81(5): 650-653.

[47] Friedman, M., Levin, C.E., 2008. Review of methods for the reduction of dietary content and toxicity of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 6113-6140.

[48] Granda, E.C., 2005. Kinetics of Acrylamide Formation in Potato Chips, Texas A&M University. p. 171.

[49] Fink, M., Andersson, R., Rosen, J., Aman, P., 2006. Effect of added asparagine and glycine on acrylamide content in yeast-leavened bread. *Cereal Chemistry Journal* 83(2): 218-222.

[50] Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornqvist, M., 2002. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(17): 4998-5006.

[51] Stadler, R.H., Robert, F., Riediker, S., Varga, N., Davidek, T., Devaud, S., Goldmann, T., Hau, J., Blank, I., 2004. In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(17): 5550-5558.

[52] Krishnakumar, T., Visvanathan, R., 2014. Acrylamide in food products: A review. *Journal of Food Processing & Technology* 5(7): 344.

[53] Taubert, D., Harlfinger, S., Henkes, L., 2004. Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(9): 2735-2739.

[54] Amrein, T.M., Andres, L., Escher, F., Amado, R., 2007. Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options. *Food Additives and Contaminants* 24 Suppl 1: 13-25.

[55] Arwa, M., Andersson, R., Kamal-Eldin, A., Aman, P., 2011. Fortification with free amino acids affects acrylamide content in yeast leavened bread. In Flour and breads and their fortification in health and disease prevention, edited by Preedy, V.R., Watson, R.R., Patel, V.B., Elsevier: USA, 325-337p.

[56] Surdyk, N., Rosen, J., Andersson, R., Aman, P., 2004. Effects of asparagine, fructose, and baking conditions on acrylamide content in yeast-leavened wheat bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(7): 2047-2051.

[57] Schieberle, P., Kohler, P., Granvogl, M., 2005. New Aspects on the Formation and Analysis of Acrylamide, in Chemistry and Safety of Acrylamide. In Food Advances in Experimental Medicine and Biology, edited by Friedman, M., Mottram, D., Springer: USA. 205-222 p.

[58] Fernandez, S., Kurppa, L., Hyvonen, L., 2003. Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomere□) in frying. *Innov Food Technol* 18: 24.

[59] Marková, L., Ciesarová, Z., Kukurová, K., Zieli´nski, H., Przygodzka, M., Bednáriková, A., Šimko, P., 2012. Influence of various spices on acrylamide content in buckwheat ginger cakes. *Chemical Papers* 66(10): 949-954.

[60] Wang, X., Xu, L., 2014. Influence Factors on the Formation of Acrylamide in the Amino Acid/Sugar Chemical Model System. *Journal of Food and Nutrition Research* 2(7): 344-348.

[61] Anese, M., Quarta, B., Foschia, M., Bortolomeazzi, R., 2009. Effect of low-temperature long-time pre-treatment of wheat on acrylamide concentration in short dough biscuits. *Molecular Nutrition & Food Research* 53(12): 1526-1531.

[62] Ciesarová, Z., Kukurová, K., Mikušová, L., Basil, E., Polakovičová, P., Duchoňová, L., Vlček, M., Šturdík, E., 2014. Nutritionally enhanced wheat-oat bread with reduced acrylamide level. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 6(3): 327-334.

[63] Granvogl, M., Schieberle, P., 2007. Quantification of 3-aminopropionamide in cocoa, coffee and cereal products. *European Food Research and Technology* 225(5): 857-863.

[64] Açar, Ö.Ç., Gökmen, V., 2009. Investigation of acrylamide formation on bakery products using a crust-like model. *Molecular Nutrition and Food Research* 53(12): 1521-1525.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 8-16, DOI: 10.24323/akademik-gida.305767

Araştırma Makalesi / Research Paper

Aspergillus sojae Tarafından Üretilen Poligalakturonazın Kısmi Saflaştırılması için Kromatografik Bir Yaklaşım

Ilknur Sen[2], Marco A. Mata-Gomez[1], Marco Rito-Palomares[1], Canan Tari[2], Melike Dinç[3]

[1]Centro de Biotecnología-FEMSA, Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos, Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey, Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México
[2]Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Izmir Institute of Technology, Urla 35430, İzmir, Turkey
[3]Department of Chemistry, Faculty of Science, Izmir Institute of Technology, Urla 35430, İzmir, Turkey

Geliş Tarihi (Received): 28.11.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 04.02.2017
Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ilknursen@iyte.edu.tr (İ. Şen)
+90 232 750 62 90 +90 232 750 61 96

ÖZ

Bu çalışmanın amacı, *A. sojae* mutantından poligalakturonaz üretilmesi ve ham ekstraktın kromatografik yöntemlerle kısmi saflaştırılmasıdır. Peptitlerin konfirmasyonu için ilk basamak olarak, jel içinde sindirilmiş sodyum-dodesil-sülfat-poliakrilamid-jel-elektroforezi (SDS-PAGE) jellerinde matriks-yardımlı lazer desorpsiyon/iyonlaştırmalı-uçuş zamanlı-kütle spektrometresi (Maldi-TOF MS) analizi yapılmıştır. Poligalakturonaz üretimi için, katı-faz ve derin fermentasyonlarda üç farklı karbon kaynağı kullanılmıştır. Ham ekstrakt ilk olarak iyon değişim kromatografisi (IEXC) ile saflaştırılmıştır ve ardından bunu boyut eleme kromatografisi izlemiştir. Derin [acı portakal kabuğu, şeker pancarı melası ve $(NH_4)_2SO_4$] ve katı-faz (buğday kepeği, şeker pancarı ve HCl) fermentasyonlarından elde edilen ham ekstraktlar yüksek seviyede poligalakturonaz enzim aktivitesi (sırasıyla 95.22 and 50.27 U/mL) göstermiştir. IEXC toplanmış fraksiyonunun (180, 200 ve 220 mM tuz fraksiyonları) boyut elemesi, en yüksek verimi (%36) ve saflaştırma katını (2.00) göstermiştir. SDS-PAGE'den elde edilen olası poligalakturonaz bantları jel içinde sindirilmiş ve peptit konfirmasyonu için Maldi-TOF-MS ile analiz edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus sojae*, Poligalakturonaz, Maldi-TOF MS, Boyut eleme kromatografisi, İyon değişim kromatografisi

A Chromatographic Approach for Partial Purification of Polygalacturonase Produced by *Aspergillus sojae*

ABSTRACT

The aim of this study was to produce polygalacturonase from *A. sojae* mutant and partially purify the crude extract by chromatographic methods. As a preliminary step for the confirmation of its peptides, matrix-assisted laser-desorption-ionization-time-of-flight mass spectrometry (Maldi-TOF MS) analysis was performed on in-gel digested sodium-dodecyl-sulphate-polyacrylamide-gel-electrophoresis (SDS-PAGE) gels. Three different carbon sources were employed in submerged and solid-state fermentations for the production of polygalacturonase. Crude extract was first purified by ion-exchange chromatography (IEXC) and followed further by size exclusion chromatography. Crude extracts obtained from sub-merged [of bitter orange peel, sugar beet molasses and $(NH_4)_2SO_4$] and solid-state [of wheat bran, sugar beet and HCl] fermentation exhibited high levels of polygalacturonase enzyme activity (95.22 and 50.27 U/mL, respectively). Size exclusion of IEXC pooled fraction (180, 200 and 220 mM salt fractions) revealed the highest yield (36%) and purification fold (2.00). The likely polygalacturonase bands from SDS-PAGE were in-gel digested and analyzed by Maldi-TOF MS in route for peptides confirmation.

Keywords: *Aspergillus sojae*, Polygalacturonase, Maldi-TOF MS, Size exclusion chromatography, Ion exchange chromatography

INTRODUCTION

Pectin and other pectic substances are complex polysaccharides that are responsible for the firmness of plant tissues [1]. Pectinases are a complex and diverse group of enzymes that degrade pectic substances. They have wide application area in food industry such as clarification and reduction of bitterness of fruit juices, clarification of wine, coffee and tea fermentations, extraction of vegetable oils, curing of coffee and cocoa, refinement of vegetable fibers and manufacture of pectin-free starch [2, 3].

The two groups of pectinases include de-esterification and depolymerizing enzymes depending on the mode of action. Depolymerizing pectinases include hydrolases and lyases which cleave the chain either randomly (endo-) or act on the terminal end (exo-). Among the hydrolases, polygalacturonase (EC 3.2.1.15), also known as pectin depolymerase, (PG) hydrolyses pectic acid into oligo- and monogalacturonates using random (endo-PG) and terminal (exo-PG) modes of action, respectively [3]. The various biological source of commercial PG can be listed as: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Erwinia*, *Bacillus*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, and *Fusarium*. Among them, *Aspergillus niger* is the main producer due to its GRAS (generally regarded as safe) status [4].

The production of PG have been studied before from various agricultural residues such as wheat and soy bran [5, 6], lemon peel [7], sugar beet [8], corn [9], orange peel and pulps [6, 10]. The two common fermentation techniques to produce commercial pectinase preparations are solid-state fermentation (SSF) and submerged fermentation (SmF) [11]. Production of PG from *A. sojae* using different fermentation media and types has been recently studied elsewhere [12-15]. On the other hand, purification of PG is also important in terms of understanding its properties, structure and functional mechanism as well as eliminating interfering compounds such as melanin like color compounds from the crude extract prior to commercial application. The cost effective purification process requires selection of minimum number of separation steps with high specific activity and purity [16, 17]. The combination of different column chromatographic techniques such as gel filtration, ion exchange or affinity chromatography have been reported for the purification of PG from various fungal and bacterial sources [18-22].

It is also necessary for the purified PG to be confirmed for its purity and identified for its protein and peptide sequences. Gel electrophoresis is a common approach to separate the protein mixtures and estimate the molecular masses of proteins. The coupling of either one or two dimensional sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) with mass spectrometry becomes a powerful method for the identification of peptides using database search algorithms [23]. Matrix-assisted laser-desorption-ionization-time-of-flight mass spectrometry (Maldi-TOF MS) has been a rapid, sensitive, accurate and widely used instrument for mass fingerprinting of peptides derived from in-gel digested SDS-PAGE gels [24, 25].

To the best of our knowledge, purification of PG produced from *A. sojae* mutant and identification of its peptides using Maldi-TOF MS have not been reported in the literature. Therefore, the aim of this study was to produce PG from *A. sojae* mutant using different culture media and fermentation techniques and partially purify the crude extract by a combination of ion exchange (IEXC) and size exclusion chromatographic (SEC) methods followed by the Maldi-TOF MS analysis for the in-gel digested SDS-PAGE gels as a preliminary step for confirmation of its peptides. This information in fact can be used as a source for future enzyme engineering. Besides, the purification methods used in this study can be considered as a mean of downstream processing of this particular enzyme.

MATERIALS and METHODS

Reagents and Materials

Bitter orange peel and wheat bran were purchased from a local market in Monterrey, Mexico. Sugar beet molasses was purchased from a local market in Bremen, Germany (Goldsaft, Grafschafter Krautfabrik, Mackenheim, Germany). Polygalacturonic acid (Mr = 25000-50000, No. 81325), D-(+)-galacturonic acid monohydrate (No. 48280-F), were purchased from Sigma-Aldrich GmbH (Schnelldorf, Germany). Endo-polygalacturonidase (E-PGALUSP) enzyme was purchased from Megazyme International Inc. (Wicklow, Ireland). All other chemicals of analytical grade [phosphate buffered saline, sodium acetate, $(NH_4)_2SO_4$, HCl, sodium phosphate, ethanol, acetone, glucose, glycerol, Tween 80, $MnSO_4.H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, peptone, NaCl, KCl, $MgSO_4$, $FeSO_47H_2OKH_2PO_4$, agar powder and malt extract] were from Sigma-Aldrich GmbH (Schnelldorf, Germany), Fluka (Steinheim, Germany) and Applichem (Darmstadt, Germany). Trypsin (T6567, proteomics grade) from porcine pancreas and alpha cyano-4-hydroxycinnamic acid were purchased from Sigma (Schnelldorf, Germany). Iodoacetamide and dithiothreitol (DTT) were purchased from Acros organics (Geel, Belgium) and Applichem (Darmstadt, Germany), respectively.

Instrumentation

A microplate spectrophotometer (Epoch, BioTek Instruments, Inc., USA) was employed in the protein and enzyme activity analyses. On the other hand, for size exclusion chromatography analyses Äkta Explorer 100 (GE Healthcare, United Kingdom) equipment with Superos 10/300 GL chromatographic column was employed. The buffers were PBS and sodium phosphate (10 mM, pH 7.2) with 150 mM of KCl at a flow rate of 0.5 mL/min. Mass spectrometry experiments were performed with an Autoflex III Smartbeam MALDI TOF/TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) which used internal MASCOT software (Matrix Science, London, UK). The instrument was operated in positive ion reflectron mode, where the ions were generated

using 337-nm nitrogen laser. For each spectrum, ~3000 laser shots were averaged for best representation of data at a laser frequency of 100 Hz. Spectra acquisition was performed using Flexcontrol 3.0 and FlexAnalysis 3.0 software. A mixture of α-cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA) in ethanol-acetone (20:80, v/v) was used as the matrix at a concentration of 5 mg/mL. The peptide and fragment ion mass tolerances, which indicate the fit of theoretical mass with the experimental measurement were 200 mg/kg and 0.6 Da, respectively. The charge state was 1+ and mass range of the analytes was set to 700-3500 Da. Uniprot and Swissprot protein sequence databases were employed in the peptide search under all taxonomy. Other database search parameter was carbamidomethylation (C) as fixed global modification.

Propagation and Fermentation

A. sojae ATCC 20235 mutant M3 strain was used in this study [26]. This strain was propagated according to the procedure defined by Mata-Gomez et al. [14]. The spore suspension was employed as inoculum in fermentation processes using three carbon sources: (I) Submerged fermentation using bitter orange peel (10 g/L), sugar beet molasses (60 g/L), and $(NH_4)_2SO_4$ (8 g/L) [27], (II) solid-state fermentation using bitter orange peel (2%), wheat bran (8%) and 7 mL of 50 mM HCl [12], (III) solid-state fermentation using wheat bran (7 g), sugar beet (3 g) and 16 mL of 0.2 N HCl [14]. The fermentation media were inoculated with spore suspensions of 4×10^5 spore/mL, 10^4 spore/mL and 2×10^7 spore/mL and enzymes were recovered following incubation at 30°C/5 days, 22°C/4 days and 30°C/7 days, respectively. All crude extracts were dialysed and concentrated using amicon centrifugal filter tubes with a 3 kDa cut-off size membrane (Merck Millipore Ltd., Ireland) using sodium acetate buffer (pH 5.5). Protein contents and enzyme activities were determined according to the micro-scale protocols of Bradford [28] and Panda et al. [29], respectively. Here the PG activity was based on the enzyme reaction with the polygalacturonic acid as substrate and galacturonic acid as standard. According to this procedure, 243 µL aliquots (200 µL substrate plus 43 µL enzyme sample) of the reaction mixture were incubated for 10 minutes at 40°C and treated afterwards with copper reagent (250 µL) and arsenomolybdate reagent (500 µL), transferred into a microplate, and absorbances were measured at 620 nm. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that catalyzes the release of 1 µmol of galacturonic acid (product) per mL of sample (enzyme) per minute under the assayed conditions. All dilutions were performed with sodium acetate buffer (pH 5.5).

Purification of Polygalacturonase and SDS-PAGE Electrophoresis

The first step of purification included ion exchange chromatography (IEXC) where desalted protein was loaded on a weak basic anion exchanger column (Vivapure diethylamine-D, Sartorius GmBH, Goettingen, Germany) equilibrated with sodium acetate buffer (100 mM, pH 5.5). The elution was performed with 5 mL of NaCl solution in sodium acetate buffer (100 mM, pH 5.5) with a stepwise gradient from 25 to 220 mM (25-50-75-100-120-140-160-180-200-220 mM). Each fraction was analyzed for its protein content and enzyme activity. The purification steps were confirmed using SDS-PAGE electrophoresis procedure developed by Laemmli [30]. Depending on the SDS-PAGE results, the PG active IEXC fractions that exhibit similar protein bands were pooled (as mentioned in Results & Discussion section) and 100 µL of each sample was injected into size exclusion chromatography equipment. Similar to IEXC, each SEC fraction was analyzed for its protein content, enzyme activity and confirmed using SDS-PAGE. All the analysis including fermentation and partial purification of the enzyme were performed at the Centro de Biotecnología-FEMSA, Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos, Tecnológico de Monterrey, México.

In-gel Digestion and Maldi-TOF/TOF MS Analysis

In-gel digestion of SDS-PAGE bands, which were cut and divided into smaller pieces of approximately 1 mm, were performed according to the procedure of KinterSherman [31]. Mass spectrometry experiments were performed at Izmir Institute of Technology at the Center for Mass Spectrometry and Proteomics Studies, Izmir, Turkey.

RESULTS and DISCUSSION

The protein contents and enzyme activities of fermentations with different carbon sources are presented in Table 1. According to the results, crude extract from third procedure (SSF with wheat bran and sugar beet as carbon source) produced highest protein amount (0.50 mg/mL) with PG activity of 50.27 U/mL. This was followed by SmF producing 0.25 mg/mL protein and 95.22 U/mL PG activity. It has been reported that SSF systems supported with different carbon sources such as glucose, sucrose or galacturonic acid produce comparatively higher PG than SmF systems [32]. Since the crude extract from SmF was difficult to handle for further processing due to mainly viscous nature of the broth it was not considered for further study.

A recent research by Demir and Tari [33] has characterized the stability of this enzyme (produced by SSF) under different conditions. The study revealed that PG from a mutant *A. sojae* ATCC 20235 strain produced by SSF was an acidic pectinase displaying its optimum activity on polygalacturonic acid in the pH range of 4.0-5.0 and at a temperature of 40°C. Moreover, it showed stability in the pH range of 3.0-7.0 by retaining at least 65% of its activity and thermostability was found to be between 40-50°C. These results were compatible with the studies of PG from *A. niger* produced by SSF [34-36]. The study concluded that further purification studies of PG from a mutant *A. sojae* ATCC 20235 strain produced by SSF were important as its biochemical properties were found to be as satisfactory as the commercial pectinases. The enzyme has a high

potential to be considered in the clarification of fruit juices and wine.

Table 1. Protein content and enzyme activity results of fermentations with different media

	Protein Content (mg/mL)	Enzyme Activity (U/mL)
Procedure 1: Bitter orange peel (10 g/L), sugar beet molasses (60 g/L) and $(NH_4)_2SO_4$ (8 g/L)	0.25	95.22
Procedure 2: Bitter orange peel (2%) and wheat bran (8%) and 7 mL 50 mM HCl	0.12	7.16
Procedure 3: Wheat bran (7 g) and sugar beet (3 g) and 16 mL 0.2 N HCl	0.50	50.27

In this study, polygalacturonase produced in solid-state fermentation (3rd procedure) was purified by combination of two different separation techniques such as ion exchange and size exclusion chromatographic methods. Studies on the combination of these chromatographic techniques for PG purification have been reported elsewhere [20, 37]. To be easily adsorbed by the Vivapure diethylamine-D column, the dialyzed and previously concentrated crude extract was diluted 3-fold in sodium acetate buffer (pH 5.5) to 0.85 mg/mL protein content and 130.02 U/mL PG activity.

The protein contents, PG activities and specific activities of ten different salt concentrations that were employed in the IEXC purification are shown in Figure 1 and SDS-PAGE results are presented in Figure 2.

The IEXC step purified the crude extract to a yield (recovery) of 59% which was the ratio of total enzyme amount of all IEXC salt fractions to that of crude extract (Table 2).

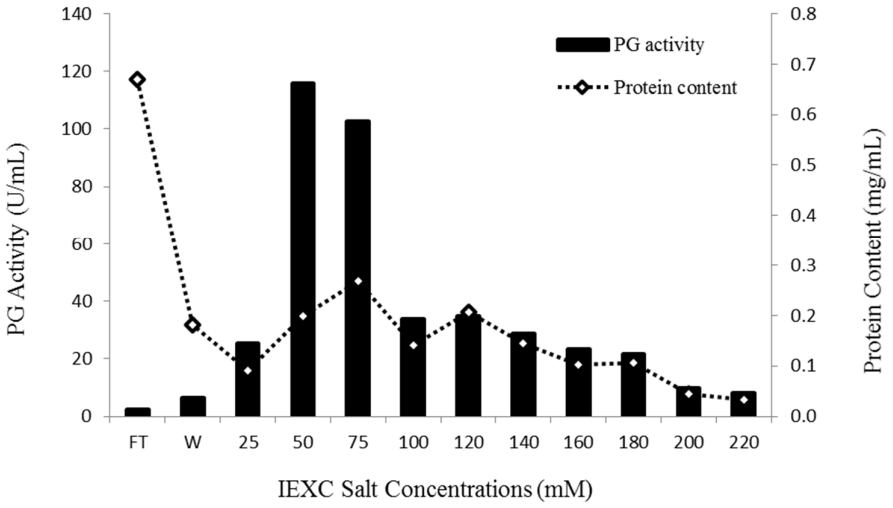


Figure 1. Protein contents, PG activities and specific activities of ten different salt concentrations employed in the IEXC purification

The purification fold and specific activity were found as 2.0 and 300 U/mg, respectively. However according to the fractional results, 50 mM IEXC fraction revealed the highest specific activity (579 U/mg) and purification fold (3.8) among all other fractions. The SDS-PAGE results confirmed PG bands (encircled in Figure 2 for 120 mM IEXC fraction) for IEXC fractions between 120-220 mM at a molecular weight of 37 kDa. Molecular weight of different polygalacturonases were reported to vary from 35 to 79 kDa [3]. According to the SDS-PAGE results, 50-75-100 mM, 120-140-160 mM and 180-200-220 mM fractions were pooled and concentrated using Amicon ultra centrifugal tubes and further purified with SEC. The SEC chromatogram revealed four peaks coded as “a”, “b”, “c” and “d” (Figure 3).

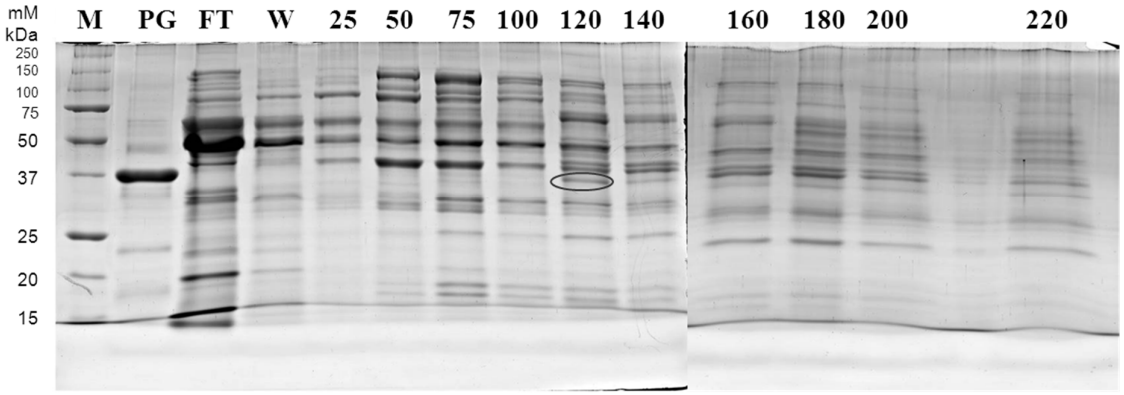


Figure 2. SDS-PAGE results of IEXC fractions: Lane 1: (M) molecular weight marker, Lane 2: (PG) commercial polygalacturonase marker, Lane 3: (FT) flow through, Lane 4: (W) wash, Lane 5: 25 mM IEXC fraction, Lane 6: 50 mM IEXC fraction, Lane 7: 75 mM IEXC fraction, Lane 8: 100 mM IEXC fraction, Lane 9: 120 mM IEXC fraction, Lane 10: 140 mM IEXC fraction, Lane 11: 160 mM IEXC fraction, Lane 12: 180 mM IEXC fraction, Lane 13: 200 mM IEXC fraction, Lane 14: 220 mM IEXC fraction. (PG band was encircled for 120 mM IEXC fraction)

Table 2. Results of IEXC and SEC Procedures

Step	Total Protein (mg)	Total Enzyme (U)	Specific Activity (U/mg)	Yield (%)	Purification Fold
Crude Extract	8.47	1300.22	154		
IEXC	2.52	756.14	300	59	2.00
SEC Fractions (mM)					
50-75-100	0.22	40.18	184	9	1.20
120-140-160	0.43	28.22	65	17	0.43
180-200-220	0.11	33.03	307	36	2.00

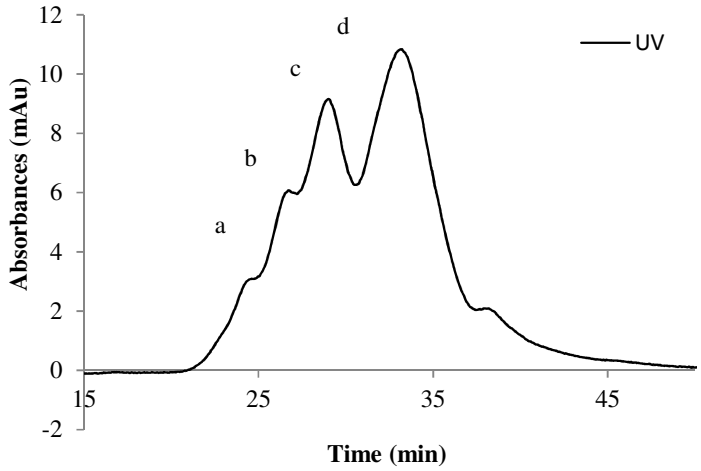


Figure 3. SEC chromatogram of IEXC pooled fractions (mAu: milli Absorbance unit)

Among these four peaks, peak coded as “c” revealed PG activity for all IEXC pooled fractions according to the PG activity analyses. SDS-PAGE results confirmed PG band only for the 2nd (120-140-160 mM) and 3rd (180-200-220 mM) IEXC pooled fractions (Figure 4).

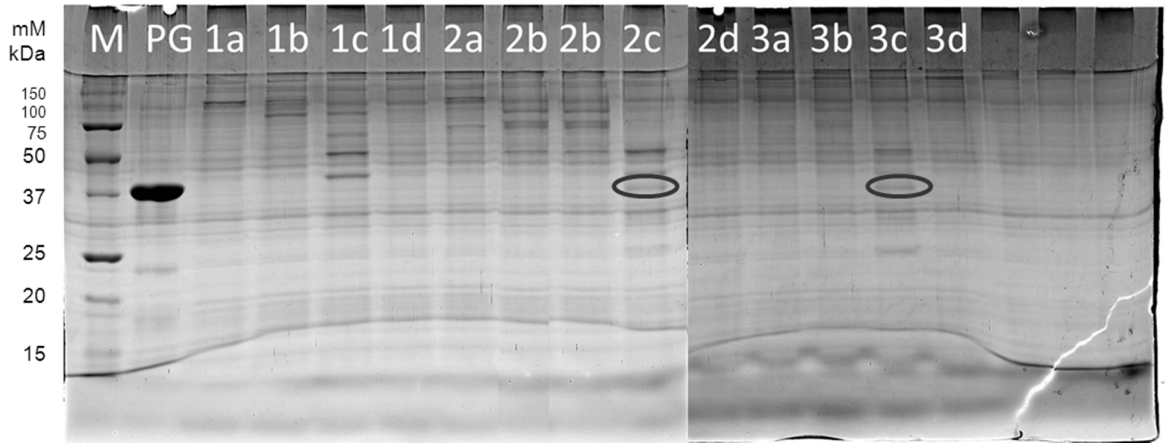


Figure 4. SDS-PAGE results of SEC fractions: Lane 1: (M) molecular weight marker, Lane 2: (PG) commercial polygalacturonase marker, Lane 3: (1a) SEC fraction "a" of 50-75-100 mM IEXC pooled fraction, Lane 4: (1b) SEC fraction "b" of 50-75-100 mM IEXC pooled fraction, Lane 5: (1c) SEC fraction "c" of 50-75-100 mM IEXC pooled fraction, Lane 6: (1d) SEC fraction "d" of 50-75-100 mM IEXC pooled fraction, Lane 7: (2a) SEC fraction "a" of 120-140-160 mM IEXC pooled fraction, Lane 8: (2b) SEC fraction "b" of 120-140-160 mM IEXC pooled fraction, Lane 10: (2c) SEC fraction "c" of 120-140-160 mM IEXC pooled fraction, Lane 11: (2d) SEC fraction "d" of 120-140-160 mM IEXC pooled fraction, Lane 12: (3a) SEC fraction "a" of 180-200-220 mM IEXC pooled fraction, Lane 13: (3b) SEC fraction "b" of 180-200-220 mM IEXC pooled fraction, Lane 14: (3c) SEC fraction "c" of 180-200-220 mM IEXC pooled fraction, Lane 15: (3d) SEC fraction "d" of 180-200-220 mM IEXC pooled fraction. (PG bands were encircled for 2c and 3c SEC fractions with PG activity).

The specific activities of each IEXC pooled fraction after SEC purification were calculated as 184 U/mg, 65 U/mg and 307 U/mg for the 1st (50-75-100 mM), 2nd (120-140-160 mM) and 3rd (180-200-220 mM) fraction, respectively (Table 2). In addition to its high specific activity, SEC purification of 3rd IEXC pooled fraction revealed the highest partial yield (36%) and purification fold (2.00). According to a study by Dogan and Tari [38], PG from *A. sojae* ATCC 20235 strain was purified with a recovery of 25.5% and 6.7 fold purification by three-phase partitioning in which the enzyme solution was mixed with ammonium sulphate and tert-butanol. In another study by Nagai et al. [37] the two step purification including cation exchange and size exclusion chromatography for *Aspergillus awamori* resulted in only 3.04% recovery with a higher purification fold (345) and specific activity (487 U/mg) than the findings in this study. On the other hand, using the same purification methods, Jacob et al. [21] have reported better purification parameters (57.1% recovery, 54.9 fold purification and 504.8 U/mg specific activity) for *Streptomyces lydicus*. The two step gel filtration purification produced 27.06% yield with 12.34 fold purification and 61.35 U/mg specific activity for *Rhizomucor pusillus* [39]. Ethanol precipitation combined with gel filtration produced 5.01% yield with 6.52 fold purification and 54.3 U/mg specific activity for *Aspergillus niger* [40]. In comparison to the multi-step purification of Contreras EsquivelVoget [18] (vacuum concentration-acetone precipitation-Sepharose Q column-Sephacryl S-100 column), PG from *Aspergillus kawachii* was purified with better yield (50%) and purification fold (470) than the results in this study. Purification by treating the crude extract with activated charcoal powder resulted in better yield (69.8%) and purification fold (34.8) but lower specific activity (128 U/mg) for *Aspergillus awamori* [16]. There is a variation in the purification folds, yields and specific activities in literature depending on the type of strain and purification methods used.

Due to its high specific activity, yield and purification fold, SDS-PAGE band corresponding to the SEC peak "c" of the 3rd IEXC pooled fraction (180-200-220 mM) (marked in circle in Figure 4) was cut and in-gel digested together with a commercial PG marker band. The Maldi-TOF MS data were evaluated using Mascot software (Matrix Science, London, UK). The commercial PG band spectra shown in Figure 5A revealed dominant peaks such as 1162.463 m/z, 1985.867 m/z and 2137.058 m/z. These signals were statistically matched to endo-PG from *Aspergillus aculeatus* with a score of 131 in the SwissProt database of Mascot search and the calculated mass was 38.961 Da. The matched peptides in the aminoacid sequence given in Table 3 are shown in bold. On the other hand, the spectra of the sample indicated no sequence homology to endopolygalacturonase (Figure 5B).

This misdetection of peptides might be due to the insufficient concentration of proteins in the sample. Moreover, combination of Maldi-TOF MS technique with the high resolving power of 2D-electrophoresis that allows the separation of proteins according to both molecular weight and isoelectric point could provide more powerful means of identifying and separating complex protein mixtures [41]. Although this was the first attempt to identify PG peptide sequence from *A. sojae* using Maldi-TOF MS, in literature, several researchers were able to identify the masses or peptide sequences of their extracts from different bacterial and fungal sources. For instance, Yuan et al. [42] have reported the

verification of gel filtration purified recombinant endo-PG I from *Pichia pastoris* through the trypsin digestion of SDS-PAGE bands and using liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS), were able to find four peptides corresponding to the aminoacid sequence of endo-PG I. Similarly, an extracellular PG from *Rhizopus oryzae* was purified and its molecular mass and peptide sequence was identified with the aid of ESI-QTOF MS (Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry) [43]. Moreover, Rodrigo et al. [44] have determined the masses of peptides in purified PG fractions extracted from different tomato varieties using Maldi-TOF MS.

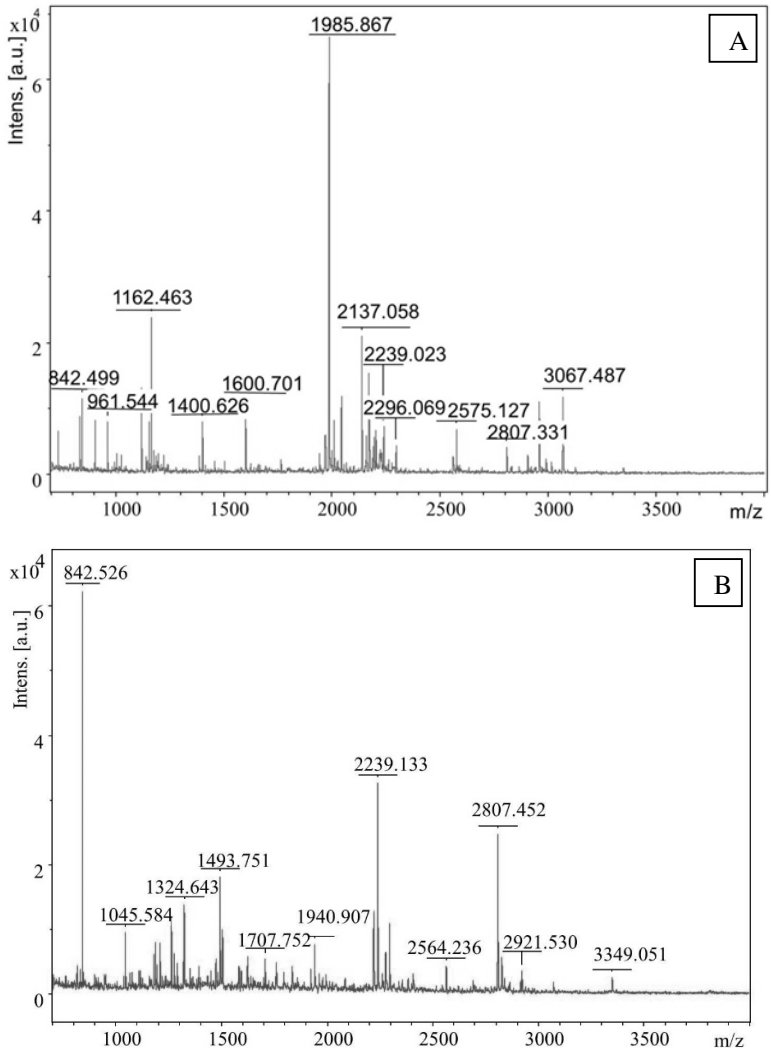


Figure 5. MALDI Mass spectra of (A) SDS-PAGE band of commercial polygalacturonase and (B) SDS-PAGE band of SEC fraction “c” of 160-180-200 mM IEXC pooled fraction (3c)

Table 3. Amino acid sequence of Endopolygalacturonase from *Aspergillus aculeatus*.

1	MHLNTTLLVS	LALGAASVLA	SPAPPAITAP	PTAEEIAKRA	TTCTFSGSNG
51	ASSASKSKTS	CSTIVLSNVA	VPSGTTLDLT	KLNDGTHVIF	SGETTFGYKE
101	WSGPLISVSG	SDLTITGASG	HSINGDGSRW	WDGEGGNGGK	TKPKFFAAHS
151	LTNSVISGLK	IVNSPVQVFS	VAGSDYLTLK	DITIDNSDGD	DNGGHNTDAF
201	DIGTSTYVTI	SGATVYNQDD	CVAVNSGENI	YFSGGYCSGG	HGLSIGSVGG
251	RSDNTVKNVT	FVDSTIINSD	NGVRIKTNID	TTGSVSDVTY	KDITLTSIAK
301	YGIVVQQNYG	DTSSTPTTGV	PITDFVLDNV	HGSVVSSGTN	ILISCGSGSC
351	SDWTWTDVSV	SGGKTSSKCT	NVPSGASC		

CONCLUSION

It can be concluded that polygalacturonase from *A. sojae* mutant can be produced by both solid-state and sub-merged fermentations using different fermentation media. The particular crude extract from solid-state fermentation was also partially purified by two-step chromatography approach using ion exchange (IEXC) and size exclusion chromatographic (SEC) methods. An attempt to peptides confirmation was performed using SDS-PAGE electrophoresis and Maldi-TOF MS. The findings reported here can be used to establish the initial trials on the identification of the purified *A. sojae* polygalacturonase. To the best of our knowledge, purification of PG produced from *A. sojae* mutant and identification of its peptides using Maldi-TOF MS have not been reported in the literature.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was financially supported by the European Union FP7-Marie Curie Action with the Grand Agreement PIRSES-GA 2010-269211. We gratefully thank to the staff in Tecnológico de Monterrey and Izmir Institute of Technology Center for Spectrophotmetric Studies for their help and technical assistance and to Professor Marcello Fernandez Lahore and his research group from Jacobs University, Bremen Germany for the kind supply of the mutant strain.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest among the authors.

REFERENCES

[1] Gummadi, S.N., Kumar, D.S., 2005. Microbial pectic transeliminases. *Biotechnology Letters* 27(7): 451-458.

[2] Hoondal, G.S., Tiwari, R.P., Tewari, R., Dahiya, N., Beg, Q.K., 2002. Microbial alkaline pectinases and their ındustrial applications: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59(4-5): 409-18.

[3] Jayani, R.S., Saxena, S., Gupta, R., 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry* 40(9): 2931-2944.

[4] Naidu, G.S.N., Panda, T., 1998. Production of Peectolytic Enzymes-a Review. *Bioprocess Engineering* 19(5): 355-361.

[5] Castilho, L.R., Medronho, R.A., Alves, T.L.M., 2000. Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 71: 45-50.

[6] Silva, D., Martins, E.S., Da Silva, R., Gomes, E., 2002. Pectinase prodcution by *Penicillium viridicatum* Rfc3 by Solid State Fermentation Using Agricultural Wastes and Agro-Industrial by-Products. *Brazilian Journal of Microbiology* 33: 318-324.

[7] Patil, S.R., Dayanand, A., 2006. Optimization of process for the production of fungal pectinases from deseeded sunflower head in submerged and solid-State Conditions. *Bioresource Technology* 97(18): 2340-2344.

[8] Anuradha, K., Padma, P.N., Venkateshwar, S., Reddy, G., 2010. Fungal ısolates from natural pectic substrates for polygalacturonase and multienzyme production. *Indian Journal of Microbiology* 50(3): 339-344.

[9] Palaniyappan, M., Vijayagopal, V., Viswanathan, R., Viruthagiri, T., 2009. Screening of natural substrates and optimization of operating variables on the production of pectinase by submerged fermentation using *Aspergillus niger* Mtcc 281. *African Journal of Biotechnology* 8(4): 682-686.

[10] El-Sheekh, M.M., Ismail, A.M.S., El-Abd, M.A., Hegazy, E.M., El-Diwany, A.I., 2009. Effective technological pectinases by *Aspergillus carneus* Nrc1 utilizing the egyptian orange juice ındustry scraps. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63(1): 12-18.

[11] Blandino, T.I.S.P.A., 2002. Polygalacturonase Production by *Aspergillus awamori* on wheat in solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58(2): 164-169.

[12] Demir, H., Göğüş, N., Tarı, C., Heerd, D., Lahore, M.F., 2012. Optimization of the process parameters for the utilization of orange peel to produce polygalacturonase by solid-state fermentation from an *Aspergillus sojae* mutant strain. *Turkish Journal of Biology* 36: 394-404.

[13] Gögus, N., Tari, C., Oncü, S., Unluturk, S., Tokatli, F., 2006. Relationship between morphology, rheology and polygalacturonase production by *Aspergillus sojae* Atcc 20235 in submerged cultures. *Biochemical Engineering Journal* 32(3): 171-178.

[14] Mata-Gomez, M.A., Heerd, D., Oyanguren-Garcia, I., Barbero, F., Rito-Palomares, M*., et al*., 2015. A novel pectin-degrading enzyme complex from *Aspergillus sojae* ATCC 20235 mutants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95(7): 1554-61.

[15] Ustok, F.I., Tari, C., Gogus, N., 2007. Solid-state production of polygalacturonase by *Aspergillus sojae* ATCC 20235. *Journal of Biotechnology* 127(2): 322-34.

[16] Dey, T.B., Adak, S., Bhattacharya, P., Banerjee, R., 2014. Purification of polygalacturonase from *Aspergillus awamori* Nakazawa Mtcc 6652 and Its Application in Apple Juice Clarification. *LWT - Food Science and Technology* 59(1): 591-595.

[17] Gomes, E., Leite, R.S., Da Silva, R., Silva, D., 2009. Purification of an exopolygalacturonase from *Penicillium viridicatum* Rfc3 produced in submerged fermentation. *International Journal of Microbiology* 2009: 631942.

[18] Contreras Esquivel, J.C., Voget, C.E., 2004. Purification and partial characterization of an acidic polygalacturonase from *Aspergillus kawachii*. *Journal of Biotechnology* 110(1): 21-8.

[19] Devi, N.A., Rao, A.G.A., 1996. Fractionation, purification and preliminary characterization of polygalacturonases produced by *Aspergillus carbonarius*. *Enzyme and Microbial Technology* 18: 59-65.

[20] Hirose, N., Kishida, M., Kawasaki, H., Sakai, T., 1999. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase from a mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 63(6): 1100-1103.

[21] Jacob, N., Asha Poorna, C., Prema, P., 2008. Purification and partial characterization of polygalacturonase from *streptomyces lydicus*. *Bioresource Technology* 99(14): 6697-701.

[22] Pathak, N., Mishra, S., Sanwal, G.G., 2000. Purification and characterization of polygalacturonase from banana fruit. *Phytochemistry* 54: 147-152.

[23] Cohen, S.L., Chait, B.T., 1997. Mass spectrometry of whole proteins eluted from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis gels. *Analytical Biochemistry* 247: 257-267.

[24] Blackstock, W.P., Weir, M.P., 1999. Proteomics: Quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends in Biotechnology* 17(3): 121-127.

[25] Lei, Z., Anand, A., Mysore, K.S., Sumner, L.W., 2007. Electroelution of ıntact proteins from sds-page gels and their subsequent maldi-tof ms analysis. *Methods in Molecular Biology* 355: 353-363.

[26] Heerd, D., Tari, C., Fernandez-Lahore, M., 2014. Microbial strain ımprovement for enhanced polygalacturonase production by *Aspergillus sojae*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98(17): 7471-81.

[27] Buyukkileci, A.O., Tari, C., Fernandez-Lahore, M., 2011. Enhanced production of exo-polygalacturonase from agro-based products by *Aspergillus sojae*. *BioResources* 6(3): 3452-3468.

[28] Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the Quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

[29] Panda, T., Naidu, G.S.N., Sinha, J., 1999. Multiresponse analysis of microbiological parameters affecting the production of pectolytic enzymes by *Aspergillus niger*: A Statistical View. *Process Biochemistry* 35: 187-195.

[30] Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-685.

[31] Kinter, M., Sherman, N.E., 2005. Protein Sequencing and Identification Using Tandem Mass Spectrometry. New York: John Wiley & Sons, Inc.

[32] Niture, S., 2008. Comparative biochemical and structural characterizations of fungal polygalacturonases. *Biologia* 63(1): 1-19.

[33] Demir, H., Tari, C., 2016. Effect of physicochemical parameters on the polygalacturonase of an *Aspergillus sojae* mutant using wheat bran, an agro-ındustrial waste, via solid-state fermentation. *Jornal of the Science of Food and Agriculture* 96(10): 3575-82.

[34] Acuna-Arguelles, M.E., Gutierrez-Rojas, M., Viniegra-Gonzales, G., Favela-Torres, E., 1995. Production and properties of three pectinolytic activities produced by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 43: 808-814.

[35] Dinu, D., Nechifor, M.T., Stoian, G., Costache, M., Dinischiotu, A., 2007. Enzymes with new biochemical properties in the pectinolytic complex produced by *Aspergillus niger* miug 16. *Journal of Biotechnology* 131(2): 128-37.

[36] Freitas, P., Martin, N., Silva, D., Silva, R., Gomes, E., 2006. Production and partial characterization of polygalacturonases produced by thermophilic *Monascus* Sp. N8 and by thermotolerant *Aspergillus* Sp. N12 on solid-state fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 302-306.

[37] Nagai, M., Katsuragi, T., Terashita, T., Yoshikawa, T., Sakai, T., 2000. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase from *Aspergillus awamori*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 64(8): 1729-1732.

[38] Dogan, N., Tari, C., 2008. Characterization of three-phase partitioned exo-polygalacturonase from *Aspergillus sojae* with unique properties. *Biochemical Engineering Journal* 39(1): 43-50.

[39] Siddiqui, M.A., Pande, V., Arif, M., 2012. Production, purification and characterization of polygalacturonase from *Rhizomucor pusillus* ısolated from decomposting orange peels. *Enzyme Research* 2012: 138634.

[40] Kant, S., Vohra, A., Gupta, R., 2013. Purification and physicochemical properties of polygalacturonase from *Aspergillus niger* MTCC 3323. *Protein Expression and Purification* 87(1): 11-6.

[41] Medina, M.L., Kiernan, U.A., Francisco, W.A., 2004. Proteomic analysis of rutin-ınduced secreted proteins from *Aspergillus flavus. Fungal Genetics and Biology* 41(3): 327-35.

[42] Yuan, P., Meng, K., Huang, H., Shi, P., Luo, H., Yang, P., Yao, B., 2011. A novel acidic and low-temperature-active endo-polygalacturonase from *Penicillium Sp.* Cgmcc 1669 with potential for application in apple juice clarification. *Food Chemistry* 129(4): 1369-1375.

[43] Zhang, J., Henriksson, H., Szabo, I.J., Henriksson, G., Johansson, G., 2005. The active component in the flax-retting system of the zygomycete *Rhizopus oryzae* Sb Is a family 28 polygalacturonase. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32(10): 431-8.

[44] Rodrigo, D., Cortés, C., Clynen, E., Schoofs, L., Loey, A.V., Hendrickx, M., 2006. Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. *Food Research International* 39(4): 440-448.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 17-28, DOI: 10.24323/akademik-gida.304274

Araştırma Makalesi / Research Paper

Turunçgil Kabuklarından Elde Edilen Pektinlerin Karakterizasyonu ve Karşılaştırılması

Melih Güzel[1], ✉, Özlem Akpınar[2]

[1]Gümüşhane Üniversitesi, Şiran Mustafa Beyaz Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gümüşhane
[2]Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat

Geliş Tarihi (Received): 12.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 17.02.2017
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): melihguzel010@hotmail.com (M. Güzel)*
0 456 233 10 00-36 08 0 456 511 86 79

ÖZ

Pektin, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir polisakkarittir. Farklı metilasyon derecelerine sahip D-galakturonik asit moleküllerinin α(1,4) glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmasıyla oluşan lineer bir polimerdir. Bu çalışmada limon, mandalina, portakal ve greyfurt turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin fizikokimyasal, yapısal ve termal özellikleri incelenmiştir. Pektin üretimi için, turunçgil kabukları sitrik asit çözeltisinde (pH 1) ekstrakte edilmiş ve ekstrakte edilen pektin etanol ile çökeltilmiştir. Tüm pektin örneklerinin yüksek metoksilli pektin olduğu, limon ve portakal kabuklarından elde edilen pektinlerin diğer pektin örneklerinden daha iyi jel gücü ve sıvı tutma kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur. Portakal kabuğundan elde edilen pektinin termal stabilitesi daha yüksek iken limon ve greyfurt kabuğundan elde edilen pektinlerin diğer pektinlere kıyasla daha organize bir yapıya sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kabuk, Karakterizasyon, Turunçgil, Pektin, Termal özellikler

Comparison and Characterization of Pectins Obtained From Citrus Peels

ABSTRACT

Pectin is a polysaccharide that is widely used in food industry. It is a linear polymer of α(1,4) linked D-galacturonic acid units with varying degrees of methylation. In the present study, the extraction characterization and comparison of some physicochemical, structural and thermal properties of pectins from lemon, mandarin, orange and grapefruit citrus peels were determined. For the production of pectin, citrus peels were extracted in a solution of citric acid (pH 1) and extracted pectins were precipitated with ethanol. All pectins were high methoxylated while lemon and orange peel pectin had better gel strength and liquid holding capacity than the others. Orange peel pectin had higher thermal stability while lemon peel and grapefruit pectins had a more organized structure than the other pectins.

Keywords: Characterization, Citrus, Pectin, Peel, Thermal properties

GİRİŞ

Pektin bitkilerin hücre duvarının en önemli bileşenidir ve tüm canlı bitkilerin hücre duvarında ve hücreler arasında bulunmaktadır. D-galakturonik asit birimlerinin α(1,4) glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmasıyla oluşan doğrusal bir ana zincirden ve bu ana zincire glikozidik bağlarla bağlanmış ramnoz moleküllerinden oluşmaktadır. Bazı pektinler arabinogalaktan ve/veya D-ksiloz birimlerinden oluşan kısa yan zincirler içerdiğinden, daha dallanmış bir yapıya sahiptir [1]. Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılan pektin; gıdalarda kıvam artırıcı, tekstüre, emülsifiye ve stabilize edici, jelleştirici ajan ve yağ ikamesi olarak kullanılmaktadır [2-4]. Aynı zamanda yara iyileştirici [5], lipaz aktivitesini azaltıcı [6], kanser

hücrelerinin gelişmesini ve metastazını inhibe edici, hücre apoptozunu uyarıcı [7, 8], kolesterol seviyesini azaltıcı, bağışıklığı uyarıcı ve anti-ülser aktivite [9] gibi biyolojik aktivitelere de sahiptir.

Pektinin galakturonik asit ünitelerinden bir kısmı metanol ile esterleşmiş haldedir. Esterleşmiş galakturonik asit miktarının %50'nin altında ve üstünde olmasına göre pektin, düşük ve yüksek esterleşme dereceli pektin olarak sınıflandırılmaktadır. Pektinin sulu çözeltilerinin asit ve şeker ile jel oluşturma özelliği, esterleşme oranına bağımlı olarak değişmektedir. Esterleşme oranı arttıkça jelleşme için gerekli şeker miktarı ve pH seviyesi yükselmekte ve jelleşme için gerekli süre kısalmaktadır. Düşük esterleşme dereceli pektinler (esterleşme oranı %50'den az) belirli bir şeker konsantrasyonu gerektirmeden, ortamdaki divalent katyonlar (kalsiyum) varlığında jel oluşturmaktadır [1].

Pektin, bitkisel dokularda yaygın olarak bulunan bir polimer olup her bitkiden ekonomik bir şekilde üretimi mümkün değildir. Bazı bitkisel dokularda ise fazla miktarda bulunmasına rağmen, elde edilen pektinin özellikleri her alanda kullanılmaya elverişli değildir [10]. Pektin ticari olarak sıvı veya kurutulmuş toz halde bulunmaktadır [11]. Farklı kaynaklar üzerinde çalışmalar yapılmasına rağmen, ticari olarak elma posası, turunçgil kabukları, ayçiçeği tablası ve şeker pancarı küspesinden üretilmektedir [12]. Pektin üretimi için turunçgil meyveleri içerisinde en fazla limon, portakal ve greyfurt kabukları kullanılmakta olup, bu materyaller %20-30 oranında pektin içermektedir [13].

Turunçgiller *Rutaceae* familyasının Aurantoideae alt-familyasına ait bir meyve grubudur. Birçok türü olmasına rağmen, Dünya Tarım Örgütü verilerine göre ülkemizde en fazla tarımı yapılan turunçgiller sırasıyla, *Citrus limon* (limon), *Citrus sinensis* (portakal), *Citrus reticulata* (mandalina) ve *Citrus paradisi* (greyfurt)'dir [14]. TUİK verilerine göre 2015 yılında Türkiye'de üretilen limon miktarı 750.550 ton, mandalina miktarı 1.156.365 ton, portakal miktarı 1.816.798 ton, greyfurt miktarı ise 250.025 tondur. Limon üretiminde Türkiye, dünyada 7., greyfurt üretiminde ise 6. sırada yer almaktadır [15]. Turunçgillerin yenilen kısmının haricinde meyve ağırlıklarının %30-60 oranında bulunan [21-23] kabukları acı lezzete sahip oldukları için çiğ olarak tüketilmese de; marmelat yapımında, çeşitli alkollü içeceklerin (limocello) üretiminde [16], Uzakdoğu'da çeşitli yemeklerde (chenpi: geleneksel Çin yemeği) [17], baharat olarak yiyecek, içecek ve şekerlemelerde, kurutulmuş halde pasta ve sütlü tatlılarda, uçucu yağ eldesinde ve ilaç yapımında da kullanılmaktadır [18]. Aynı zamanda halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde (diyabet, yüksek tansiyon gibi) de kullanılmaktadır [19]. Bununla beraber kolloidal nitelikte bir karbonhidrat olan ve jel oluşturma özelliğinden yararlanılan pektin bakımından oldukça zengin olduğundan, en rasyonel kullanımı pektin üretimi olarak kabul edilmektedir [20, 21].

Bu çalışmanın amacı, bazı turunçgil kabuklarının (portakal, mandalina, greyfurt, limon) pektin üretim kapasitelerini karşılaştırmalı olarak belirlemek ve elde edilen pektin örneklerinin fiziksel, kimyasal, yapısal, termal ve jel oluşturma özelliklerini inceleyerek, birbirlerine karşı üstünlüklerini ortaya koymak, bu sayede farklı turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin daha doğru ve etkili kullanımı konusuna katkı sağlamaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan kabuklar, taze olarak ve farklı zamanlarda yerel marketlerden temin edilen turunçgil meyvelerinden elde edilmiştir. Limon *(Citrus limon)*, portakal *(Citrus sinensis)*, mandalina *(Citrus reticulata)* ve greyfurt *(Citrus paradisi)* meyvelerinin kabukları doğrayıcı vasıtasıyla parçalanıp, 60°C'de 48 saat etüvde kurutulduktan sonra öğütülmüştür. Örnekler kullanılıncaya kadar +4°C'de cam kavanozlarda depolanmıştır.

Pektin Üretimi

Pektin ekstraksiyonu, Kliemann ve ark, [24]'a göre bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Pektin ekstraksiyonu için, 10 g kabuk 100 mL sitrik asit çözeltisi (pH 1) ile karıştırılmış ve karışım 80°C'de, 60 dakika karıştırıcılı su banyosunda bekletilmiştir. Ekstraksiyon sonrası karışım kaba filtrede filtre edilmiş ve buz banyosunda 4°C'ye soğutulmuştur. Filtrata 100 mL %96'lık etanol ilave edilerek 12 saat 4°C'de bekletilmiş, bu sayede pektinin çökmesi sağlanmıştır. Çöken pektin filtrasyonla izole edildikten sonra, 20 mL %70 asidik etanol (%0.5 HCl) ile bir kez yıkanmış, nötralizasyon için 20 mL %70 ve en son 20 mL %96 etanol ile iki kez yıkanmıştır. Elde edilen pektin örnekleri 50°C'de etüvde kurutulmuş ve aşağıdaki formüle göre pektin verimi hesaplanmıştır. Pektin verimi en az 3 tekerrürün ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Pektin Verim} = A / B \times 100$$

Bu bağıntıda; A: Pektin miktarı, B: Kabuk miktarıdır.

Büyük ölçeklerde her bir kabuktan üretilen pektinler, kaynaklarına göre birleştirilmiş, kullanılıncaya kadar cam kavanozlarda 4°C'de muhafaza edilmiş ve diğer analizler için kullanılmıştır.

Pektin Analizleri

Nem ve Kül Miktarlarının Belirlenmesi

Limon kabuğu pektini (LP), mandalina kabuğu pektini (MP), portakal kabuğu pektini (PP) ve greyfurt kabuğu pektininin (GP) kurumadde ve kül içerikleri gravimetrik olarak [25] belirlenmiştir. Sonuçlar 3 paralelin ortalaması alınarak, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Pektin Örneklerinin Esterifikasyon, Amidasyon ve Galakturonik Asit Oranlarının Belirlenmesi

Pektin örneklerinin esterifikasyon ve amidasyon derecesi, galakturonik asit oranları belirlenmiştir [26, 27].

5 g pektin, 100 mL %60'lık alkol ve 5 mL 2.7 M HCl çözeltisi ile karıştırılmış ve karışım süzülerek 15 mL aynı alkol-asit çözeltisinde 6 kez, sonra 20 mL %96'lık etanol ile yıkanmış ve 105°C'de etüvde kurutulmuştur. Kurutulmuş örneğin net ağırlığının 1/10'una 2 mL etanol ve 100 mL su ilave edilerek, fenolfitaleyn eşliğinde 0.1 M NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyon için harcanan alkali hacmi (mL) V_1 olarak kaydedilmiştir. Karışıma, 20 mL 0.5 M NaOH ve 20 mL 0.5 M HCl eklenmiş, fenolfitaleyn ilavesinden sonra 0.1 M NaOH ile titre edilmiş, harcanan alkali hacmi (mL) de V_2 olarak kaydedilmiştir. Karışımın üzerine 20 mL %10 NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Ardından Kjeldahl distilasyon balonuna aktarılarak (balonun ağzına takılı soğutucunun ucu, içinde 150 mL su ve 20 mL 0.1 M HCl bulunan erlenin içine daldırılmıştır) 120 mL distilat toplanana kadar distile edilmiş ve metil kırmızısı indikatörü eşliğinde 0.1 M NaOH ile titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı (mL) S olarak kaydedilmiştir. Kör titrasyon değeri için; 20 mL 0.1 M HCl, 0.1 M NaOH ile titre edilmiş ve harcanan NaOH hacmi (mL) B olarak, B-S farkı (mL) V_3 olarak kaydedilmiştir. Kurutulmuş örneğin net ağırlığının 1/10'u 2 mL etanol ile karıştırılmış ve 25 mL 0.125 M'lık NaOH'da çözdürülmüştür. Örnekler saponifiye edildikten sonra hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 25 mL'si 20 mL Clark's çözeltisi ile karıştırılmış ve distilasyon gerçekleştirilmiştir. Distilasyonun ilk 15 mL mezür içinde toplanmış, sonra buharla 150 mL distilat toplanana kadar devam edilmiştir. Toplanan distilat 0.05 M NaOH ile pH 8.5 olana kadar titre edilmiş ve harcanan NaOH (mL) S olarak kaydedilmiş, kör için ise 20 mL distile su kullanılmıştır, harcanan hacim (mL) B olarak, S-B farkı ise mL V_4 olarak kaydedilmiştir. Esterleşme, amidasyon derecesi ve toplam galakturonik asit miktarı aşağıdaki formüllerden hesaplanmıştır. Sonuçlar 3 paralelin ortalaması alınarak, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

% Esterleşme derecesi (w/w) = $[V_2/(V_1+V_2)]\times100$
% Amidasyon derecesi (w/w) = $[V_3 / (V_1+V_2+V_3-V_4)]\times100$
Galakturonik asit miktarı (mg) = $(V_1+V_2+V_3-V_4)\times19.41$

Pektin Örneklerinin Jel Gücü Tayini

Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin jel gücü tayini %65.0 çözünür kurumadde (şeker), %0.70 pektin ve pH 2.3 koşulları altında hazırlanan jellerin yer çekimi ile deformasyonunu belirlenerek hesaplanmıştır. Hazırlanan pektin jeli konik şekilli bardaklara aktarılmıştır. Her bir bardaktaki çözeltiye belirli miktar %48.8'lik tartarik asit eklenerek jelin pH'sının 2.2-2.4 aralığında olması sağlanmıştır. Buharlaşmayı en aza indirmek için bardağın yüzeyi parafin kağıt ile kapatılmış ve 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 22 saat 30°C'de bekletilmiştir. Oluşan jel daha sonra dikkatli bir şekilde bardak ters çevrilerek cam plaka üzerine kalıptan çıkarılmıştır. 120 saniye bekledikten sonra jel yüksekliği ölçülmüş ve % çökme ve jel gücü aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır [27, 28]. Sonuçlar 3 paralelin ortalaması alınarak, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

% Çökme= (A - B) / A ×100

Jel Gücü= (650 / W) × (2 - % Çökme / 23.5)

Bu bağıntıda; A: Bardak yüksekliği, B: Jel yüksekliği ve W: Pektin miktarını (g) ifade etmektedir.

Sıvı Tutma Kapasitesi

Pektin örneklerinin sıvı tutma kapasitesinin belirlenmesi için; pektin (1 g) su, aseton, dimetil sülfoksit ve asetik asit (40 g) ile karıştırılmıştır. Süspansiyon 2 saat süre ile beklemeye bırakılmış ve daha sonra 30 dakika boyunca 3500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant uzaklaştırılmış ve çökelti halindeki ıslak numune tartılmıştır. Sonuçlar, % sıvı tutma kapasitesi olarak ifade edilmiş olup örneklerin sıvı tutma kapasitesi aşağıdaki bağıntı ile hesaplanmıştır [29]. Sonuçlar 3 paralelin ortalaması alınarak, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Sıvı Tutma Kapasitesi (%)= A / B×100

Bu bağıntıda; A: sıvı ağırlığını (g), B: pektin miktarını (g) ifade etmektedir.

Fourier Transform İnfrared (FTIR) Spektroskopisi

Pektin örnekleri KBr diskleri haline getirildikten sonra FTIR analizi (800-400 cm^{-1}) Jasco FT/IR-430 spekrofotometresinde gerçekleştirilmiştir. Pektin örneklerinin esterifikasyon derecesi (DE) serbest karboksil gruplarının (1630 cm^{-1}) ve esterleşmiş grupların (1740 cm^{-1}) pik alan değerleri ile aşağıdaki bağıntı ile hesaplanmıştır [30].

$DE = 124.7 \times R + 2.2013$
$R = A_{1740}/(A_{1740}+A_{1630}) \times 100$

Bu bağıntıda A_{1740} ve A_{1630} metil esterlenmiş ve metil esterlenmemiş karboksil gruplarının sırasıyla1740 cm^{-1} ve 1630 cm^{-1}'de bantların absorbans yoğunluklarını ifade etmektedir.

Termal Analiz (TG-DTA)

Pektin örneklerinin termal özellikleri; 10°/dakika ile 25-650°C arasında azot ortamında PRIS Diamond TG/DTA Termal Analiz Cihazı ile belirlenmiştir.

Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

Pektin örneklerinin taramalı elektron mikroskop (SEM) ile görüntüleri alınarak yapısal ve morfolojik özellikleri incelenmiştir. SEM analizleri QUANTA 450 Field Emission Gun (FEG) SEM Yüksek Çözünürlüklü Taramalı Elektron Mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir.

X-Ray Kırınımı (XRD) Analizi

Pektin örneklerinin kristal indeks değerini belirlenmesi ve X-Ray Diffraction (XRD) analizleri Panalytical Empyrean Yüksek Performans Difraktometre cihazında yapılmıştır. XRD analizlerinde Ni filtreli Cu X-ışın tüplü cihazlar ile 5°/min ile 2θ=10°-50° aralığında taranmıştır.

İstatistiksel Analiz

SPSS istatistiksel bilgisayar programı sonuçları analiz etmek amacıyla kullanılmış ve (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) analiz sonuçlarının varyans analizleri (ANOVA) yapılarak, gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile istatistiksel olarak %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fizikokimyasal Özellikler

Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin verimleri ve elde edilen pektinlerin kurumadde ve kül içerikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Pektin ekstraksiyon verimi düşük pH ve yüksek sıcaklıkla arttığından [31], bu çalışmada pektin verimini artırmak için pH değeri 1'e ayarlı sitrik asit çözeltisi ile farklı sıcaklıklarda (70, 80 ve 90ºC) ve farklı sürelerde (10, 30 ve 60 dakika) ön denemeler yapılmış ve bu denemeler sonunda en yüksek verim 80°C'de 60 dakika olarak bulunmuştur. Bu koşullar altında (80°C'de, 60 dakika pH 1 sitrik asit çözeltisi) yapılan ekstraksiyon sonucu en yüksek pektin verimine, %22.09 ile greyfurt kabuğunun sahip olduğu bunu sırasıyla limon, mandalina ve portakal kabuklarının takip ettiği belirlenmiştir (Tablo 1). Literatür çalışmalarında, pektin ekstraksiyonu için mineral asitlerin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Çalışmamızda ise pektin ekstraksiyonu için organik bir asit olan sitrik asit kullanılmıştır. Çevresel faydalarının yanı sıra sitrik asidin, ekstraksiyon verimi ve elde edilen pektinin fizikokimyasal özellikleri üzerine mineral asitlerden daha etkili olduğu ifade edilmektedir [24, 31-33]. Sitrik asidin ekstraksiyonu ile elde edilen pektinlerin daha iyi fizikokimyasal özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir [33]. Daha önce farklı asitlerle (sitrik, fosforik, malik, tartarik, hidroklorik, sülfürik ve nitrik asit) yapılan çalışmalar incelendiğinde, sitrik asidin diğer asitlere göre pektin verimini artırdığı tespit edilmiştir [34]. Bu çalışma portakal, greyfurt ve limon kabuklarından elde edilen pektin verimlerinin literatürde nitrik asit ile gerçekleştirilen ekstraksiyona (sırasıyla %8.15, %6.35 ve %11) [35] göre daha yüksek, greyfurt kabuğundan elde edilen pektin veriminin hidroklorik asit ekstraksiyonu ile elde edilen pektin verimine [36] ise yakın olduğu (%22.55) bulunmuştur. Kar [37] tarafından portakal kabuğu ile yapılan bir başka çalışmada ise; 90˚C'de, 90 dakika da pH'sı 2,50 olan HCl ile yapılan pektin ektraksiyonu yapılmış ve verim bu çalışmada bulunan sonuçlardan daha yüksek (%29.58) bulunmuştur. Kullanılan yüksek sıcaklık ve süre düşünüldüğünde pektin verimini artırmasının rasyonel olduğu ancak bu koşullar pektin üretim maliyetlerini de artırma olasılığı sonucuna varılmıştır.

Tablo 1 incelendiğinde, pektin örneklerinin kurumadde içeriklerinin %89.82-83.75 arasında değiştiği ve en yüksek kurumadde içeriğine PP'nin sahip olduğu gözlenmiştir. Kül miktarı bir gıdada mineral maddenin bir göstergesidir [38] ve düşük kül içeriği pektinin saflığı için önemli bir kriterdir [39]. Kül oranın pektin örneklerinde %1.17-1.19 arasında olduğu ve istatistiki olarak birbirinden farklı olmadığı saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde pektinlerin kül içeriklerinin elde edildiği kaynağa göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin; elma püresi pektininin %1.84 [40], mandalina püresi pektininin %0.45, mandalina kabuğu pektininin %0.50 [41], limon pektininin %0.70 [42], kivi pektininin %1.05 [43] kül içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir.

Tablo 1. Turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin kurumadde ve kül içerikleri*

Parametre	Limon Kabuğu Pektini	Mandalina Kabuğu Pektini	Portakal Kabuğu Pektini	Greyfurt Kabuğu Pektini
Kurumadde (%)	83.75±0.58^{c}	87.18±0.63^{b}	89.82±1.14^{a}	86.80±0.28^{b}
Kül (%)	1.18±0^{a}	1.18±0^{a}	1.19±0.06^{a}	1.17±0.03^{a}
Pektin verimleri (%)	16.45±0.05^{b}	15.53±0.15^{c}	11.46±0.14^{d}	22.09±0.41^{a}

*Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. $^{a, b, c, d}$ Aynı satırda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (P<0.05)

Pektin örneklerinin esterifikasyon ve amidasyon dereceleri ve galakturonik asit miktarları Tablo 2'de verilmiştir. Pektin molekülündeki her 100 galakturonik asit ünitesinin esterleşmiş olanının miktarı pektinin esterleşme derecesini vermekte, [44] ve pektin molekülündeki esterleşme derecesi %50'den fazla ise yüksek metoksilli pektin (YMP), %50'nin altında ise düşük metoksilli pektin (DMP) olarak adlandırılmaktadır [45-49]. Elde edilen tüm pektinlerin YMP olduğu tespit edilmiştir. Turunçgil kabuklarının esterifikasyon dereceleri kıyaslandığında en yüksek esterleşme derecesine %79.54 ile LP'nin sahip olduğu, diğer pektinlerin ise bunu izlediği ve istatistiki olarak birbirinden farklı olmadıkları, esterleşme derecelerinin %70-73 arasında değiştiği saptanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda da, turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin YMP olduğu [37, 50-53] ve meyvenin olgunlaşması ile esterleşme derecesinin azaldığı rapor edilmiştir [50]. Çalışmada kullanılan pektin örneklerin amidasyon derecesi %0.65 ile %9.08 arasında bulunmuş ve en yüksek amidasyon derecesine ise LP'nin sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek galakturonik asit içeriğine %61.52 ile PP'nin sahip olduğu, bunu GP, MP ve LP'nin takip ettiği belirlenmiştir.

Farklı kaynaklardan elde edilen pektinlerin, esterleşme dereceleri farklı olduğundan şeker ve asitler ile farklı özellikte jeller meydana getirebilmektedir [54, 55]. Elde edilen turunçgil kabuk pektinlerinin şeker ve asit ile oluşturdukları jellerin, yer çekimi ile deformasyonunu belirlenmiş ve buradan oluşturdukları jelin gücü hesaplanarak Tablo 2'de sunulmuştur. Sonuçlar karşılaştırıldığında pektin örnekleri arasında en yüksek jel gücüne PP'nin sahip olduğu, MP ve GP'nin ise en düşük jel gücüne sahip olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Pektin örneklerinin kimyasal ve jel özellikleri*

Parametre	Limon Kabuğu Pektini	Mandalina Kabuğu Pektini	Portakal Kabuğu Pektini	Greyfurt Kabuğu Pektini
Esterleşme (%)	79.54±1.33^{a}	73.30±2.10^{b}	69.67±3.35^{b}	73.28±0.43^{b}
Amidasyon (%)	9.08±0.63^{a}	3.66±0.17^{b}	0.65±0.02^{d}	2.59±0.17^{c}
Galakturonik Asit (%)	65.52±0.43^{d}	85.79±2.14^{b}	76.32±1.68^{c}	95.31±0.63^{a}
Çökme (%)	17.22±0.15^{b}	22.47±0.58^{a}	16.39±0.44^{b}	22.58±0.44^{a}
Jel Gücü (%)	111.46±0.55^{a}	91.79±2.18^{b}	114.55±1.64^{a}	91.40±1.64^{b}

* Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. $^{a, b, c, d}$ Aynı satırda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (P<0.05)

Sıvı tutma kapasitesi bir polimerin, viskoz çözelti oluşturmak için sıvıyı absorblamak ve muhafaza etmek ile ilgili bir özelliğidir. Yüksek sıvı tutma kapasitesine sahip bir polimer; kullanıldığı gıdanın hacmini artırabilme, kalorisini ise azaltabilme fonksiyonuna sahiptir. Ayrıca gıdanın tekstür ve viskozitesini doğrudan etkilemekte olup, bu gibi nedenlerle sıvı tutma kapasitesi hem fizyolojik hem de teknolojik açıdan önemli bir özelliktir [56]. Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin farklı sıvıları tutma kapasiteleri Tablo 3'te verilmiştir. Genel olarak, bütün pektinlerin su ve dimetil sülfoksiti tutma kapasitelerinin daha fazla olduğu, en düşük asetonu tuttuğu görülmüştür. Elde edilen pektinler arasında ise PP'nin en fazla su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

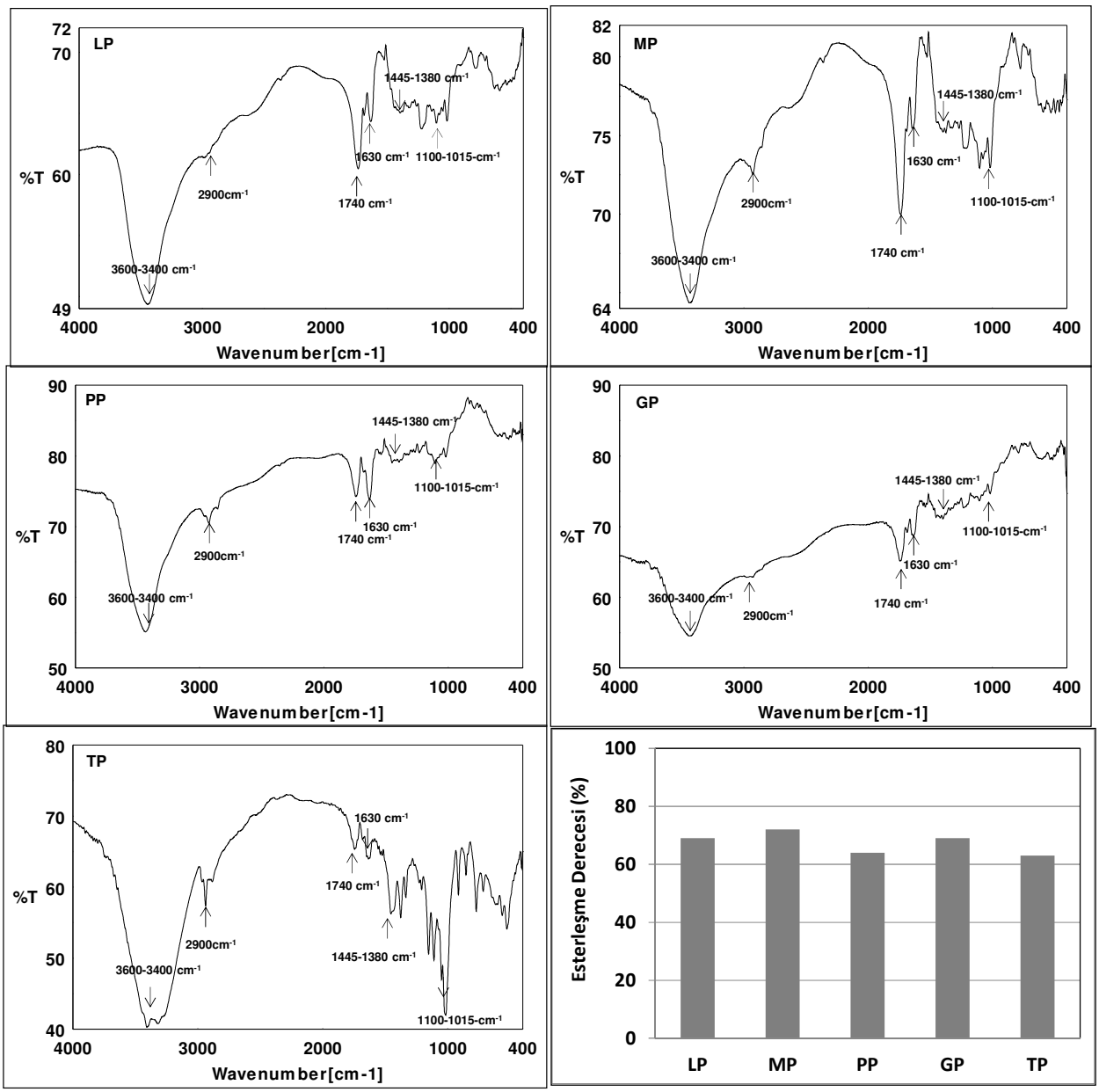
Tablo 3. Turunçgil kabuklardan elde edilen pektinlerin sıvı tutma kapasiteleri*

% Sıvı Tutma (g sıvı/100 g P.)	Su	Aseton	Dimetil Sülfoksit	Asetik Asit
Limon Kabuğu Pektini	392.59±3.52^{bA}	65.91±2.98^{aD}	346.63±3.56^{bB}	145.58±0.70^{bC}
Mandalina Kabuğu Pektini	291.18±1.13^{cB}	63.56±3.62^{aD}	336.58±2.23^{cA}	138.00±3.33^{cC}
Portakal Kabuğu Pektini	491.32±1.07^{aA}	65.11±2.20^{aD}	419.39±1.93^{aB}	151.95±1.42^{aC}
Greyfurt Kabuğu Pektini	221.98±2.80^{dB}	43.86±0.84^{bD}	342.72±2.44^{bcA}	114.48±0.87^{dC}

* Her bir değer, 3 paralelin ortalamasıdır. $^{a, b, c, d}$ Aynı sütunda, $^{A, B, C, D}$ aynı satırda farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak Duncan testine göre birbirinden farklıdır (P<0.05)

FT-IR Analizi

Şekil 1'de turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin FTIR spektrumları verilmiş olup sonuçlar ticari pektin örneği ile karşılaştırılmıştır. Bu yöntem ile organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı belirlenmektedir [57]. IR spektrumları pektin örneklerinde bulunan fonksiyonel grupların belirgin piklerini vermektedir. 800 ve 1200 cm^{-1} dalga aralığında bulunan absorbsiyonlar karbonhidratlar için parmak izi bölgesi olarak düşünülmekte ve bu bantların konumu ve yoğunluğu her polisakkarit için spesifik olup polisakkaritlerde önemli kimyasal grupların tanımlanmasına olanak sağlamaktadır [58, 59]. Şekil 1'de sunulan tüm pektinlerin IR spektrumlarında 3600-3400 cm^{-1}'de asosiye olmamış O-H pikleri görülmektedir. Bunlar polihidroksi bileşiklerde görülen karakteristik piklerdir ve pektin molekülünde çok sayıda OH grubunun bulunduğunu göstergesidir. Yaklaşık 2900 cm^{-1}'deki absorbans galakturonik asidin metil esterleri olan -CH, $-CH_2$ ve $-CH_3$ gerilmelerine aittir. 1740 cm^{-1} pik esterlerde görülen C=O gerilmesi olup pektinde asetil ($COCH_3$) gruplarından ileri gelmektedir. 1630 cm^{-1} pik -OH gerilme titreşim bandını, 1380-1445 cm^{-1}'deki bantlar ise $-CH_3$ grubunun varlığını göstermektedir. 1015-1100 cm^{-1} bantları C-O eğilme veya gerilme titreşimlerinden oluşmaktadır. Bu bantların varlığı pektindeki metil esterlerinin varlığını desteklemektedir [60, 61]. Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin FTIR spektrumlarının dalga boyu ve yoğunlukları pektine ait karakteristik piklere sahip olması [58, 62, 63] ve spektrumlarında ticari pektinin spekturumuna benzer olması, elde edilen polisakkaritlerin pektin olduğunu doğrulamaktadır. Pektin örneklerinin FT-IR spektrumunda bulunan 1740 cm^{-1}'deki 1630 cm^{-1}'den piklerin alanları esterifikasyon dereceleri hesaplanmış ve esterifikasyon dereceleri de Şekil 1'de sunulmuştur. Sonuçlar tüm pektinlerin yüksek esterifikasyona (DE>50) sahip olduğunu göstermektedir ve titrasyon yönteminde bulunan sonuçlarla da uyumlu olduğu görülmüştür.

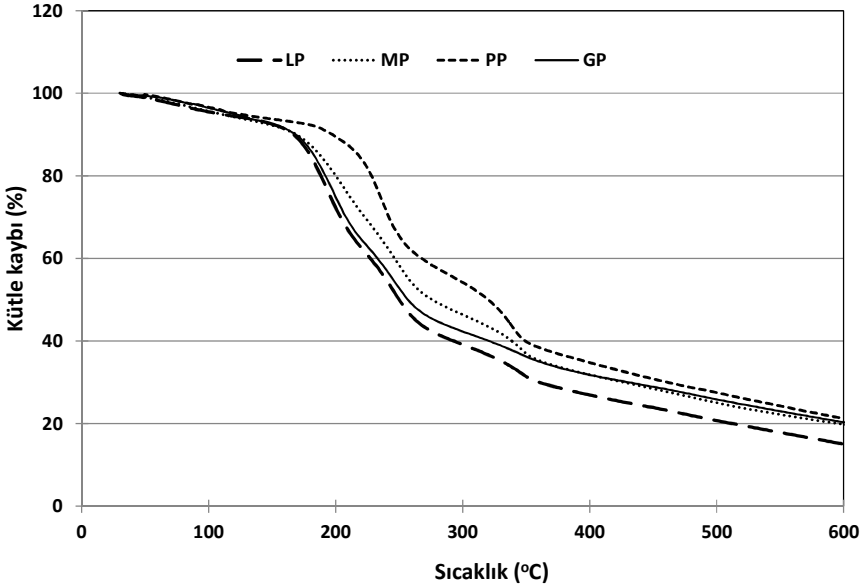


Şekil 1. Meyve-sebze kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin FTIR spektrumları ve esterleşme dereceleri (LP: limon kabuğu pektini, MP: mandalina kabuğu pektini, PP: portakal kabuğu pektini, GP: greyfurt kabuğu pektini, TP: ticari pektin)

Termogravimetrik Analiz

Elde edilen pektinlerin, termogravimetrik analizleri (TGA) ile sıcaklık değişimine karşı kütlesindeki azalma ölçülmüş ve elde edilen eğriler Şekil 2'de ve pektin örneklerinin TGA değerlerine ilişkin sıcaklık ve % kütle kaybı değerleri Tablo 4'te sunulmuştur. TGA, incelenen maddelerin termokimyasal dönüşüm esnasında yarı kantitatif olarak ısıl bozunma süreçlerinin anlaşılmasını sağlamaktadır [64]. Tüm pektin örneklerinin sıcaklıkla bozunma eğrilerinin benzer şekilli olduğu ve sonuçların literatürde bulunan diğer çalışmalarda da bildirilen [65-70] 30-190°C, 190-400°C ve 400-600°C olmak üzere üç bölgeye sahip olduğu belirlenmiştir. İlk bölgede (30-190°C) sıcaklık artışına bağlı olarak örneklerde absorbe suyun buharlaşması nedeniyle hafif bir ağırlık kaybı meydana gelmektedir. LP'nin su içeriğinin PP, GP ve MP'den biraz daha düşük olduğu gözükmektedir. İkinci bölgede (190-400°C) polisakkaritlerin pirolitik ayrışmasından kaynaklanan hızlı bir kütle kaybı (~%50) meydana gelmiştir. Bu aralıkta örneklerin hızlı bir şekilde ağırlık kaybına uğradığı ve toplam ağırlıklarının yaklaşık %65-75'ini kaybettiği belirlenmiştir. Üçüncü bölgede (400-600°C) ise daha yavaş bir ağırlık kaybı gözlemlenmiştir. Yapılan literatür taramalarında, ikinci bölgedeki ağırlık kaybının, hidroksil ve metoksil gruplar gibi küçük moleküler yapıların, üçüncü bölgedeki ağırlık kaybının ise polimerik zincirlerler ve piran yapıların parçalanmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. İkinci bölgede (190-400°C) galakturonik asit zincirleri yoğun

bir şekilde termal bozulmaya uğramakta, daha sonra yan grupların ve halkadaki karbonların dekarboksilasyonu ile gaz çıkışı ve katı "char" (odun kömürüne benzer katı kalıntı) oluşumu meydana gelmektedir. Üçüncü bölgede (400-600°C) katı charın termal parçalanması ve daha sıkı bir şekilde birleşmesi ile daha yavaş kütle kaybı meydana gelmektedir [68, 70].



Şekil 2. Turunçgil kabuklarından elde edilen pektinlerin TGA eğrisi (LP: limon kabuğu pektini, MP: mandalina kabuğu pektini, PP: portakal kabuğu pektini, GP: greyfurt kabuğu pektini).

DTG_{max} ayrışma esnasında en keskin ağırlık kaybının meydana geldiği sıcaklık değerini ifade etmekte olup pektin örnekleri için bu değerin 236-244°C arasında değiştiği belirlenmiştir. Pektin örnekleri için 600°C'deki % kütle kayıplarının 80-85 arasında değiştiği saptanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Pektin örneklerinin TGA değerlerine ilişkin sıcaklık değerleri

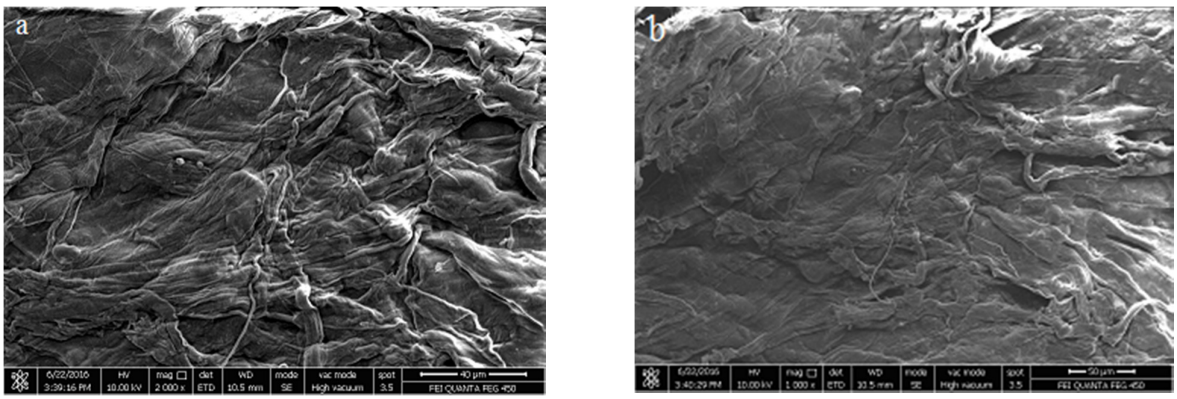
Pektin Kaynağı	$T_{\%50}$ (ºC)	DTG_{max} (ºC)	(%) Kütle Kaybı (600 ºC)
Limon Kabuğu	248	244	85
Mandalina Kabuğu	271	244	80
Portakal Kabuğu	319	236	80
Greyfurt Kabuğu	254	243	80

Sem Analizi

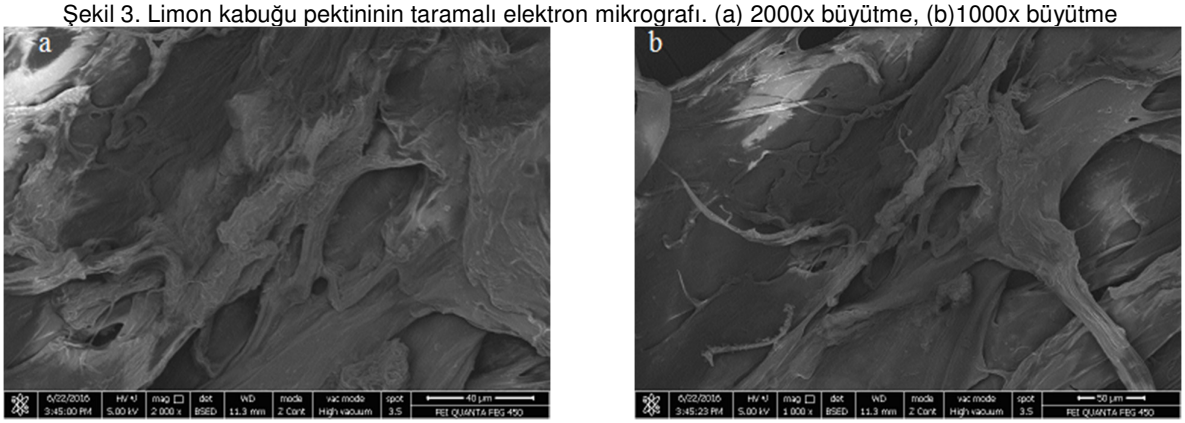
Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin görsel yüzey morfolojisi özellikleri, farklı büyütme değerlerine sahip taramalı elektron mikroskop ile incelenmiş (SEM) ve görüntüleri Şekil 3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde farklı kaynaklardan izole edilen pektin örneklerinin morfolojik yapılarının benzer olduğu söylenebilir. Örneklerin SEM görüntüleri birbirleri ve literatür çalışmaları ile uyum göstermektedir [71-74].

XRD Analizi

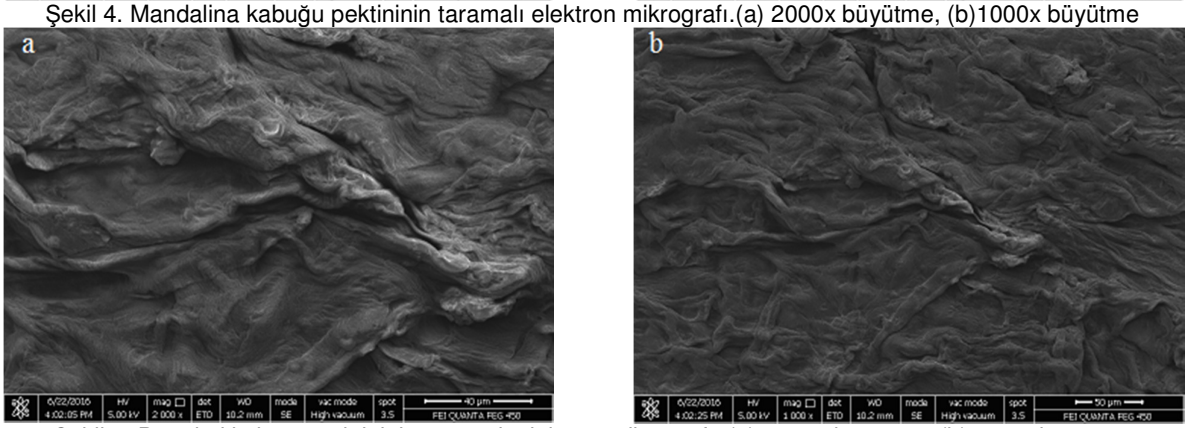
XRD polimerlerin yapısının amorf ya da kristal olması hakkında daha fazla bilgi sunması için kullanılmaktadır [68]. Şekil 7'de turunçgil kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin X-ışını difraktogramları verilmiştir. Pektin örneklerinin XRD difroktamlarında, 12.5˚ ve 21-22˚ civarında geniş piklerin olması, bu örneklerin amorf polimerler olduğunu göstermektedir. LP ve GP'nin kromatogramında daha fazla keskin piklerin olması, diğer örneklere kıyasla daha düzenli bir yapılara işaret etmektedir. Daha önceki çalışmalarda da pektinin X-ışını difraktogramında 13.56˚ ve 22.56˚ [75] ve 9˚, 12.7˚, 18.42˚, 28.22˚ ve 40.14˚(2θ)'de [76] karakteristik piklere sahip olduğu rapor edilmiş olup bu çalışmada bulunan sonuçlar da literatürle uyumludur.



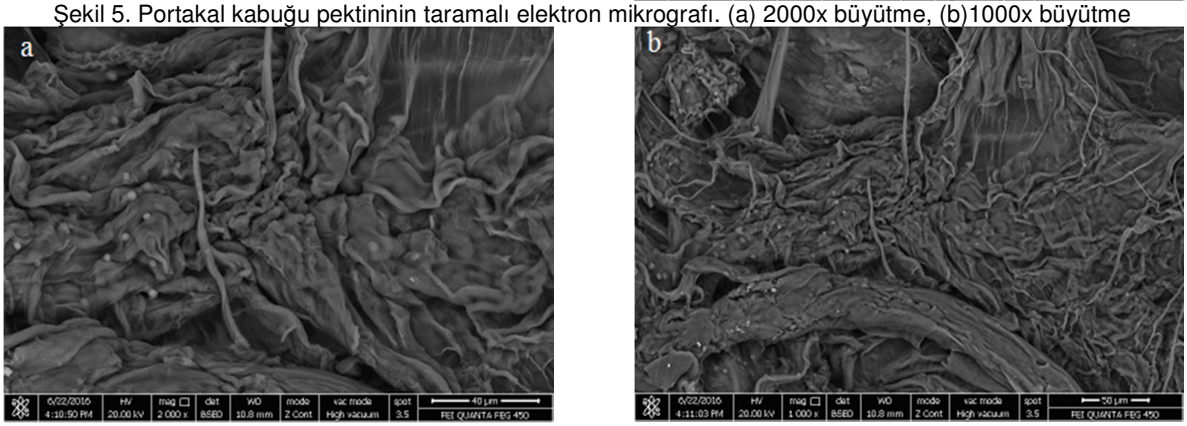
Şekil 3. Limon kabuğu pektininin taramalı elektron mikrografı. (a) 2000x büyütme, (b)1000x büyütme



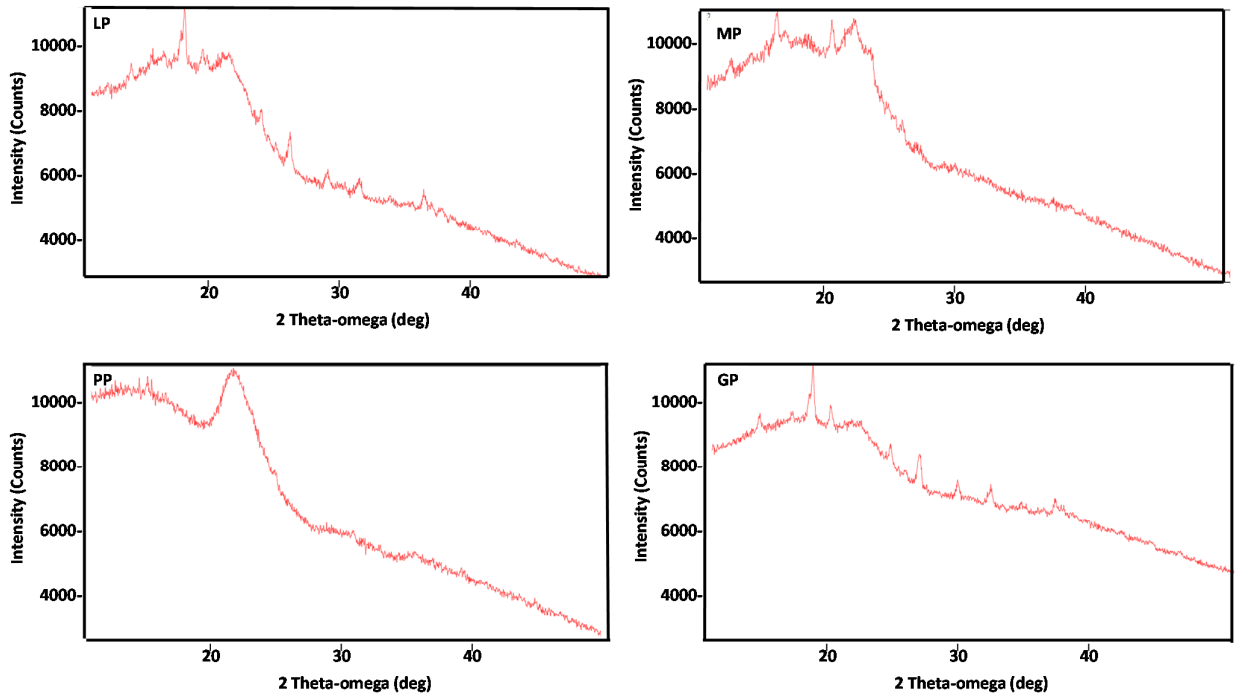
Şekil 4. Mandalina kabuğu pektininin taramalı elektron mikrografı.(a) 2000x büyütme, (b)1000x büyütme



Şekil 5. Portakal kabuğu pektininin taramalı elektron mikrografı. (a) 2000x büyütme, (b)1000x büyütme



Şekil 6. Greyfurt kabuğu pektininin taramalı elektron mikrografı. (a) 2000x büyütme, (b)1000x büyütme



Şekil 7. Meyve-sebze kabuklarından elde edilen pektin örneklerinin XRD analiz grafikleri (LP: limon kabuğu pektini, MP: mandalina kabuğu pektini, PP: portakal kabuğu pektini, GP: greyfurt kabuğu pektini).

SONUÇ

Bu çalışmada turunçgil kabuklarından yüksek verim ve esterleşme derecelerine sahip pektinler elde edilmiştir. İncelenen kabuklar arasında en fazla pektin verimi, greyfurt kabuğundan elde edilmiştir. Elde edilen pektinlerin tamamı yüksek esterleşme oranı, yüksek su tutma kapasitesi ve jel özelliklerinin iyi olması nedeniyle, ticari olarak gıdalarda kullanım potansiyeline sahiptir. Portakal ve limon kabuğundan elde edilen pektinlerin jel özelliklerin daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, portakal kabuğu pektininin su tutma kapasitesi ve termal kararlılığının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Limon kabuğu pektinin ise termal olarak diğer pektinlere göre daha çabuk bozunduğu ancak greyfurt kabuğu pektini ile beraber daha düzenli bir yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu proje Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No:2015/128) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

[1] Saldamlı, İ., Acar, J., Altuğ, T., Kayahan, M., Temiz, A., Us, F., Köksel, H., Sağlam, F., Uygun, Ü., Elmacı Y., 2005. Gıda Kimyası. (Editör: Saldamlı, İ.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 61-63 p.

[2] Thakur, B.R., Singh, R.K., Handa, A.K., Rao, M.A., 1997. Chemistry and uses of pectin – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 37(1): 47-73.

[3] Liu L.S., Kende M., Ruthel G., Fishman M.L., Hicks, K.B., 2006. Pectin/Zein beads for potential colon-specific drug delivery: synthesis and in vitro evaluation. *Drug Delivery* 13(6): 417-423.

[4] Zouambia, Y., Moulai-Mostefa, N., Krea, M., 2009. Structural characterization and surface activity of hydrophobically functionalized extracted pectins. *Carbohydrate Polymer* 78(4): 841-846.

[5] Hokputsa, S., Gerddit, W., Pongsamart, S., Inngjerdingen, K., Heinze, T., Koschella, A., Harding, S. E., Paulsen, B.S., 2004. Water-soluble polysaccharides with pharmaceutical importance from Durian rinds (*Durio zibethinus* Murr.): isolation, fractionation, characterisation and bioactivity. *Carbohydrate Polymer* 56(4): 471-481.

[6] Edashige, Y., Murakami, N., Tsujita, T., 2008. Inhibitory effect of pectin from the segment membrane of citrus fruits on lipase activity. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 54(5): 409-415.

[7] Nangia-Makker, P., Hogan, V., Honjo, Y., Baccarini, S., Tait, L., Bresalier, R., Raz, A., 2002. Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *Journal of the National Cancer Institute* 94(24):1854-1862.

[8] Jackson, C.L., Dreaden, T.M., Theobald, L.K., Tran, N.M., Beal, T.L., Eid, M., Gao, M.Y., Shirley, R.B., Stoffel, M.T., Kumar, M.V., Mohnen, D., 2007. Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology* 17(8): 805-819.

[9] Yamada, H., 1996. Contribution of pectins on health care. *Progress in Biotechnology* 14: 173–190.
[10] Cemeroğlu, B., Acar, J., 1986. Meyve Sebze İşleme Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara.
[11] Gökmen, V., Acar, J., 2004. Fumaric acid in apple juice – A potential indicator of microbial spoilage of apples used as raw material, *Food and Contaminants* 21(7): 626-631.
[12] Ranganna, S., 2008. Pectin, Handbook Of Analysis And Quality Control For Fruit and Vegetable Products, Tata McGraw Hill, New Delhi, India, 31-66p.
[13] May, C.D., 1990. Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers* 12: 79-99.
[14] Anonymus, 2016. Agriculture Production Data. http://faostat.fao.org. Erişim Tarihi: 12 Ağustos 2016.
[15] Anonymus, 2015. Bitkisel Üretim İstatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=18706. Erişim Tarihi: 16.Ağustos 2016.
[16] Crupi, M.L., Costa, R., Dugo, P., Dugo, G., Mondello, L., 2007. A comprehensive study on the chemical composition and aromatic characteristics of lemon liquor. *Food Chemi*cal 105(2): 771–783.
[17] Anonymus, 2014. Peel (fruit). http://en.wikipedia.org/wiki/Peel_(fruit). Erişim Tarihi: 18Ekim 2016.
[18] Başer, H.C., 1997. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı, İstanbul Ticaret Odası Yayınları, İstanbul, 113 s.
[19] Oboh, G., Ademosun, A.O., 2012. Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *J. Food Sci. Technol.* 49(6): 729–736.
[20] Marin, F.R., Soler-Rivas, C., Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Perez-Alvarez, J.A., 2007. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry* 100(2): 736–741.
[21] Turhan, İ., Tetik, N., Karhan, M., 2006. Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 3: 71-77.
[22] Yaman, K., 2012. Bitkisel atıkların değerlendirilmesi ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 12(2): 339-348.
[23] Pinzon, K.M., Rodriguez, M.C., Sandova, E.R., 2013. Effect of drying conditions on the physical properties of impregnated orange peel. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 30(3): 667-676.
[24] Kliemann, E., Simas, K.N., Amante,E.R., Prudencio, E.S., Teofilo, R.F., Ferreira, M.C., Renata Amboni, D.M.C., 2009. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. *International Journal of Food Science and Technology* 44(3): 476–483.
[25] AOAC, 1989. Officials Methods of Analysis, 72(3): 481-483.
[26] Food Chemical Codex, 1996. National Academy Press, Washington, USA, 283-286 p.
[27] Açıkgöz, Ç., Poyraz, Z., 2006. Extraction and characterization of pectin obtained from quince (*Cydonia vulgaris* pers.). *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 12: 27-34.
[28] IFT, 1959. Committee on Pectin Standardization. Final report of the IFT Committee. *Food Technol*. 13: 496 – 500.
[29] Tappi, 1991. Tappi useful method UM256. Water retention value (WRV), Tappi Useful Methods, Tappi Press, Atlanta, USA.
[30] Pappas, C.S., Malovikova, A., Hromadkova, Z., Tarantilis, P.A., Ebringerova, A., Polissiou, M., 2004. Determination of the degree of esterification of pectinates with decyl and benzyl ester groups by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and curve-fitting deconvolution method. *Carbohydrate Polymers* 56(4): 465–469.
[31] Vriesmann, L.C., Teófilo, R.F., Petkowicz, C.L.O., 2011. Optimization of nitric acid mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 84(4): 1230-1236.
[32] Virk, B.S., Sogi, D.S., 2004. Extraction and characterization of pectin from apple (*Malus pumila* Cv Amri) peel waste. *International Journal of Food Properties* 3(3): 693-703.
[33] Yapo, B.M., 2009. Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(4): 1572-1578.
[34] Canteri, M.H., Fertonani, H.C.R., Waszczynskyj, N., Wosiacki, G., 2005. Extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48(2): 259-266.
[35] Rouse, A.H., Crandall, P.G., 1976. Nitric acid extraction of pectin from citrus peel. *Proc. Fla. State Hort. Soc*. 89: 166-168.
[36] Khan, A.A., Butt, M.S., Randhawa, M.A., Karim, R., Sultan, M.T., Ahmed, W., 2014. Extraction and characterization of pectin from grapefruit (Duncan cultivar) and its utilization as gelling agent. *International Food Research Journal* 21(6): 2195-2199.
[37] Kar, F., 1998. Portakal Kabuğu Pektinin Fizikokimyasal Özellikleri ve Pektin Ekstraktının Sabit Basınç Filtrasyonu. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
[38] Acquistucci, R., Bucci, R., Magri, A.D., Magri, A.R., 1991. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. *Thermochimica Acta* 188(1): 51-62.
[39] Miyamoto, A., Chang, K.C., 1992. Extraction and physicochemical characterization of pectin from sunflower head residues. *J. Food Sci.* 57(6): 1439-1443.
[40] Johar, D.S., Krishnamurthy, G.V., Bhatia, B.S., 1960. Utilization of apple pomace. *Food Science* 9: 82–84.

[41] Pruthi, J.S. Parekh, C.M. Lal, G., 1961. An integrated process for the recovery of essential oil and pectin from Mandarin orange waste. *Food Science* 10(11): 372–378.
[42] Dang, R.L., 1968. Better utilization of galgal. *Indian Food Packer* 22(6): 16–24.
[43] Yuliarti, O., Goh, K.K.T., Matia-Merino, L., Mawson, J., Brennan, C., 2015. Extraction and characterization of pomace pectin from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Food Chemistry* 187: 290–296.
[44] Cemeroğlu B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Başkent Klişe Matbaacılık, 628s. Ankara.
[45] Morris, G.A., Foster, T.J., Harding, S.E., 2000. The effect of the degree of esterifi-cation on the hydrodynamic properties of citrus pectin. *Food Hydrocolloids* 14(3): 227-235.
[46] Fu, J.T., Rao, M.A. 2001. Rheology and structure development during gelation of low-methoxyl pectin gels: the effect of sucrose. *Food Hydrocolloids* 15(1): 93-100.
[47] Girard, M., Turgeon, S.L., Gauthier, S.F., 2002. Interbiopolymer complexing between [beta]-lactoglobulin and low- and high-methylated pectin measured by potentiometric titration and ultrafiltration. *Food Hydrocolloids* 16(6): 585–591.
[48] Torralbo, D.F., Batista, K.A., Di-Medeiros, M.C.B., Fernandes, K.F., 2012. Extraction and partial characterization of *Solanum lycocarpum* pectin. *Food Hydrocolloids* 27(2): 378-383.
[49] Yapo, B.M., Koffi, K.L., 2013. Extraction and characterization of gelling and emulsifying pectin fractions from cacao pod husk. *Journal of Food and Nutrition Research* 1(4): 46-51.
[50] Azad, A.K.M., Ali, M.A., Akter, S., Rahman, J., Ahmed, M., 2014. Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences* 2(2): 30-35.
[51] Gama, B., De Farias Silva, C.E., Oliveira Da Silva, L.M., Abud, A.K.S., 2015. Extraction and characterization of pectin from citric waste. *Chemical Engineering Transactions* 44: 259-264.
[52] Mohamed, H. A., Mohamed, B. E. W., 2015. Fractionation and physicochemical properties of pectic substances extracted from grapefruit peels. *J. Food Process Technol* 6(8): 473.
[53] Venzon, S.S., Canteri, M.H.G., Granato, D., Junior, B.D., Maciel, G. M., Stafussa, A.P., Haminiuk, C.W.I., 2015. Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. *J Food Sci Technol* 52(7): 4102–4112.
[54] Mcready, R.M., 1966. Polysaccarides of sugar beet pulp, a review of their chemistry. *Journal American Sugar Beet Technology* 14(3): 260-270.
[55] Johnson, R.M., Breene, W.M., 1988. Pektin gel strength measurement. *Food Technology* 14: 636-651.
[56] Rodriguez, R., Jiménez, R., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., Heredia, A., 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients, *Trends in Food Science and Technology* 17(1): 3-15.
[57] Fabio, P.G., Nuno, H.C.S., Trovatti, E., Serafim, L.S., Duarte, M.F., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Carmen S.R.F., 2013. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. *Biomass and Bioenergy* 55: 205-211.
[58] Nesic, A.R., Trifunovic, S.S., Grujic, A.S., Velickovic, S.J., Antonovic, D.G., 2011. Complexation of amidated pectin with poly(itaconic acid) as a polycarboxylic polymer model compound. *Carbohydr. Res.* 346(15): 2463-2468.
[59] Sivam, A.S., Sun-Waterhouse, D., Perera, C.O., Waterhouse, G.I.N., 2012. Exploring the interactions between blackcurrant polyphenols, pectin and wheat biopolymers in model breads; a FTIR and HPLC investigation. *Food Chemistry* 131(3): 802-810.
[60] Kamnev, A.A., Colina, M., Rodriguez, J., Ptitchkina, N.M., Ignatov, V.V., 1998. Comparative spectroscopic characterization of different pectins and their sources. *Food Hydrocolloids* 12(3): 263-271.
[61] Ferreira, D., Barros, A., Coimbra, M.A., Delgadillo, I., 2001. Use of FT-IR spectroscopy to follow the effect of the processing in cell wall polysaccharide extracts of the sun dried pear. *Carbohydrate Polymers* 45(2): 175-182.
[62] Liu, L., Cao, J., Huang, J., Cai, Y., Yao, J., 2010. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource. Technol.* 101(9): 3268-3273.
[63] Fajardo, A.R., Lopes, L.C., Pereira, A.G.B., Rubira, A.F., Muniz, E.C., 2012. Polyelectrolyte complexes based on pectin–NH2 and chondroitin sulfate. *Carbohydr Polym* 87(3): 1950-1955.
[64] Aydıncak, K., 2012. Hidrotermal Karbonizasyon Yöntemiyle Gerçek ve Model Biyokütlelerden Karbon Nanoküre Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
[65] Fisher, T., Hajaligol, M., Waymack, B., Kellogg, D., 2002. Pyrolysis behavior and kinetics of biomass derived materials. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 62(2): 331-349.
[66] Mangiacapra, P., Gorras, G., Sorrentino, A., Vittoria, V., 2006. Biodegradable nanocomposites obtained by ball milling of pectin and montmorillonites. *Carbohydrate Polymers* 64(4): 516-523.
[67] Stoll, U.E., Kunzek, H., Dongowski, G., 2007. Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. *Food Hydrocolloids* 21(7): 1101-1112.
[68] Zhou, H.Y., Zhang, Y.P., Zhang, W.F., Chen, X.G., 2011. Biocompatibility and characteristics of injectable chitosan-based thermosensitive hydrogel for drug delivery. *Carbohydrate Polymers* 83(4): 1643-1651.
[69] Combo, A.M.M., Aguedo, M., Quiévy, N., Danthine, S., Goffin, D., Jacquet, N., Blecker, C., Devaux, J., Paquot, M., 2013. Characterization of sugar beet pectic-derived oligosaccharides obtained by enzymatic hydrolysis. *International Journal of Biological Macromolecules* 52: 148-156.

[70] Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., Pan, S., Liu, F., 2016. Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules* 91: 794-803.

[71] Fishman, M.L., Coffin, D.R., Onwulata, C.I., Konstance, R.P., 2004. Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch. *Carbohydrate Polymers* 57(4): 401-413.

[72] Zhongdong, L., Guohua, W., Yunchang, G., Kennedy, J.F., 2006. Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohydrate Polymers* 64(4): 548-552.

[73] Jiang, Y., Du, Y., Zhu, X., Xiong, H., Woo, M.W., Hu, J., 2012. Physicochemical and comparative properties of pectins extracted from *Akebia trifoliata* var. australis peel. *Carbohydrate Polymers* 87(2): 1663-1669.

[74] Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., Liu, D., 2015. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chemistry* 178: 106-114.

[75] Sharma, R., Ahuja, M., 2011. Thiolated pectin: Synthesis, characterization and evaluation as a mucoadhesive polymer. *Carbohydrate Polymers* 85(3): 658-663.

[76] Mishra, R.K., Datt, M., Banthia, A.K., 2008. Synthesis and characterization of pectin/pVP hydrogel membranes for drug delivery system. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 9(2): 395-403.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 29-35, DOI: 10.24323/akademik-gida.305772

Araştırma Makalesi / Research Paper

Urfa Peynirlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Enterotoksin Üretim Potansiyeli ve Metisilin Dirençliliği

Kadriye Kübra Bingöl[1], Sine Özmen Toğay[2,]

[1]Istanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Beykoz, İstanbul
[2]Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Görükle, Bursa

Geliş Tarihi (Received): 16.02.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 28.03.2017
Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sinetogay@uludag.edu.tr (S.Ö. Toğay)
0 224 294 16 29 0 224 294 14 02

ÖZ

Çalışma kapsamında, İstanbul ve Şanlıurfa'daki halk pazarı ve marketlerde satışa sunulan Urfa peyniri örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşları koagulaz ile DNaz enzim aktiviteleri ve metisilin dirençlilik özellikleri yönüyle değerlendirilmiştir. Peynir örneklerinden egg-yolk tellurit içeren Baird Parker Agar besiyeri kullanılarak izole edilen *S. aureus* suşlarına tavşan kan plazması kullanılarak koagulaz testi, DNaz agar ve Orsab agar kullanılarak ise sırasıyla DNaz aktivitesi ve metisilin dirençlilik testi yapılmıştır. Çalışma kapsamında analiz edilen toplam 52 adet Urfa peyniri örneğinin 48'inde (%92) ortalama 4.48±1.76 log kob/g düzeyinde *S. aureus* tespit edilmiş ve örneklerin sadece %25'inin Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olduğu belirlenmiştir. Elde edilen 64 izolatın 22'sinin (%34.4) koagülaz pozitif, 31'inin (%48.4) DNaz pozitif olduğu, 20'sinin (%31.25) ise metisiline karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda analiz edilen Urfa peyniri örneklerinde enterotoksin üretme potansiyeli yüksek ve metisiline dirençli S. *aureus* izolatlarının bulunduğu, bu nedenle bu peynirlerin tüketiminin halk sağlığı için riskli olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Urfa peyniri, *S. aureus*, Koagulaz, DNaz, Metisilin direnci

Enterotoxin Production Potential and Methicillin Resistance of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Urfa Cheeses

ABSTRACT

In this study, the coagulase and DNase enzyme activities and methicillin resistance characteristics of *S. aureus* strains isolated from Urfa cheese samples sold in Istanbul and Şanlıurfa were determined. *S. aureus* strains isolated from cheese samples by using Baird Parker Agar containing egg yolk tellurite were tested for coagulase activity using rabbit blood plasma, DNase activity and methicillin resistance using DNase and Orsab agars. A total of 52 Urfa cheese samples were analyzed. Mean *S. aureus* load was 4.48±1.76 log cfu/g in 48 (92%) samples and only 25% of the samples were in good accordance with the limit imposed by the Turkish Food Codex. Of the 64 *S. aureus* isolates, 22 (34.4%) were coagulase positive, 31 (48.4%) were DNase positive, and 20 (31.25%) were resistant to methicillin. Results indicated that Urfa cheese samples may have high enterotoxin producing potential and methicillin resistant *S. aureus* isolates, so consumption of these cheeses could threat public health.

Keywords: Urfa cheese, *S. aureus*, Coagulase, DNase, Methicilin resistance

GİRİŞ

Peynir yüksek su içeriği, pH'sı ve içerdiği bileşiklerin çeşitliliği nedeniyle mikroorganizmaların gelişmesi için iyi bir kültür ortamı oluşturmaktadır [1]. Peynir teknolojisinde pastörizasyonun yapılmadığı veya yeterli olmadığı durumlarda *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Brucella*, *Yersinia* gibi patojenlerle kontaminasyon, sağlık açısından sorun oluşturabilmektedir [2, 3].

Staphylococcus aureus, dünyada gıda kaynaklı zehirlenme etkeni patojenlerin başında gelmektedir. *S. aureus* çevreden sık izole edilmekle birlikte doğal kaynağı insan olup, burun ve boğaz boşluğunu örten mukoz dokuda da yaygın olarak yer almaktadır. Deride, yüzde, ellerde, insan ve hayvan dışkılarında, özellikle iltihaplı yaralarda, çıban ve sivilcelerde yoğun olarak bulunmaktadır [4]. *S. aureus*, süt hayvanlarında da mastitis hastalığının en önemli etmenlerinden biri olarak rol oynamakta ve buna bağlı olarak mastitisli hayvan sütlerinde sıklıkla bulunmaktadır [5]. Stafilokok kaynaklı gıda zehirlenmelerine kontamine süt ve ürünlerinin, özellikle hijyenik olmayan koşullarda elde edilmiş çiğ sütlerden yapılmış peynirlerin tüketimi yol açmaktadır. *S. aureus*'un bazı suşları protein yapısında, ısıya dirençli, suda çözünebilen stafilokokal enterotoksinler üreterek gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. Enterotoksinler, *S. aureus*'un gıdalarda gelişimi süresince sentezlenmektedir [5, 6]. Enterotoksin üreten *S. aureus* suşlarında lesitinaz, koagülaz, termonükleaz ve DNaz enzim aktivitesi de bulunmaktadır [7-10]. Gıdalarda enterotoksijenik *S. aureus'* un varlığı ile ilgili ulusal ve uluslararası birçok araştırma bulunmaktadır [11-22].

Standart bir üretim yönteminin bulunmadığı belirtilen Urfa peyniri, genellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki köylerde geleneksel yöntemlerle ve ağırlıklı olarak çiğ inek, koyun ve keçi sütlerinden üretilmektedir. Bölgedeki hayvan hastalıklarının yaygınlığı, hijyenik olmayan ahır ortamı ve sağım koşulları ile ortam sıcaklığının yüksek olması gibi nedenlerle peynir yapımında düşük mikrobiyolojik kalitedeki çiğ sütlerin kullanılması, üretim sırasında hijyen kurallarına uyulmaması ve bu koşullarda üretilen peynirlerin taze olarak satışa sunulması halk sağlığı için sorun oluşturmaktadır [17, 23-28].

Antibiyotik direnci dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunudur [29]. Antibiyotiklerin insan ile hayvan hastalıklarında ve hayvan yetiştiriciliğinde yanlış kullanımı sonucu pek çok bakteri antibiyotiklere dirençli hale gelmiştir [30]. Son yıllarda gıdalardan izole edilen çoğu bakteriyel etkenin de antibiyotiğe artan oranda direnç gösterdiği belirtilmektedir [6].

Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının varlığı ilk olarak 1960'lı yıllarda bildirilmiştir. 1980'li yıllara kadar MRSA enfeksiyonları hastaneler ve öncelikli olarak da immun sistemi bastırılmış bireyler ile sınırlı olmuş, 1980'lerin sonu ve 1990'ların başından itibaren MRSA dünya çapında halk sağlığını ilgilendiren önemli bir enfeksiyon ajanı olarak tanınmıştır [31, 32]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi 2009 yılında gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda MRSA suşlarının tespitinin halk sağlığı açısından artan öneminin altını çizmiş, MRSA taşıyıcısı hayvan ve insanların ve ayrıca gıda ve çevrenin kontaminasyon durumunu belirleyici çalışmalar yapılmasını önermiştir [33, 34].

Bu çalışmada, İstanbul ve Şanlıurfa'da satışa sunulmuş Urfa peyniri örneklerinden izole edilen *S. aureus* suşlarında enterotoksin üretim potansiyelinin ortaya konulması açısından koagulaz ve DNaz enzim aktiviteleri ve suşların metisilin dirençlilik özellikleri değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma kapsamında, 2015 yılı Ağustos-Kasım ayları arasında İstanbul'daki marketlerden toplanan, 6'sı açıkta, 9'u ise ambalajda satılan toplam 15 adet ve Şanlıurfa'daki halk pazarı ve marketlerden toplanan, tümü açıkta satılan 37 adet Urfa peyniri örneği *S. aureus* varlığı yönüyle analiz edilmiştir. Peynir örneklerinin ağırlıklı olarak inek sütü kullanılarak ve salamurada üretildiği görülmüştür (Tablo 1). Peynir örnekleri Şanlıurfa ve İstanbul'da toplandıktan sonra buzdolabı koşullarında (+4°C) muhafaza edilerek laboratuvara ulaştırılıp kısa süre içerisinde mikrobiyolojik analize alınmıştır. Toplam 52 adet Urfa peyniri örneğinden elde edilen 64 adet tipik (n=24) ve atipik (n=40) özellikte *S. aureus* izolatı koagulaz ve DNaz enzim aktiviteleri ve suşların metisilin dirençlilik özellikleri yönüyle değerlendirilmiştir. Urfa peynir örneklerinden *S. aureus* izolasyonu amacıyla steril stomacher torbaları içine aseptik koşullarda 10'ar g tartılıp üzerine 90 mL steril serum fizyolojik (SF) eklenerek Stomacher (Interscience- BagMixer® 400) cihazında 1 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan dilüsyonlar yapılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan egg-yolk tellurit (Merck) içeren steril Baird Parker Agar (BPA, Fluka) besiyeri yüzeyine 0.1 mL aktarılarak Drigalski özesi yardımıyla yüzeye yayma yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan Petri kutuları 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda BPA besiyerinde oluşan siyah renkli ve etrafında berrak ve mat zon bulunan koloniler tipik *S. aureus,* siyah renkli ve etrafında zon olmayan koloniler ise atipik *S. aureus* olarak değerlendirilerek sayım alınmıştır [11]. BPA besiyerlerinde gelişen tipik ve atipik *S. aureus* kolonileri Tryptic Soy Agar (TSA, Merck) besiyerinde saflaştırılmış ve Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyeri içeren %30'luk gliserol içinde -20°C'de saklanmıştır. İzolatların tanımlanması amacıyla Gram boyama, katalaz testi ve mannitol fermentasyon testleri uygulanmıştır [11].

Koagülaz Testi

Urfa peynirinden izole edilen tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarına tüpte uygulanan koagülaz testi için, tüplere 1/5 oranında sulandırılan tavşan kan plazmasından (Bactident® Coagulase, Merck) 0.25 mL aktarılıp, Tryptic Soy broth besiyerinde 18-24 saat süreyle canlandırılan izolatlardan 0.05 mL miktarda ilave edilmiştir. Tüpler 37°C'de inkübasyona bırakılmış ve ilk

6 saat boyunca her saat koagülasyonun saptanması amacıyla kontrol edilmiştir. Koagülasyon saptanmayan tüplerin 24 saat daha inkübasyonu sürdürülmüş ve test sonucunda reaksiyon veren izolatlar koagülaz pozitif stafilokok olarak değerlendirilmiştir [35]. Bu testte pozitif kontrol amacıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu kullanılmıştır.

Tablo 1. Urfa peyniri örneklerinin illere ve niteliklerine göre dağılımı (adet/yüzde)

İller	Peynir örnekleri	Salamura	Taze	Koyun	İnek	Açıkta	Ambalajlı
Şanlıurfa	37 (%71)	26 (%70)	11 (%30)	4 (%11)	33 (%89)	37 (%100)	0 (%0)
İstanbul	15 (%29)	15 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	15 (%100)	6 (%40)	9 (%60)

DNaz Testi

DNaz aktivitesi özellikle koagülaz negatif reaksiyon veren *S. aureus*'ların patojenitelerinin tayinine yardımcı olmaktadır [36]. İzolatların patojenite potansiyellerinin doğrulanması amacıyla 24 saatlik aktif kültürlerden DNaz Test Agar (Merck) besiyerine inokülasyon gerçekleştirilmiş ve 37°C'de 24-48 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kolonilerin üzerine 1 mL HCl çözeltisi aktarılmış ve kolonilerin etrafında berrak zon oluşan izolatlar DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 1).

Metisilin Direnci Testi

Tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarının metisiline direnç özelliklerinin kontrolü amacıyla Orsab (Oxoid) Agar besiyerine izolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Petriler 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mavi koloni oluşturarak (Şekil 2) üreyen izolatlar metisiline dirençli olarak değerlendirilmiştir [37].

BULGULAR ve TARTIŞMA

Mastitise yol açması nedeniyle süt ve ürünlerinde sık görülen ve gıda kaynaklı intoksikasyon etkenlerden biri olan *S. aureus*'un gelişimi ve toksin oluşturması için uygun bir ortam olan peynirlerin istenmeyen koşullarda hazırlanması ve tüketime sunulması halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır [38, 39].

Çalışma kapsamında analiz edilen toplam 52 adet Urfa peyniri örneğinin 48'inde (%92) *S. aureus* üremesi gözlenmiştir. İstanbul'dan toplanan 15 adet peynir örneğinin 14'ünde (%93), Şanlıurfa'dan toplanan 37 örneğin ise 34'ünde (%92) tipik ve atipik özellikte *S. aureus* kolonileri tespit edilmiştir. Üreme görülen peynirlerdeki *S. aureus* yükünün ortalama 4.48±1.76 (2.0–7.3) log kob/g düzeyinde ve 7 adet peynir örneğinde ise 10^5 kob/g üzerinde üreme olduğu görülmüştür. Bu yüksek stafilokok yükünün analize alınan Urfa peyniri örneklerinin ağırlıklı olarak geleneksel yöntemlerle üretim yapılan Şanlıurfa'dan temin edilmesi ve peynirlerin üretiminde çiğ süt kullanılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Şahan ve ark. [20] tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada taze Urfa peynirlerinin %10'unda ortalama $3.1x10^3$ kob/g düzeyinde *S. aureus* saptanırken salamura Urfa peynirlerinde etkene rastlanmadığı görülmüştür. Bu durumun, tuzun mikroorganizmalar üzerindeki inhibe edici etkisinden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışmada ise analize alınan peynir örneklerinin ağırlıklı olarak salamura olmasına rağmen yüksek stafilokok yüküne sahip olması peynir yapımında kullanılan çiğ sütün mastitisli hayvanlardan elde edilmiş [39] ve etkenin tuz toleransının yüksek olabileceği olasılığını [40] akla getirmektedir. *S. aureus*'un tuza karşı yüksek tolerans gösterdiği, %10–20 düzeylerindeki tuz derişimlerinde de üreyebildiği, tuz miktarındaki artışın ortamdaki rekabetçi florayı da baskılayarak *S. aureus*'un gelişimini hızlandırabildiği bildirilmiştir [40]. Urfa peynirinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyusal özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada ise [17], 30 adet peynir örneğinin 7'sinde ortalama $1.3x10^3$ kob/g düzeyinde *S. aureus* tespit edilmiştir. Çalışmada peynir örneklerinin *S. aureus* yükünün fazla olmasının, peynirlerin çiğ sütten üretilmesinden ve üretim koşullarının ve/veya saklama koşullarının kötü olmasından kaynaklanabileceği vurgulanmıştır.

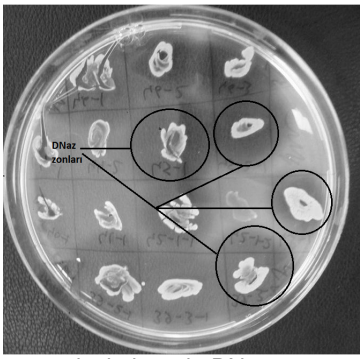
Urfa peyniri örneklerinden elde edilen toplam 64 adet *S. aureus* izolatının tümünün Gram pozitif ve mikroskobik incelemede tipik stafilokok (üzüm salkımı) görünümünde ve katalaz pozitif olduğu gözlenmiştir. Tipik (n=24) ve atipik (n=40) özellikteki izolatların 22'sinin (%34.4) koagülaz pozitif, 31'inin (%48.4) DNaz pozitif olduğu belirlenmiştir. Ayrıca izolatların 20'sinin (%31.25) metisiline karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Çalışmada atipik özellikteki izolatların arasında da koagulaz pozitif (n=8), DNaz pozitif (n=18) karakterde ve metisiline dirençli (n=10) izolatlar olduğu görülmüştür. (Tablo 3) (Şekil 1 ve Şekil 2). Ayrıca tipik özellikteki 6 adet ve atipik özellikteki 1 adet izolatın koagulaz ve DNaz pozitif reaksiyon gösterdiği, ayrıca metisiline dirençli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. *S. aureus* izolatlarına ait bazı biyokimyasal test sonuçlarının dağılımları (adet/yüzde)

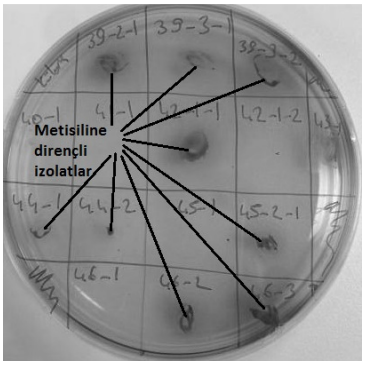
Testler	Pozitif izolat sayısı (%)	Negatif izolat sayısı (%)
Koagülaz	22 (34.37)	42 (65.62)
DNaz	32 (50)	32 (50)
Metisilin direnci	20 (31.25)	44 (68.75)

Tablo 3. Urfa peyniri kaynaklı tipik ve atipik *S. aureus* izolatlarının koagulaz, DNaz ve metisilin dirençlilik testlerindeki dağılımı

Tipik *S. aureus* İzolatları (n = 24)						Atipik *S. aureus* İzolatları (n = 40)					
Koagülaz		DNaz		Metisilin Direnci		Koagülaz		DNaz		Metisilin Direnci	
Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
14	10	14	10	10	14	8	32	18	22	10	30



Şekil 1. *S. aureus* izolatlarında DNaz test sonuçları



Şekil 2. *S. aureus* izolatlarında metisilin dirençlilik test sonuçları

Stafilokokal intoksikasyonun, enterotoksijenik stafilokokların üründe en az 10^5 kob/g-mL sayısına ulaşmasından sonra oluştuğu bilinmektedir [39, 41]. *S. aureus*'un bütün suşları enterotoksin oluşturmamakla birlikte, koagülaz pozitif stafilokokların enterotoksin üretme potansiyellerinin yüksek olduğu belirtilmektedir [42]. Bu çalışmada 7 örnekte 10^5 kob/g üzerinde *S. aureus* üremesi olmuş ve bu örneklerden izole edilen *S. aureus* suşları koagülaz pozitif bulunmuştur. Bu peynir örneklerinde tespit edilen *S. aureus*'ların enterotoksin üretme riski diğer örneklere göre daha yüksektir. Yapılan bir çalışmada Erzincan tulum peynirlerinde enterotoksijenik *Staphylococccus* bulunmazken, enterotoksin varlığı saptanmıştır. Peynirde düşük sayılarda *S. aureus* olması veya hiç saptanamamasının bu ürünlerde toksin olmadığı anlamına gelmediği, bu nedenle süt ve ürünlerinin *S. aureus* kaynaklı zehirlenmeler açısından risk taşımaması için toksin bulunmaması gerektiği bildirilmiştir. Peynirde *S. aureus* varlığı peynirin düşük mikrobiyolojik kalitesini göstermesinin yanı sıra halk sağlığı için de potansiyel bir tehlikeye işaret etmektedir [43].

Bu çalışmada Urfa peyniri örneklerinden elde edilen stafilokok izolatlarının %34'ünün koagulaz pozitif olduğu görülmüştür. Bu durumun peynirlerin üretildiği süte mastitisli sütlerin karışması ya da sütün meme, sağım işlemi, personel ve çevresel kaynaklar ile kontamine olmuş olabileceğini düşündürmektedir [44]. Urfa peynirlerinde mevsimsel ve hijyenik koşullardan dolayı mikrobiyal kontaminasyonun yaygın olduğu ve yerel pazarlardan toplanan Urfa peyniri örneklerinde önemli oranda *Escherichia coli* ve *S. aureus* kontaminasyonu görüldüğü belirtilmiştir [45]. Şanlurfa'da farklı marketlerden toplanan 11 adet Urfa peynirinin mikrobiyal kalitesinin peynirlerin olgunlaşması süresince (7., 30. ve 60. günlerde) incelendiği bir başka çalışmada ise peynir örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin iyi olmadığı ancak olgunlaşma sürecinin mikrobiyolojik kaliteyi olumlu etkilediği sonucuna varılmış ve Urfa peynirinin tüketilmesinin halk sağlığı açısından risk oluşturduğu belirtilmiştir [18]. Şanlıurfa'da satışa sunulan taze Urfa peyniri örneklerinin %62.5'inde ortalama $4.2x10^3$ kob/g düzeyinde *Staphylococcus* spp. belirlendiği, bu örneklerin bir kısmında *S. aureus* tespit edildiği ve salamura edilmiş peynir örneklerinin 5-6 ay süreyle soğuk hava depolarında bekletmenin mikrobiyal kaliteyi olumlu etkilediği ifade edilmiştir [19].

Bu çalışmada Urfa peyniri kaynaklı stafilokok izolatlarının %31'inde DNaz aktivitesi, %10.2'sinde ise hem koagulaz hem DNaz aktivitesi tespit edilmiştir. *S. aureus*'ların koagülaz ve DNaz enzim üretimleri arasında sıkı bir ilişki olduğu belirtilmektedir. DNaz aktivitesinin belirlenmesi patojenik stafilokokların normal flora üyelerinden ayrılmasında önem taşımaktadır. DNaz pozitif izolatlar, *S. aureus*'ların patojenite tanımında etkili olup, sağlık için tehdit oluşturduğu belirtilmektedir [46].

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde peynirlerde koagülaz pozitif *S. aureus* düzeyi 10^2-10^3 kob/g aralığında verilmiştir [47]. Bu çalışmada analize alınan 52 adet peynir örneğinin sadece 13 (%25) tanesinin bu kriterlere uygunluk gösterdiği belirlenmiştir.

Ayrıca çalışma kapsamında değerlendirilen Urfa peyniri kaynaklı *S. aureus* izolatlarında metisiline dirençli suşlar tespit edilmiştir. Son yıllarda sıkça karşılaşılan MRSA'ların taşınımında gıda kaynaklı bulaşmalar önemli rol oynamaktadır [48]. İtalya'da yapılan bir çalışmada hayvansal kaynaklı gıdalardan elde edilen *S. aureus* izolatlarının içinde metisiline dirençli suşlar saptanmıştır [11]. Ulusal ve uluslararası literaturde Urfa peyniri kaynaklı *S. aureus* izolatlarında metisilin dirençliliğinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmasa da geleneksel peynir kaynaklı izolatlarda metisilin direncinin yaygınlığına ilişkin yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır [49, 50]. Bu çalışmalardan birinde Erzincan'dan alınan tulum peynir örneklerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının %14.7'sinde oksasilin-

metisilin dirençliliği tespit edilmiştir. Erzincan tulum peynirinin *S. aureus* ile kontaminasyon oranının yüksek olması ve izolatların antibiyotik dirençliliği göz önünde bulundurulduğunda halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği ifade edilmiştir [49]. Bir başka çalışmada çiğ süt, peynir ve peynir altı suyundan oluşan toplam 81 örnekten izole edilen 40 adet *S. aureus* suşunun %15'inin oksasillin-metisilin direncine sahip olduğu saptanmıştır. Çiğ sütteki stafilokok varlığının halk sağlığı için sorun oluşturması nedeniyle pastörize edilmemiş süt ile yapılan tüm ürünlerin üretim, depolama ve ticarileştirilmesi sürecinde denetimlerin çok dikkatli yapılması gerektiği belirtilmiştir [50].

SONUÇ

Çalışmada ağırlıklı olarak çiğ sütten geleneksel yöntemlerle üretilen Urfa peynirlerinden elde edilen *S. aureus* izolatlarının birçoğunun enterotoksin üretme potansiyelinde olan koagülaz pozitif ve DNaz pozitif özellikte ve ayrıca metisiline dirençli oldukları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda halk sağlığını tehdit eden bu peynirlerin tüketilmesinin riskli olduğu, geleneksel yöntemle veya endüstriyel olarak Urfa peynirlerinin üretiminde mutlaka sağlıklı hayvanlardan elde edilen çiğ sütün tercihen pastörize edilerek kullanılması, üretim aşamasında meydana gelebilecek çapraz kontaminasyonları ve depolama ve satış aşamalarında soğuk zincirin kırılmasını önlemeye yönelik tedbirler alınması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Aguilar, C.E.G., Rossi Junior, O.D., Vidal, A.M.C., Ribeiro, L.F., Rossi, G.A.M., 2016. Microbial quality of industrial and retail market grated parmesan cheese in the State of São Paulo, Brazil. *Ciência Rural* 46(12): 2257-2263.

[2] Donely, C.W., 1990. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods. *Journal of Dairy Science* 5(73): 16661-1656.

[3] Guzman-Hernandez, R., Contreras-Rodriguez, A., Hernandez-Velez R., Perez-Martinez I., Lopez-Merino, A., Zaidi, M.B., Estrada-Garcia, T., 2016. Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* spp., non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: a public health risk. *International Journal of Food Microbiology* 237: 10-16.

[4] Castro, A., Santos, C., Meireles, H., Silva, J., Teixeira, P., 2016. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *Journal of Infection and Public Health* 9: 153-160.

[5] Kümmel, J., Stessl, B., Gonano, M., Walcher, G., Bereuter, O., Fricker, M., Ehling-Schulz, M., 2016. *Staphylococcus aureus* entrance into the dairy chain: tracking *S. aureus* from dairy cow to cheese. *Frontiers in Microbiology* 7: 1-11.

[6] Can, H.Y., Çelik, T.H., 2012. Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant *S. aureus* in Turkish cheeses. *Food Control* 24: 100-103.

[7] Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1999. Gıda Güvenliği, Mikrobiyolojik Kriterler ve Hızlı Mikrobiyolojik Yöntemler. In Gıda Mikrobiyolojisi, Editör A. Ünlütürk, F. Turantaş, Meta Basım, Bornova, İzmir, 583s.

[8] Hu, Y., Meng, J., Shia, C., Hervin, K., Fratamico, P.M., Shi, X., 2013. Characterization and comparative analysis of a second thermonuclease from *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research* 168: 174-182.

[9] Subathra Devi, C., Mohanasrinivasan, V., Subramaniam, V., Parashar, M., Vaishnavi, B., Jemimah Naine, S., 2016. Molecular characterization and potential assessment of extracellular DNase producing *Staphylococcus aureus* VITSV4 isolated from bovine milk. *Iranian Journal of Science and Technology Transactions A: Science* 40: 191-199.

[10] Bogdanovicova, K., Necidova, L., Harustiakova, D., Janstova, B., 2017. Milk powder risk assessment with *Staphylococcus aureus* toxigenic strains. *Food Control* 73: 2-7.

[11] Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., 2005. Coagulase-positive resistant staphylococci and *S. aureus* in food products marketed in Italy. *International Journal of Food Microbiology* 98: 79-73.

[12] Atanassova, V., Meindl, A., Ring, C., 2001. Prevalence of *S. aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham a comparison of classical culturing detection and RFLP - PCR. *Journal of Food Protection* 63: 1153-1144.

[13] Vitale, M., Scatassa, M., Cardamone, C., Oliveri, G., Piraino, C., Alduina, R., 2015. Staphylococcal food poisoning case and molecular analysis of toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food in Sicily, Italy. *Foodborne Pathogens and Disease* 12(1): 23-21.

[14] Zhang, Z., Liu, W., Xu, H., Aguilar, Z. P., Shah, N. P., Wei, H., 2015. Propidium monoazide combined with real-time PCR for selective detection of viable *Staphylococcus aureus* in milk powder and meat products. *Journal of Dairy Science* 98(3):1633-1625.

[15] Tekinşen, K.K., Elmalı, M., 2006. Taze Civil (Çeçil) peynirin bazı mikrobiyolojik özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 1(3-4): 78-81.

[16] Öksüztepe, G., Patır, B., Dikici, A., İlhak, O.İ., 2009. Elazığ'da tüketime sunulan vakum paketli taze kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 23(2): 89-94.

[17] Yetişmeyen, A., Yıldız, F., 2003. Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyusal niteliklerinin saptanması. *Gıda* 28(3): 294-287.

[18] Uraz, G., Coşkun, S., Özer, B., 2008. Microflora and pathogen bacteria (*Salmonella, Klebsiella Yersinia, Pseudomonas, Aeromonas, Esherichia coli, Staphylococcus aureus*) in Urfa cheese (A traditional white-brined Turkish cheese). *Pakistan Journal of Nutrition* 7(5): 635-630.

[19] Yaşar, F., 2007. Şanlıurfa'da satışa sunulan taze, tuzlu ve beyaz peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa.

[20] Şahan, N., Var, I., Akın, S.M., 1998. Taze Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve bazı bakterilerin aranması. *V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, 21-22 Mayıs, Tekirdağ, MPM Yayınları, No: 621, 315-327.

[21] Suzuki, Y., Matsushita, S., Kubota, H., Kobayashi, M., Murauchi, K., Higuchi, Y., Kato, R., Hirai A., Sadamasu, K., 2016. Identification and functional activity of a staphylocoagulase type XI variant originating from staphylococcal food poisoning isolates. *Letters in Applied Microbiology* 63: 172-177.

[22] Macori, G., Bellio, A., Bianchi, D.M., Gallina, S., Adriano, D., Zuccon, F., Chiesa, F., Acutis, P.L., Casalinuovo, F., Decastelli, L., 2016. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolate responsible for staphylococcal poisoning incident in homemade food. *Italian Journal of Food Safety* 5: 116-120.

[23] Sert, S., Kıvanç, M., 1984. Erzurum piyasasında taze olarak tüketime sunulan beyaz peynirlerin kaliteleri üzerinde bir araştırma. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 15: 79-89.

[24] Akın, M.S., Şahan, N., 1998. Şanlıurfa'da üretilen taze Urfa Peynirlerinin Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Geleneksel Süt Ürünleri).* Tekirdağ 282-296.

[25] Kirmaci, H.A., 2016. Effect of wild strains used as starter cultures on free fatty acid profile of Urfa cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 66(4): 303-310.

[26] Özer, H.B., Atasoy, A.F., Akın, M.S., 1999. Pastörizasyon ve haşlama işlemlerinin geleneksel Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine etkileri. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 7(3): 83-77.

[27] Özer, H.B., Atasoy, A.F., Akın, M.S., 2002. İnek ve koyun sütlerinden geleneksel yöntemle üretilen Urfa peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Gıda* 27(5): 325-331.

[28] Yalçın, S., Ardıç, M., Nizamlıoğlu, M., 2007. Urfa peynirinin bazı kalite nitelikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2(3): 95-90.

[29] Hwang, I.Y., Koh, E., Kim, H.R., Yew, W.S., Chang, M.W., 2016. Reprogrammable microbial cell-based therapeutics against antibiotic-resistant bacteria. *Drug Resistance Updates* 27: 59–71.

[30] Cabello, F.C., Godfrey, H.P., 2016. Even therapeutic antimicrobial use in animal husbandry may generate environmental hazards to human health. *Environmental Microbiology* 18(2): 311–313.

[31] Doulgeraki, A.I., Di Ciccio, P., Ianieri, A., Nychas G.J.E., 2016. Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology* 168(1): 1-15.

[32] Basanisi, M.G., La Bella, G., Nobili, G., Franconieri, I., La Salandra G., 2017. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. *Food Microbiology* 62: 141–146.

[33] EFSA., 2009. Assessment of the public health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods - scientific opinion of the panel on biological hazards. *EFSA Journal* 993: 1-73.

[34] Carfora, V., Caprioli, A., Marri, N., Sagrafoli, D., Boselli, C., Giacinti, G., Giangolini, G., Sorbara, L., Dottarelli, S., Battisti, A., Amatiste, S., 2015. Enterotoxin genes, enterotoxin production, and methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk and dairy products in Central Italy. Short communication. *International Dairy Journal* 42: 12-15.

[35] Temiz, A., 2010. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Hatiboğlu Yayınevi 5. Baskı, Ankara.

[36] Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P., Woods, G., 2006. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Lippincott Williams & Wilkins, UK.

[37] Perry, J.D., Davies, A., Butterworth, L.A., Hopley, A.L.J., Nicholson, A., Gould, F.K., 2004. Development and evaluation of a chromogenic agar medium for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 42(10): 4519-4523.

[38] Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L., Dragacci, S., 2012. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews* 36(4): 836-815.

[39] Martin, J.G.P., Silva, G.O., Fonseca, C.R., Morales, C.B., Silva, C.S.P., Miquelluti, D.L., Portoa, E., 2016. Efficiency of a cleaning protocol for the removal of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains in dairy plants. *International Journal of Food Microbiology* 238: 295–301.

[40] Yıldırım, T., Sırıken, B., Yavuz, C., 2016. Çiğ süt ve peynirlerde koagulaz pozitif stafilokoklar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 87(2): 3–12.

[41] Demirel, N.N., Karapınar, M., 2004. Incidence of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxins in various cheeses sold at retail markets of Izmir City. *Akademik Gıda* 2(10): 25-27.

[42] Veras, J.F., Do Carmo, L.S., Tong, L. C., Shupp, J W., Cummings, C., Dos Santos, D.A., Cerqueira, M.M.O.P., Cantini, A., Nicoli, J.R., Jett, M., 2008. A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil. *International Journal of Infectious Diseases* 12: 410-415.

[43] Dığrak, M, Yılmaz, Ö, Çelik, S, Özçelik, S., 1996. Elazığ'da satışa sunulan taze beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesi ve yağ asitleri analizi. *Turkish Journal of Biology* 20: 221-230.

[44] Evrensel, S.S., Temelli, S., Anar, Ş., 2003. Mandıra düzeyindeki işletmelerde beyaz peynir üretiminde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi. *Turkish*

Journal of Veterinary and Animal Science 8(2): 35-34.

[45] Ozer, H.B., Uraz, G., Beyzi-Yilmaz, E., Atasoy A.F., 2004. The effects of brine concentration and scalding on survival of some pathogens in urfa cheese: a traditional white-brined turkish cheese. *International Journal of Food Science and Technology* 39: 727–735.

[46] Devriese, L. A., Oeding, P., 1975. Coagulase and heat resistant nuclease producing *Staphylococcus epidermidis* strains from animals. *Journal of Applied Bacteriology* 39: 207-197.

[47] Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. 29.12.2011 Sayı: 28157. Ankara. http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm

[48] Gündoğan, N., Ataol, Ö., 2012. Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 69(3): 135-142.

[49] Özpınar, N., 2011. Erzincan tulum peynirinden izole edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında antibiyotik direncinin ve biyofilm oluşturma özelliğinin fenotipik ve genotipik olarak belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

[50] Bendahou, A., Lebbadi, M., Ennanei, L., Essadqui, F.Z., Abid, M., 2008. Characterization of *Staphylococcus* species isolated from raw milk and milk products (lben and jben) in North Morocco. *Journal of Infection in Developing Countries* 2(3): 225-218.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 36-42, DOI: 10.24323/akademik-gida.305776

Araştırma Makalesi / Research Paper

Fındık, Zeytin ve Pamuk Yağlarında Peroksit Oluşum Kinetiği

Sema Kaya, Emre Bakkalbaşı, İsa Cavidoğlu ✉

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van

Geliş Tarihi (Received): 10.07.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 31.03.2017
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): isacavidoglu@yyu.edu.tr (İ. Cavidoğlu)*
0 432 444 50 65 / 21152 0 432 225 17 30

ÖZ

Bu çalışmada hızlandırılmış oksidasyon koşullarında (45, 60 ve 75°C sıcaklık, 1 mL/s hızında hava akımı) ticari fındık, pamuk ve zeytinyağı örneklerinde peroksit oluşumu araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan fındık ve zeytinyağlarının yağ asidi kompozisyonları analizinde yüksek düzeyde oleik asit içerdiği, pamuk yağının ise palmitik ve linoleik asit açısından zengin olduğu saptanmıştır. Fındık, pamuk ve zeytin yağlarının toplam tokoferol içeriklerinin ise sırasıyla, 101.14, 232.7 ve 37.93 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Verilerin kinetik değerlendirilmesi, sıcaklık artışıyla peroksit oluşumunun 0. dereceden reaksiyona yaklaştığını ve reaksiyon hız sabitinin artış gösterdiğini ortaya koymaktadır. Fındık, zeytin ve pamuk yağlarında peroksit oluşumu için gerekli aktivasyon enerjisi değerleri sırasıyla, 83.02, 80.85 ve 105.90 kJ/mol ve frekans faktörü değerleri sırasıyla, $3.98x10^{12}$, $2.52x10^{12}$ ve $2.91x10^{16}$ h^{-1} olarak saptanmıştır. Çalışmada kullanılan yağlar arasında pamuk yağının peroksit oluşumu için en yüksek aktivasyon enerjisine gereksinim duyduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yağ asidi bileşimi, Tokoferol, Oksidasyon, Peroksit sayısı, Aktivasyon enerjisi

Kinetics of Peroxide Formation in Hazelnut, Olive and Cottonseed Oils

ABSTRACT

In this study, peroxide formation in hazelnut, olive and cottonseed oils was determined under accelerated oxidation conditions (45, 60 and 75°C, 1 mL/s air flow velocity). While hazelnut and olive oils had high oleic acid contents, cottonseed was high in palmitic and linoleic acid contents. Total tocopherol contents of hazelnut, cottonseed and olive oils were 101.14, 232.7 and 37.93 mg/kg, respectively. The kinetic analysis of data showed that reaction order approached to zero with an increase in temperature, and reaction rate constants increased. The activation energies and frequency factors of hazelnut, olive, and cottonseed oils for peroxide formation were 83.02, 80.85 and 105.90 kJ/mol and $3.98x10^{12}$, $2.52x10^{12}$ and $2.91x10^{16}$ h^{-1}, respectively. Among studied oils, cottonseed oil had a higher activation energy value for peroxide formation.

Keywords: Fatty acid composition, Tocopherol, Oxidation, Peroxide value, Activation energy

GİRİŞ

Doğrudan tüketimi yanında, birçok gıdanın hazırlanmasında ve formülasyonunda kullanılan bitkisel yağların fiziksel, duyusal ve besleyici özellikleri hidroliz, oksidasyon, polimerizasyon ve izomerizasyon gibi çeşitli reaksiyonlar sonucunda olumsuz yönde etkilenmektedir [1]. Bu reaksiyonlar içinde oksidasyon, yağların kalite ve beslenme değerini olumsuz yönde etkileyerek istenmeyen tat ve kokunun oluşmasına neden olan en önemli bozulma reaksiyonlarındandır [2]. Sıcaklık, ısıya maruz kalma süresi, oksijenin varlığı, bulunduğu ambalajın yapısı, doymamışlık düzeyi, anti- ve pro-oksidanların varlığı gibi etmenler yağlardaki oksidasyon reaksiyonlarını etkileyen önemli faktörlerdir [3]. Oksidasyonun başlangıç mekanizmasında genellikle bir

radikal oluşumu yer alır ve oluşan serbest radikaller oksijen ile tepkimeye girerek peroksit ve hidroperoksitleri oluştururlar. Peroksitler daha sonra acılaşmaya ve toksisiteye neden olan alkoller, ketonlar, aldehitler ve karboksilik asitlere dönüşürler [4]. Yağların oksidatif stabilitesi veya yağlarda oksidasyonun gelişimi peroksit sayısı, tiyobarbiturik asit (TBA), anisidin ve hegzanal değerleri gibi çeşitli parametreler ile belirlenir. Peroksit sayısı yağların birincil oksidasyon ürünlerini belirlerken, TBA, anisidin ve hegzanal değerleri oksidasyonun ikincil ürünlerini temsil etmektedir [5, 6]. Yağlarda oksidasyonun birincil ve ikincil ürünlerinin oluşumu tespit edilerek yağların oksidatif stabiliteleri belirlenmektedir. Farklı yağların oksidatif stabilitelerinin göreceli olarak değerlendirilmesi için Schaal hızlandırılmış oksidasyon yöntemi yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde yağ örnekleri etüvde oda sıcaklığının üzerindeki bir sıcaklıkta belli bir süre tutularak yağ örneğinde oksidasyonun birincil ve ikincil ürünlerinin oluşumu izlenmek suretiyle yağların oksidatif stabilitesi değerlendirilmektedir [7]. Sıcaklık ile farklı oksidasyon ürünleri arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere bazı kinetik parametrelerden de yararlanılmaktadır. Kinetik analiz sonucu elde edilen veriler yağların ısıl işlem, depolama ve dağıtımı sırasındaki oksiadtif stabilitelerini belirlemek üzere kullanılmaktadır [2]. Gomez-Alonso ve ark. [8], Schaal yöntemini uygulayarak (25, 40, 50, 60 ve 75°C) zeytin yağında peroksit oluşumu için aktivasyon enerjisini 32.1 kJ/mol olarak saptamışlardır. Basturk ve ark. [9] kimyasal interesterifikasyonun pamuk, palm ve soya yağlarının oksidatif stabiliteleri üzerine etkisini saptamak üzere Schaal yöntemi ile yaptıkları çalışmada, peroksit ve anisidin oluşumunun reaksiyon derecelerinin sıcaklığa bağlı olarak değiştiğini, interesterifiye edilmiş örneklerin reaksiyon hız sabitlerinin interesterifiye edilmemiş örneklerden daha düşük olduğunu ve sonuç olarak interesterifiye edilmiş örneklerin daha stabil olduklarını saptamışlardır. Farhoosh ve ark. [7], Ransimat yöntemi uygulayarak kanola, soya, ayçiçeği, mısırözü ve zeytinyağlarının farklı sıcaklıklardaki oksidatif stabiliteleri ile ilgili kinetik analizlerini gerçekleştirerek bu yağlar için frekans faktörü ve aktivasyon enerjisinin sırasıyla, $6.38x10^3$ ile $28.03x10^3$ h^{-1} ve 86.86 ile 92.42 kJ/mol arasında değiştiğini saptamışlardır.

Bu çalışmada fındık, zeytin ve pamuk yağlarının yağ asidi dağılımları, tokoferol ve toplam karoten içerikleri belirlenmiştir. Ayrıca yağlar 45, 60 ve 75°C'de hava akımına maruz bırakılarak 32 saat süresince hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulmuş ve yağlarda birincil oksidasyon ürünü olan peroksit değerlerinin oluşumu izlenerek, kinetik parametreleri (reaksiyon derecesi ve reaksiyonun hız sabiti) ile aktivasyon enerjisi ve frekans faktörü değerleri hesaplanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan rafine fındık, rafine pamuk ve sızma zeytinyağları Van ilinde bulunan marketlerden üretim tarihinin başlangıcında olan taze örneklerden temin edilmiştir. Araştırmada bilimsel hassasiyeti sağlayacak saflıkta ve nitelikte kimyasal maddeler ve çözücüler (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır.

Metot

Yağ Asidi Bileşiminin Belirlenmesi

Yağ asitleri gaz kromotografisi (GC) ile tanımlanmıştır. Yağ asidi metil esterleri IUPAC Method No 2.301'e göre hazırlanmıştır [10]. Yağ asidi metil esterlerinin belirlenmesinde alev iyonizasyon dedektörüne sahip Agilent 6890 model gaz kromotografisi cihazı kullanılmıştır. Kromatografik ayrım için DB-23 (30m x 0.25mm x 0.25 µm, Agilent Technologies, J&W Scientific, ABD) kolon kullanılmıştır. Enjeksiyon'da 1/20 split oranı uygulanırken, taşıyıcı gaz olarak He (2.0 mL/dakika), H_2 (45 mL/dakika) ve hava (450 mL/dakika) kullanılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 250°C; kolon sıcaklığı, 120°C'de 5 dakika, 15°C/dakika hızla 250°C'ye ve 250°C'de 15 dakika; dedektör sıcaklığı 260°C olarak ayarlanmıştır.

Karoten ve Tokoferol Tayini

Yaklaşık 1 g örnek cam tüpe konulup, sabunlaştırma için 1.25 mL %60 KOH ve pyrogallol (3:10 etanol) eklenmiş ve 30 dakika 70°C'de su banyosunda tutulmuştur. Daha sonra içerik soğutulup 7 mL %5'lik NaCl ve 5 mL hekzan ilave edilerek karanlıkta 30 dakika buz dolu kap içerisinde tutulmuştur. Süre sonunda üst faz ayrılmış alt faza tekrar hekzan ilave edilerek işlem iki kez daha tekrarlanmıştır. Üst fazlardan toplanan hekzan 65°C'de azot gazı akışı altında uzaklaştırılmıştır. Kalıntı diklorometan:metanol (1:1 v/v) ile çözülmüş ve Shimadzu marka LC-20 AD pompa, SIL-20A HT otosampler ve CTO-10AS VP kolon fırınından oluşan HPLC sistemine (Shimadzu, Kyoto, Japonya) enjekte edilmiştir.

Tokoferol analizleri için ekstrakttan 20 µL alınıp HPLC sistemine enjekte edilmiştir. 3-µ C18 (15 cm x 4.6 mm, Spherisorb ODS2, Phase Separation, Clwyd, UK) kolon ve mobil faz olarak metanol-distile su (97:3, v/v) kullanılarak izokratik akışta (1.05 mL/dakika) ayırım gerçekleştirilmiştir. Kromatogramlar floresan dedektörde (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 295 nm ekstinksiyon ve 330 nm emisyon ile elde edilmiştir [11].

Toplam karoten miktarının tespiti ise aynı ekstraktın 10 µL'sinin HPLC sistemine injeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayrım için Spherisorb S5NH2 (25 cm x 4.6 mm ve 5-µ; Phase Separation, Clwyd, Birleşik Krallık) kolonu ve 1.5 mL/min akış hızında metanol/su (97:3) mobil fazı kullanılmıştır. Toplam karoten 445 nm dalga boyunda tek bir pik olarak diod array-dedektörü ile tespit edilmiş ve toplam karoten miktarı lutein eşdeğeri olarak hesaplanmıştır [12].

Yağların Oksidatif Tepkimelerinin Hızlandırılması

Çalışmada kullanılan fındık, pamuk ve zeytinyağları hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulmuştur. Bu amaçla içinden 1 mL/s hava akımı geçirilen yağlar 32 saat boyunca 45, 60 ve 75°C'deki su banyolarında tutulmuş

ve 2 saat aralıklarla örneklerin peroksit sayıları ölçülmüştür.

Peroksit Sayısı Tayini

Beklenen peroksit sayısına göre yeterli miktarda tartılmış örnek üzerine 30 mL asetik asit-kloroform çözeltisinden (3:2) eklenerek örnekler çözündürülmüştür. Çözeltiye 0.5 mL doymuş potasyum iyodür çözeltisi eklenerek erlenin ağzı sıkıca kapatılıp, 1 dakika süreyle çözelti karıştırılmıştır. Karanlıkta 10 dakika bekletildikten sonra 30 mL saf su ve 1 mL %1'lik nişasta çözeltisi eklenerek, 0.1 N veya 0.01 N sodyum tiyosülfat çözeltisi ile titrasyon gerçekleştirilip peroksit sayısı hesaplanmıştır [13].

Peroksit Oluşumunun Kinetiği

Yağ ihtiva eden sistemlerde farklı iç ve dış etmenler, oksidasyonun oldukça karmaşık reaksiyonlar şeklinde gerçekleşmesine neden olmaktadır. Bütün bu karmaşık reaksiyonlara rağmen, çok yüksek derecelerde sıcaklık uygulanmadığı durumlarda yağların oksidatif stabilitelerinin belirlenmesinde, genelde birincil oksidasyon ürünü olan peroksit sayısı testi kullanılmaktadır. Bu çalışmada 45, 60 ve 75°C'de 1mL/s hava akımı altında 32 saat süreyle hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulan fındık, zeytin ve pamuk yağlarında 2 saatlik zaman aralıklarında peroksit sayısı tespit edilmiştir. Her bir yağ çeşidinde belirlenen koşullardaki peroksit oluşum hızları, indüksiyon dönemimin bitiminden sonraki verilerin değerlendirilmesi ile Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\frac{dC}{dt} = k.C^n \quad (1)$$

Eşitlik 1'deki "*C*" oluşan bileşik konsantrasyonunu ve "*t*" birim zamanı ifade etmektedir. Eşitlik 1'i doğrusallaştırmak üzere eşitliğin her iki tarafının doğal logaritması alınarak Eşitlik 2 türetilmiştir.

$$\ln\left(\frac{dC}{dt}\right) = \ln\left(k.C^n\right) \quad (2)$$

Eşitlik 2 düzenlenerek y = ax + b doğrusal denklemine benzer şekilde Eşitlik 3 elde edilmiştir.

$$\ln\left(\frac{dC}{dt}\right) = \ln k + n \ln C \quad (3)$$

Eşitlik 3'teki "*n*" değeri doğrusal grafiğin eğiminden ve "*k*" değeri ise doğrunun y-eksenini kestiği noktanın ters logaritması alınarak bulunmuştur. "*n*" değeri reaksiyon derecesini ifade etmektedir ve reaksiyon hızı ile konsantrasyon (*C*) arasındaki ilişkiyi tanımlamaktadır. Reaksiyona giren maddenin konsantrasyonundaki değişme hızına hız sabiti denir ve "*k*" harfi ile ifade edilir.

Her bir koşulda bekletilen yağ örneklerinde peroksitlerin oluşması için gerekli en düşük enerji miktarını (aktivasyon enerjisi = *Ea*) saptamak için *Arrhenius* eşitliğinden (Eşitlik 4) faydalanılmıştır.

$$k = Ae^{-\left(\frac{E_a}{RT}\right)} \quad (4)$$

Arrhenius eşitliğinin doğrusallaştırılması için yine eşitliğin her iki tarafının doğal logaritması alındığında eşitlik 5 elde edilir.

$$\ln k = \ln A + \left(-E_a / RT\right) \quad (5)$$

T mutlak sıcaklığı ifade etmektedir. Buna göre 1/T'ye karşı ln*k* grafiğe geçirilerek yağ örneklerinde peroksit oluşumu için gerekli aktivasyon enerjisi değeri hesaplanmıştır. y= ax + b doğrusal denklemine benzer şekilde elde edilen grafiğin eğimini (-*Ea/R*); doğrunun y eksenini kestiği nokta ise ln(*A*)'yı vermektedir (*A*=frekans faktörü). *R* değeri 8.314 J/mol.K olarak alınmıştır [14].

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan bitkisel yağlara ait yağ asidi dağılımları ve yağların tokoferol ve toplam karoten içerikleri Tablo 1'de verilmektedir. Zeytinyağı, yüksek oleik asit (C18:1) içeriğiyle bilinmesine karşın, fındık yağının zeytinyağına göre yaklaşık %10 düzeyinde daha yüksek oleik asit içerdiği tespit edilmiştir. Pamuk yağı ise diğer yağlara oranla yüksek oranda palmitik asit (C16:0) ve linoleik asit (C18:2) içeriği ile dikkat çekmektedir. Bir yağın besinsel değerini belirlemede Doymuş yağ asitleri/Doymamış yağ asitleri oranı (DOY/DOYM) en sık kullanılan parametrelerden biridir. DOY/DOYM oranı düşük olan yağların yağ asidi içeriği açısından sağlık üzerine daha faydalı olduğu bildirilmektedir [15]. Çalışmada kullanılan fındık yağının düşük palmitik asit, yüksek oleik ve linoleik asit içeriği ile diğer yağlardan daha düşük DOY/DOYM oranına sahip olduğu ve bu açıdan fındık yağının pamuk ve zeytinyağından daha üstün niteliklere sahip olduğu ifade edilebilir. Bu çalışmada zeytin yağının yağ asidi dağılımı için elde edilen veriler Gunstone [16], tarafından bildirilen zeytin yağlarının yağ asidi dağılımları ile uyumlu iken, fındık yağı için bu çalışmada tespit edilen oleik ve linoleik asit oranları Gunstone'un [16] fındık yağı için bildirdiği oleik asit değerinden (%76.4) yüksek ve linoleik asit değerinden (%16.3) düşük bulunmuştur. Çalışmada belirlenen pamuk yağının yağ asidi dağılımı ise Kamal-Eldin ve Andersson'un [17] bildirdiği değerler ile uyumludur. Çalışmada kullanılan fındık, pamuk ve zeytin yağının α- ve γ- tokoferol içerikleri ise sırasıyla, 89.85 ve 11.29 mg/kg, 159.47 ve 73.23 mg/kg ve 35.6 ve 2.33 mg/kg olarak bulunmuştur. Kornsteiner ve ark. [18], fındık yağının α- β- ve γ- tokoferol içeriklerinin sırasıyla, 157-421, 43-94 ve 1-3 mg/kg yağ arasında değiştiğini saptamışlardır. Gunstone [16] ham zeytin yağının α- ve γ- tokoferol içeriğinin sırasıyla, 93 ve 7.0 mg/kg yağ olduğunu belirtmiştir. Ranalli ve ark. [19] farklı yöntemlerle elde edilen natürel zeytinyağlarının α- ve γ-tokoferol içeriklerini sırasıyla, 74.5-125.2 mg/kg yağ ve 0.1-0.3 mg/kg yağ arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Gunstone [16] ham pamuk yağının α-, β-, γ- ve δ-

tokoferol içeriklerini sırasıyla 573, 40, 317 ve 10 mg/kg olarak bildirmiştir. Çalışmada fındık yağı için elde edilen tokoferol sonuçları literatürde verilen değerlerden yüksek iken zeytin ve pamuk yağı için tespit edilen değerler literatürde bildirilen değerlerden düşük bulunmuştur. Çalışmada kullanılan yağların toplam karoten içeriklerinin ise düşük ve birbirine yakın olduğu saptanmıştır. Kornsteiner ve ark. [18], fındık yağında β-karoten saptanamadığını belirtirken, Ranalli ve ark. [19], natürel zeytinyağının β-karoten içeriğinin 0.65-1.29 mg/kg yağ arasında olduğunu bildirmişlerdir. Yağların yağ asidi ve antioksidan bileşimi toprak, iklim, çeşit, uygulanan tarım teknikleri ve işleme koşullarına bağlı olarak değiştiği bilinmektedir [20].

Tablo 1. Yağların yağ asidi, tokoferol ve karoten içerikleri

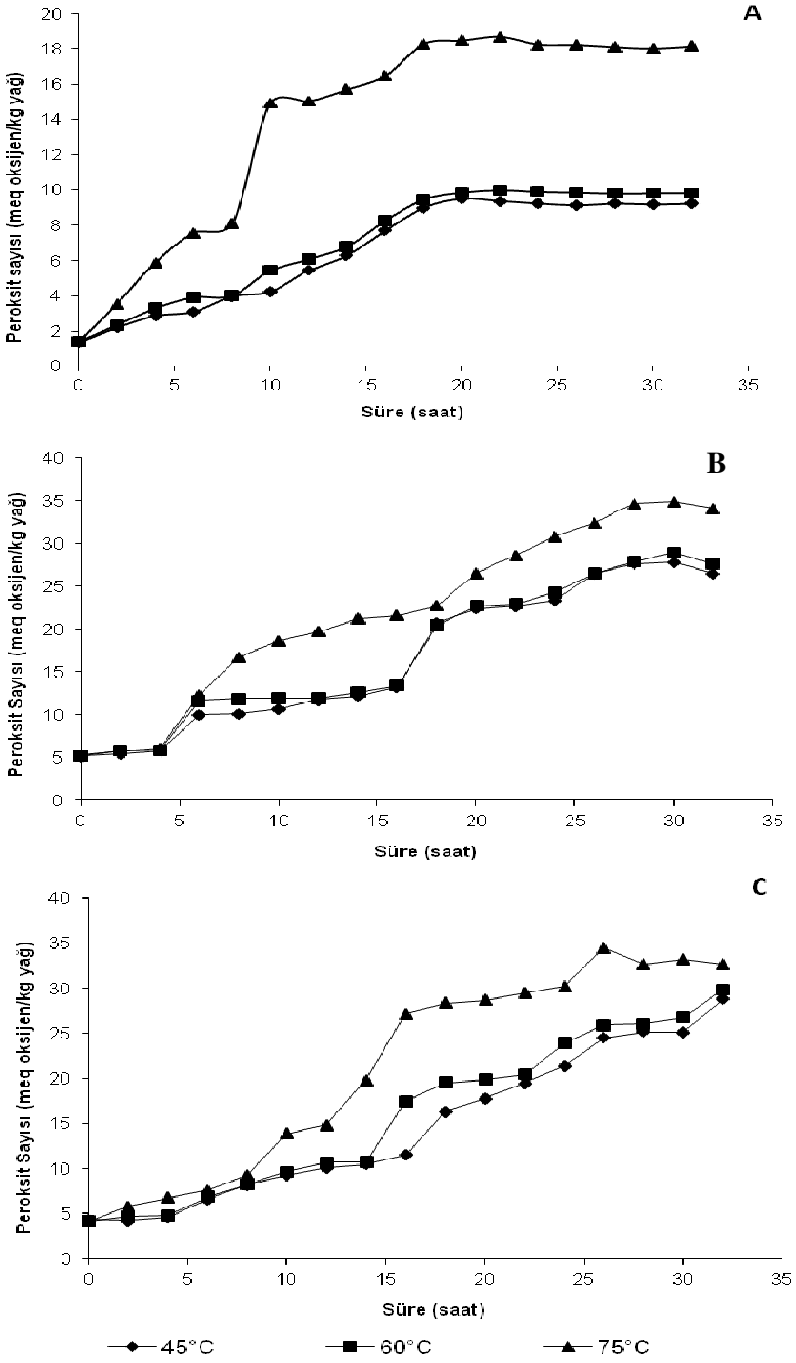
Bileşim	Fındık Yağı	Zeytinyağı	Pamuk Yağı
Yağ Asitleri (%)			
C14:0 (miristik asit)	-	-	0.70
C16:0 (palmitik asit)	4.79	12.2	21.21
C16:1 (palmitoleik asit)	-	0.8	0.50
C18:0 (stearik asit)	2.35	3.3	2.40
C18:1 (oleik asit)	82.14	73.5	18.71
C18:2 (linoleik asit)	10.71	9.9	56.22
DOY/DOYM	0.08	0.18	0.32
Tokoferol (mg/kg)			
α-tokoferol	89.85	35.6	159.47
γ-tokoferol	11.29	2.33	73.23
Toplam Tokoferol	101.14	37.93	232.7
Toplam Karoten (mg/kg)	0.32	0.30	0.34

Peroksit Sayısı

Hidroperoksitler oksidasyonun birincil ürünleri olup peroksit sayısı bunların derişimi hakkında bilgi vermektedir. Hidroperoksitler, yağ oksidasyonunun geçiş ara bileşenleridir ve bunların parçalanması, yağ oksidasyonunun dallanma reaksiyonlarının başlamasını ve hızlanmasını tetikleyen serbest radikallerin oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle peroksit sayısı, özellikle depolanan yağlarda en önemli kalite kriterleri arasında yer almaktadır [21]. Fındık yağı örneklerinin peroksit içerikleri 20. saate kadar düzenli bir artış gösterirken, zeytinyağı örnekleri 30. saate kadar belirgin bir artış, bu saatten sonra düşüş göstermişlerdir (Şekil 1). Pamuk yağında ise 32 saat boyunca peroksit değeri sürekli bir artış eğilimindedir. Çalışma süresince zeytin ve pamuk yağlarında maksimum peroksit değerleri yaklaşık 35 meq O_2/kg yağ düzeyine ulaşmıştır. Fındık yağında ise ulaşılan maksimum peroksit sayısı 18.67 meq O_2 /kg yağ olmasına karşılık başlangıç değerine göre en yüksek artış bu yağda (75°C'de 12.9 kat) görülmüştür. 45 ve 60°C'de tutulan fındık, zeytin ve pamuk yağlarının peroksit sayıları yakın bir düzeyde seyrederken, 75°C'de tutulan örneklerin peroksit sayıları daha yüksek bulunmuştur.

Peroksit Oluşumunun Kinetik Değerlendirilmesi

Belirlenen oksidasyon koşullarına maruz bırakılan yağlarının peroksit sayılarının doğrudan değerlendirilmesi bu yağların oksidatif stabiliteleri ile ilgili yeterli bilgi vermemektedir. Peroksit sayıları dikkate alındığında en düşük değer fındık yağında görülmesine karşın (Şekil 1) en yüksek peroksit oluşum hızının fındık yağında olduğu saptanmıştır. 75°C'de tutulan fındık, zeytin ve pamuk yağı örneklerinin 32 saatlik hızlandırılmış oksidasyonu sonunda peroksit sayıları sırasıyla, 12.9, 6.5 ve 7.8 kat artış göstermiştir. Reaksiyon oluşum hızının doğru yorumlanması için verilerin kinetik değerlendirmeye tabii tutulması gerekmektedir. Çalışmada kullanılan yağların oksidatif stabilitelerini reaksiyon kinetiği açısından irdelemek üzere kinetik parametreler hesaplanmıştır (Tablo 2). Çalışmada kullanılan bitkisel yağlarda peroksit oluşum reaksiyonu 45°C'de birinci dereceye yakınken sıcaklık arttıkça reaksiyonun sıfırıncı dereceden reaksiyon basamağına yaklaştığı belirlenmiştir. Benzer durum farklı sıcaklıklarda 21 gün süreyle hızlandırılmış oksidasyona tabi tutulan pamuk, palm ve soya yağlarında birincil (peroksit sayısı) ve ikincil (anisidin sayısı) oksidasyon ürünlerinin oluşum kinetiği hesaplamalarında da tespit edilmiştir [9]. Bu durum, sıcaklık artışıyla reaksiyon hızı üzerinde reaksiyona giren maddelerin derişiminden çok reaksiyon hız sabitinin etkili olmaya başladığını göstermektedir ve reaksiyon hız sabiti de doğrudan sıcaklıktan etkilenmektedir. Labuza ve Bergquist [22] peroksit radikali ve hidroperoksitlerin oluşumu için oksijenin serbest radikal ile bağlanması aşamasında oksijen tüketiminin sıfırıncı dereceden bir reaksiyon olduğunu bildirmiştir. Tüm yağların reaksiyon hız sabitleri sıcaklık arttıkça artmıştır (Tablo 2). 45-60°C'ler arasında reaksiyon hız sabitlerinde az bir artış yaşanırken, 60-75°C'ler arasındaki artışın daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmada ayrıca Arrhenius eşitliği yardımıyla yağlarda peroksit oluşumu için aktivasyon enerjisi değerleri hesaplanmıştır. Aktivasyon enerjisi reaksiyonun gerçekleşmesi için moleküllerin sahip olması gereken minimum enerji seviyesini göstermektedir ve bu değer reaksiyon mekanizması değişmediği sürece sabittir [23]. Sistemde antioksidan varlığı, çeşidi ve miktarı, oksijenin kısmi basıncı, yağ asitlerinin doymamışlık düzeyi ve diğer birçok faktör reaksiyon mekanizmasını ve dolayısıyla aktivasyon enerjisini etkilemektedir. Yağ oksidasyon ürünü için artan aktivasyon enerjisi düzeyi yağlarda oksidasyona karşı direnç artışını göstermektedir [24, 25].



Şekil 1. Yağlarda peroksit sayısı değişimi (A-Fındık yağı, B-Zeytin yağı, C-Pamuk yağı)

Bu çalışmada peroksit oluşumu için fındık, zeytin ve pamuk yağlarında aktivasyon enerjisi değerleri sırasıyla, 83.02, 80.85 ve 105.90 kJ/mol olarak hesaplanırken, frekans faktörleri sırasıyla, $3.98x10^{12}$, $2.52x10^{12}$ ve $2.91x10^{16}$ h^{-1} olarak belirlenmiştir. Yağ örnekleri için hesaplanan frekans faktörü değerleri, hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri ile benzer değişim göstermiştir. Peroksit oluşumuna karşı dayanaklı olma durumuna göre örnekler arasında en dayanıklı olan pamuk yağı, en az dayanıklı olanın ise zeytinyağı olduğu gözlenmiştir. Yağların aktivasyon enerjileri arasındaki farklılık, yağların içerdiği doymuş yağ asitleri oranı ve antioksidan bileşimindeki değişim ile önemli bir paralellik göstermektedir. Yağ asitlerinde doymamışlığın fazlalığı yağ oksidasyonunda aktivasyon enerjisini düşürdüğü, doymuşluk oranının ise yükselttiği bilinmektedir [24]. Pamuk yağının diğer yağlara oranla daha yüksek çoklu doymamış yağ asidi ve daha düşük oleik asit içermesine karşın yüksek aktivasyon enerjisine sahip olması pamuk yağının, fındık yağından 2 ve zeytinyağından ise 6 kat daha fazla tokoferol içermesi ve aynı zamanda fındık yağından 4 ve zeytinyağından

yaklaşık 2 kat daha yüksek düzeyde palmitik asit içeriğine sahip olması ile açıklanabilir. Genel olarak yağ oksidasyonu için gerekli aktivasyon enerjisi değerlerinin 63 ile 89 kJ/mol arasında değiştiği bildirilmiştir [24]. Bu çalışmada fındık ve zeytinyağları için tespit edilen aktivasyon enerjisi değerleri belirtilen aralıkta bulunurken, pamuk yağında hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri bildirilen değer aralığından daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, pamuk yağının yüksek doymuş yağ asidi ve antioksidan içeriğinden kaynaklanabilir.

Tablo 2. Yağlarda peroksit oluşumuna ait hız sabitleri (*k*), reaksiyon dereceleri (*n*) ve aktivasyon enerjileri (*Ea*)

Yağ Çeşidi	*k*			*n*			*Ea*	*A*
	45°C	60°C	75°C	45°C	60°C	75°C	(kj/mol)	(h^{-1})
Fındık	0.12	0.22	1.80	0.81	0.41	0.31	83.02	$3.98x10^{12}$
Zeytin	0.19	0.25	2.70	0.57	0.44	0.32	80.85	$2.52x10^{12}$
Pamuk	0.13	0.56	4.18	0.74	0.21	0.40	105.90	$2.91x10^{16}$

SONUÇ

Oksidasyon yağların en önemli bozulma reaksiyonları olup, hidroperoksitler bu oksidasyonun birincil ürünleridir. Yağların peroksit sayısı üzerine birçok faktör etki etmesine karşın, doymamış yağ asitlerinin miktarı ve doymamışlık düzeyleri ile antioksidanların niteliği ve niceliği en önemli etmenlerdir. Çalışmada pamuk yağında peroksitlerin oluşumu için gerekli aktivasyon enerjisinin zeytin ve fındık yağlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum pamuk yağının diğer iki yağ çeşidine oranla daha yüksek tokoferol ve palmitik asit içeriğine sahip olması ile ilişkilendirilmiştir. Sonuçlar, peroksit oluşumuna karşı pamuk yağının fındık ve zeytinyağından daha dirençli olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

[1] Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, M.C., Gomez, J.A., Huertas, J.R., Mataix, J., 2002. Role of vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of virgin olive, olive and sunflower oils after frying. *Food Chemistry* 76(4): 461-468.

[2] Tan, C.P., Che Man, Y.B., Selamat, J., Yusoff, M.S.A., 2002. Comparative study of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index method. *Food Chemistry* 76: 385-389.

[3] Andrikopoulus, N.K., Kalogeropoulus, N., Falirea, A., Barbagianni, M.N., 2002. Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *International Journal of Food Science and Technology* 37(2): 177-190.

[4] Kayahan, M., 2003. Yağ Kimyası. 1. Basım, ODTÜ Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 220 s.

[5] Shahidi, F., Wanasundara, U.N., 2002. Methods For Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. In *Food Lipids-Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Edited by C.C. Akoh and D.B. Min, 2 nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp. 465-487.

[6] Mao, J., Zhang, H., Luo, J., Li, L., Zhao, R., Zhang, R., Liu, G., 2006. New method for HPLC separation and fluorescence detection of malonaldehyde in normal human plasma. *Journal of Chromatography B* 832: 103-108.

[7] Farhoosh, R., Niazmand, R., Rezaei, M., Sarabi, M., 2008. Kinetic parameter determination of vegetable oil oxidation under Rancimat test conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology* 110: 587-592.

[8] Gomez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D., Fregapane, G., 2004. Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25-75°C). *European Journal of Lipid Science and Technology* 106: 369-375.

[9] Basturk, A., Javidipour, I., Boyaci, I.H., 2007. Oxidative stability of natural and chemically interesterified cottonseed, palm and soybean oils. *Journal of Food Lipids* 14: 170-188.

[10] IUPAC, 1991. Preparation of the fatty acid methyl esters (method no. 2.301). In *Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, 7th ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, Great Britain.

[11] Surai, P.F., Noble, R.C., Speake, B.K., 1996. Tissue-specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. *Biochimica et Biophysica Acta* 1304(1): 1–10.

[12] Karadas, F., Wood, N.A.R., Surai, P.F., Sparks, N.H.C., 2005. Tissue-specific distribution of carotenoids and vitamin E in tissues of newly hatched chicks from various avian species. *Comperative Biochemistry and Physiology Part A* 140(4): 506–511.

[13] AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

[14] Fogler, H.S., 2005. Elements of Chemical Reaction Engineering. 4th ed., Pearson Education Inc., Massachusettes, USA.

[15] Tsanev, R., Russeva, A., Rizov, T., Dontcheva, I., 1998. Content of trans fatty acids in edible margarines. *Journal of American Oil Chemists' Society* 75: 143-145.

[16] Gunstone, F.D., 1995. Chemical Properties. In *Lipid Handbook*, Edited by F.D. Gunstone, J.L. Harwood, F.B. Padley, Chapman & Hall, London, United Kingdom, pp. 561-604.

[17] Kamal-Eldin, A., Anderson, R., 1997. A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils. *Journal of American Oil Chemists' Society* 74(4): 375-380.

[18] Kornsteiner, M., Wagner, K.H., Elmadfa, I., 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut

types. *Food Chemistry* 98: 381-387.

[19] Ranalli, A., Paolo, C., Iannucci, E., Contento, S., 2001. Lipochromes, vitamins, aromas and other components of virgin olive oil are affected by processing technology. *Food Chemistry* 73: 445-451.

[20] Özrenk, K., Javidipour, I., Yarilgac, T., Balta, F., Gündoğdu, M., 2012. Fatty acids, tocopherols, selenium and total carotene of pistachios (*P.* vera L.) from Diyarbakır (Southestern Turkey) and walnuts (*J. regia* L.) from Erzincan (Eastern Turkey). *Food Science and Technology International* 18(1): 55-62.

[21] Hamilton, R.J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F.B., Pierce, H., 1997. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry* 60: 193-199.

[22] Labuza, T.P., Bergquist, S., 1983. Lipid oxidation of potato chips stored under a fluctuating sine wave temperature. *Journal of Food Science* 48: 712–721.

[23] Özkan, M., Cemeroğlu, B., Toklucu, A.K., 2010. Gıda Mühendisliğinde Reaksiyon Kinetiği. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları (No:42), Bizim Gurup Basımevi, Ankara, Türkiye, 174s.

[24] Adhvaryu, A., Erhan, S.Z., Liu, Z.S., Perez, J.M., 2000. Oxidation kinetic studies of oils derived from unmodified and genetically modified vegetables using pressurized differential scanning calorimetry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Thermochimica Acta* 364: 87-97.

[25] Piedrahita, A.M., Peñaloza, J., Cogollo, A., Rojano, B.A., 2015. Kinetic study of the oxidative degradation of choibá oil (*Dipteryx oleifera* Benth.) with addition of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food and Nutrition Sciences* 6: 466-479.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 43-50, DOI: 10.24323/akademik-gida.305779

Araştırma Makalesi / Research Paper

Farklı Yoğurt ve Yem Tüketiminin Ratlarda Serum Kolesterol Seviyesine Etkisi

Nizam Mustafa Nizamlıoğlu[1], ✉, Nihat Akın[2]

[1]Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Karaman
[2]Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya

Geliş Tarihi (Received): 25.03.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 15.08.2016
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): munizam@kmu.edu.tr (N.M. Nizamlıoğlu)*
0 338 226 2177 0 338 226 2166

ÖZ

Araştırmada kolesterolce zenginleştirilmiş yemle beslenen ratların kan serumlarındaki toplam kolesterol, HDL-kolesterol LDL-kolesterol ve trigliserit düzeyleri üzerine farklı yoğurt örneklerinin etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Serum toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit seviyeleri üzerine yoğurt ve asidofilus yoğurdun etkileri üç hafta boyunca beş farklı diyetle beslenen ratlarda incelenmiştir. *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} ile üretilen pastörize probiyotik yoğurt ve pastörize olmayan probiyotik yoğurtlar karşılaştırıldığında, bu laktik asit bakterisi suşunun kolesterol üzerine birinci haftada azaltıcı bir etkisi olduğu belirlenmiş (sırasıyla 124.00±9.89 mg/dL ve 58.5±9.19 mg/dL), ancak üçüncü hafta sonunda yoğurt tüketimine bağlı olarak bu etki azalmış ve kontrol grubuna (66.5±2.12 mg/dL) yakın sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek HDL-kolesterol oranları ikinci ve üçüncü haftalarda (sırasıyla 44.00±4.20 mg/dL ve 43.50±2.12 mg/dL) probiyotik yoğurt tüketen rat örneklerinde belirlenmiştir. Gruplar arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür. En düşük LDL-kolesterol oranları her üç haftada da probiyotik yoğurt tüketen ratlarda (sırasıyla 7.20±4.24 mg/dL, 13.80±2.83 mg/dL, 12.70±1.56 mg/dL) elde edilmiştir. Yoğurt örnekleri ile beslenen ratlarda trigliserit seviyesi üçüncü hafta sonunda kontrol grubundan daha düşük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Kolesterol, Yoğurt, Probiyotik, Trigliserit

Effect of Different Yogurt and Feed Consumption on Serum Cholesterol Levels in Rats

ABSTRACT

In this study, the effect of different yoghurt samples on the total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride levels in the blood serum of rats fed cholesterol-enriched diets were determined. Effect of yoghurt and acidophilus yoghurt on serum total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglyceride were studied in rats fed five different diets for three weeks. Pasteurized probiotic yoghurt produced with *L.acidophilus johnsonii* and non-pasteurized probiotic yoghurts were compared. Compared with non-pasteurized probiotic yogurt, lactic acid bacterial strain in pasteurized probiotic yogurt produced by *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} had a reducing effect on cholesterol in the first week (respectively 124.0±9.89 mg/dL and 58.5±9.19 mg/dL); however, this effect decreased depending on the consumption of yoghurt and then results became close with control group at the end of the third week (66.5±2.12 mg/dL). The highest HDL-cholesterol rates were determined in rats consuming probiotic yoghurts in the second and third week (respectively 44.0±4.20 mg/dL and 43.5±2.12 mg/dL). The difference between groups was insignificant. The lowest LDL-cholesterol levels were found in rats consuming probiotic yoghurt samples all three weeks (respectively 7.2±4.24 mg/dL, 13.8±2.83 mg/dL, 12.7±1.56 mg/dL). Triglyceride levels of rats fed with yoghurt samples were lower than those of the control groups at the end of the third week.

Keywords: Cholesterol, Yogurt, Probiotic, Triglyceride

GİRİŞ

Kolesterol; hayvanlar aleminde tüm canlıların hücre membranlarında bulunan ve insan metabolizmasında önemli rol oynayan organik bir maddedir. Safra asitleri ile cinsiyet ve adrenalin hormonları gibi bazı steroid hormonların biyosentezinde kolesterolün gerekliliği ifade edilmektedir [1-3]. Ancak kandaki kolesterol miktarının artması organizmada bazı rahatsızlıklara yol açmaktadır. Fazla miktarda süt yağı ve hayvansal yağ tüketimi ile bağlantılı olduğu düşünülen yüksek kolesterol düzeyinin koroner kalp hastalığını teşvik eden temel faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. Hastalık riski, düşük yoğunluklu lipoproteinlerden (LDL-kolesterol) kaynaklanan kolesterol oranına bağlı olarak artarken, yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL-kolesterol)'den kaynaklanan kolesterolün kalp rahatsızlığı ile negatif bir korelasyon gösterdiği belirlenmiştir [1, 4-9].

Vücut kolesterolünün yarısı sentez yoluyla meydana gelirken (yaklaşık, 500mg/gün) geri kalanı normal diyetten sağlanır. Toplam sentezin %50'sinden karaciğer, %15'inden bağırsaklar ve geri kalan büyük bir bölümünden de deri sorumludur. İnsanlarda toplam plazma kolesterolü yaklaşık 5.2 mmol/L'dir. Vücuttan atılan kolesterolün yarısı safra asitlerine çevrildikten sonra dışkı ile dışarı atılırken, geri kalanı nötral steroitler halinde atılır. Dışkı içinde kaybolan miktara eş değer miktarda safra asidi, karaciğer tarafından kolesterolden sentezlenir. İnsanlarda diyet içinde bulunan kolesterol miktarını azaltmak yolu ile plazma kolesterolünü düşürmek üzere yapılan girişimler değişik sonuçlar vermiştir. Genel olarak, diyetle alınan kolesterolde 100mg'lik bir azalma yaklaşık kan serum kolesterolünde litrede 0.13 mmol'lük bir azalışa neden olmaktadır [10-12].

Bazı literatürlerde yoğurdun serum kolesterolü üzerine tutarsız bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Çeşitli kaynaklarda yoğurt ve fermantasyonda kullanılan çeşitli bakteri türlerinde hiperkolesterolemik bileşenlerin seviyelerinde farklılık olabileceği belirtilmektedir [3, 8, 13]. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delberukii subsp. bulgaricus* yoğurt kültürlerinde, her bir türün pek çok cinsi olup her bir tür farklı özellik göstermektedir [14, 15].

Fermente süt mamullerinin kan serumundaki kolesterol seviyesi üzerine farklı etki göstermesi sebebinin üretimde kullanılan bakteri suşlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu konuda bağırsak mikroflorasının serum kolesterol düzeyini etkilediği, özelliklede bazı *Lactobacillus acidophilus* suşlarının kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [2, 16-17].

Bu çalışmanın amacı insanlarda kalp damar hastalığı riskini arttırmada önemli bir etken olan yüksek serum kolesterol konsantrasyonunun önlenmesinde yağlı yoğurt ve probiyotik yoğurdun etkisini belirlemektir. Bu amaçla kolesterolce zenginleştirilmiş yemle beslenen ratların kanlarındaki toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit düzeyleri üzerine farklı yoğurt örneklerinin etkisi karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada deney hayvanı olarak kullanılan ratlar Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Çalışmada ortalama ağırlığı 207 ± 25 g olan 8 haftalık 30 adet beyaz erkek rat kullanılmıştır.

Deney hayvanlarına verilen standart yem Korkutelim Yem Gıda San ve Tic. A.Ş.'den (Antalya) temin edilmiştir. Standart yemin bileşimi Tablo 1 deki gibidir.

Tablo 1. Standart yemin bileşimi

Ham kül (%)	7.9
Ham selüloz (%)	6.0
Ham yağ (%)	4.7
Protein (%)	24.0
Ca (%)	1.15
Toplam fosfor (%)	1.0
Lisin (%)	1.2
Metionin (%)	0.6
Metionin+Sistin (%)	0.7
Na (%)	0.3
Metabolik enerji (kcal/kg)	2718

Hayvan yeminin bileşimine ilave edilen kolesterol Sigma A.Ş.'den (Ankara) temin edilmiştir. Yoğurt yapımında kullanılan yoğurt kültürleri (*S.thermophilus* ve *L.bulgaricus*) ve asidofiluslu yoğurt yapımında kullanılan kültür (*L. acidophilus jonsonii* L_{a1}) Peyma Chr's Hansen A.Ş. (İstanbul) temin edilmiş ve bu ürünlerin üretimi Şeker Süt A.Ş. Konya Süt işletmesinde yapılmıştır.

Ratların beslenmesinde kullanılan yem materyalleri şu şekildedir: Standart yemle beslenen ratlar her grupta 6 adet rat olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Ratlar %50±5 nisbi nemli ve 20±2°C sıcaklıktaki bir odadaki metal kafesler içerisine yerleştirilmiştir. Standart yemin bileşimine %0.5 oranında kolesterol ilave edilerek kolesterolce zengin standart yem hazırlanmıştır. Beş gruba ayrılmış olan ratlar, Tablo 2'de verilen kolesterollü yem ve farklı yoğurt çeşitleri ile 21 gün (3 hafta) süresince beslenmişlerdir. Gruplara ayrılmış ratların yem ve yoğurt tüketimleri her gün düzenli bir şekilde takip edilmiştir. Ratların kolesterollü yem ve farklı yoğurt çeşitlerini düzenli ve dengeli bir şekilde tükettikleri gözlenmiştir.

Ratların beslenmesinde kontrol grubu ratlara su verilip, diğer gruplara ise su yerine taze olarak hazırlanan fermente süt ürünü yoğurtlar (birim rat başına yaklaşık 55 g/gün) verilmiştir. Fermente süt ürünü örneklerinde asitlik (pH ve SH), yağ, kuru madde analizleri ile maya-küf, toplam bakteri ve laktik asit bakterileri sayımı yapılmıştır.

Tablo 2. Kolesterollü yem ve farklı yoğurt çeşitleri ile beslenen rat grupları

%0.5 kolesterollü standart yem + Su (KY+S)
%0.5 kolesterollü standart yem + Pastörize yoğurt (KY+PaY)
%0.5 kolesterollü standart yem + Yağlı yoğurt (KY+Y)
%0.5 kolesterollü standart yem + Pastörize probiyotik yoğurt (KY+PaPrY)
%0.5 kolesterollü standart yem + Probiyotik yoğurt (KY+PrY)

Her grupta 7, 14 ve 21. günlerin sonunda tesadüfi olarak 2 adet rat seçilerek ketalar enjekte edilip anestezi edilmiştir. Ratların kuyruğunun ventral arterisinden kan örnekleri alındıktan sonra (4 mL) steril tüpler içine konulmuş ve 5000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Elde edilen bu kan serumlarında bu araştırmanın konusu olan toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit analizleri yapılmıştır. Analizler Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Metot

Ratların Beslenmesinde Kullanılan Yoğurt Örneklerinin Yapılması

3 günde bir hazırlanan yoğurt örnekleri için çiğ inek sütü (%10 kuru madde) 90°C 10 dakika ısıl işleme tabi tutulduktan sonra iki kısma ayrılmıştır. Birinci kısım 45°C'ye soğutularak sıvı yoğurt kültürü ile (*S. thermophilus + L. bulgaricus*) %3 oranında aşılanıp 42°C'de, 2. kısım ise 40°C'ye soğutularak *S. thermophilus* ve *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} kültürü ile (her ikisinden de %1 oranında) aşılanıp 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. pH 4.7'de inkübasyondan alınan yoğurt örnekleri soğulmuş ve + 4°C muhafaza edilerek tüketime hazır hale getirilmiştir. Yoğurt örnekleri her seferinde altışar kg olarak hazırlanmıştır. Yoğurt örneklerinin üçer kg'ı soğutma işleminden sonra su banyosunda 65°C'de 30 dakika pastörize edilmiş ve +4°C'de muhafaza edilerek tüketime hazır hale getirilmiştir.

Yoğurt örneklerinin kimyasal analizleri

Yoğurt örneklerinin pH değerleri pH metrede (Cyberscan 10^{pH}) 25±1°C'de belirlenmiştir [18]. Örneklerin titrasyon asitliği (% laktik asit), kurumadde (%) ve yağ içeriği (%) (Gerber metoduna göre) TS1330'da belirtilen metoda göre belirlenmiştir [19].

Yoğurt örneklerinin mikrobiyolojik analizleri

Mikroorganizmaların gramında koloni oluşturan birim sayısı (kob/g) dökme plak metodu ile saptanmıştır. İnkübasyon sonunda 30 ile 300 arasında koloni içeren petrilerdeki koloniler sayılmış ve seyreltme katsayısı dikkate alınmak sureti ile değerlendirilmiştir [20].

Ratların Kan Serumunda Toplam Kolesterol, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol Ve Trigliserit Düzeylerinin Belirlenmesi

Hazırlanan yemle beslenen ratlardan 7, 14 ve 21. günlerde her gruptan 2 adet rat rastgele belirlenmiş kanları alınmış ve alınan kanlar santrifüj edildikten (5000 devir/dakika) sonra serumlar –80°C'de muhafaza edilmiştir. Serumlarda toplam kolesterol ve HDL-kolesterol enzimatik yöntemle (CHOD-PAP metod) ve trigliserit (GPOPAP metot) ile Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Almanya'dan temin edilen test kitleri ile analiz edilmiştir [21].

Toplam kolesterol tayininde 0.02 mL serum örneği üzerine 2 mL test kiti çözeltisi (Tris buffer; 100 mmol/L, pH 7,7; Mg^{2}+ : 50 mmol/L; 4-aminofenazon: 1 mmol/L; sodyum şolat; 10 mmol/L; fenol: 6 mmol/L; 3,4-diklorofenol: 4mmol/L; yağlı alkol poliglikol eter: %0.3; kolesterol esteraz ≥ 0.4 U7mL; kolesterol oksidaz ≥ 0.25 U/mL; peroksidaz ≥ 0.2 U/mL) konarak 20-25°C de 10 dakika bekletildikten sonra, spektrofotometrede Hg 546 nm dalga boyundaki absorbansı test kiti çözeltisi ile hazırlanan kontrole karşı okunmuştur. Sonuç aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kolesterol (mg/dL)} = 853 \times A \quad (1)$$

HDL-kolesterol, 200 µL serum örneği 500 µL çöktürücü (Fosfotungustik asit: 0.44 mmol/L;magnezyum klorit: 20 mmol/L) ile 400 devir/dakikada santrifüj edildikten sonra üstte ayrılan kısımdan serum örneğinde kolesterol tayininde olduğu gibi yapılmış ve sonuç aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{HDL-kolesterol (mg/dL)} = 325.1 \times A \quad (2)$$

Trigliserit tayininde 0.02 mL serum örneği üzerine 2 mL test kiti çözeltisi (ATP ≥ 0.5 mmol/L; 4-aminofenazon: 0.35 mmol/L; lipaz ≥ 3 U/mL; gliserolfosfat oksidaz ≥ 2.5 U/mL; gliserol kinaz 0.2 U/mL; peroksidaz ≥ 0.15 U/mL; 4-klorofenol: 3.5 mmol/L) konarak, 20-25°C de 10 dakika bekletildikten sonra aynı dalga boyundaki absorbansı aynı çözelti ile hazırlanan kontrole karşı okunmuştur. Sonuç aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Trigliserit (mg/dL)} = 1040 \times A \quad (3)$$

LDL-kolesterol miktarı ise diğer verilenlerden yararlanmak suretiyle Friedewald eşitliğine göre şu şekilde [21];

$$\text{LDL-kolesterol} = \text{Serum kolesterol} - (\text{HDL-kolesterol} + \text{Trigliserit} / 5) \quad (4)$$

İstatistik analizler

Verilerin istatistiksel analizi Minitab V.16 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler faktöriyel deneme deseninde Varyans analiz tekniği (Minitab, 1991) ile değerlendirilmiştir. Guruplar arasındaki farklılıklar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testliyle tespit edilmiştir [22].

ARAŞTIRMA BULGARI ve TARTIŞMA

Çalışmada iki günde bir taze olarak hazırlanan yoğurt örneklerinde yapılan asitlik (pH ve SH), yağ, kuru madde, toplam bakteri, küf-maya ve laktik asit bakterilerinin analiz sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Yoğurt Örneklerinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Yoğurt Örnekleri	Asitlik		Yağ (%)	Kuru Madde (%)	Toplam Bakteri (kob/g)	Küf-Maya (kob/g)	Laktik Asit Bakterileri (kob/g)
	pH	SH					
Yağlı Yoğurt	4.5 ± 0.2	50.0 ± 2.7	5.4 ± 0.2	17.3 ± 1.2	180 ± 3.54	<10	190 ± 3.22
Pastörize Yağlı Yoğurt	4.5 ± 0.2	50.0 ± 2.7	5.4 ± 0.2	17.3 ± 1.2	30 ± 5.66	<10	<30 ± 2.65
Probiyotik Yoğurt	4.3 ± 0.2	46.7 ± 1.5	3.9 ± 0.3	16.5 ± 1.3	80 ± 2.83	<10	120 ± 3.06
Pastörize Probiyotik Yoğurt	4.3 ± 0.2	46.7 ± 1.5	3.9 ± 0.3	16.5 ± 1.3	20 ± 4.24	<10	<1

Tablo 3'te görüldüğü gibi laktik asit bakteri sayım sonuçlarına göre pastörize ürünlerdeki laktik asit bakterileri inhibe olduğu edilmiştir. Bu sonuçlara göre, laktik asit bakterilerinin toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit üzerine etkileri pastörize ve pastörize edilmemiş ürünlerde incelenmiştir.

Toplam Kolesterol, HDL-Kolesterol LDL-Kolesterol ve Trigliserit Miktarları

Hazırlanan özel yemlerle beslenen ratlardan 7., 14. ve 21. günlerde alınan kan örneklerinin toplam kolesterol, HDL-Kolesterol, LDL-Kolesterol ve trigliserit düzeylerine ait istatistik analiz sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde haftalara göre toplam kolesterol düzeyinde bir artış görülmüştür. Bu artış istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Toplam kolesterol düzeyi kolesterollü yem + yoğurt örneklerine ve hafta* kolesterollü yem + yoğurt örneğine göre interaksiyonları istatistiki açıdan çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur.

Birinci haftada en yüksek toplam kolesterol seviyesi pastörize probiyotik yoğurt örneklerinde 124.00±9.89 mg/dL olarak belirlenmiştir. Patörize edilmemiş probiyotik yoğurt örneklerinde ise toplam kolesterol seviyesi 58.50±9.19 mg/dL olarak belirlenmiştir. Bu sonuç probiyotik bakteri örneğinin toplam kolesterolü önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Ancak Tablo 3'de de görüldüğü gibi ikinci haftada probiyotik bakterinin bu olumlu etkisi azalmış ve üçüncü haftada ise pastörize probiyotik yoğurt (63.50±6.36 mg/dL) ve pastörize edilmemiş probiyotik yoğurt (63.0±6.36 mg/dL) örneklerinin toplam kolesterol seviyeleri aynı düzeyde belirlenmiştir. Yağlı yoğurt örneklerinde birinci ve üçüncü haftalarda pastörize yoğurt örneklerine göre toplam kolesterol miktarları daha düşük bulunmuştur. İkinci haftada tam tersi bir durum izlenmiştir. Bu da ratların yem ve yoğurt tüketimindeki düzensizliğe bağlanabilir. Kontrol grubunun Toplam kolesterol miktarlarında ise her üç haftada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Bazı deney hayvanları üzerinde yapılan [23-25] çalışmalarda, farklı fermente süt mamüllerinin serum kolesterol üzerine etkisinin farklı olduğu sonucuna varılmıştır. Süt ve ürünlerinin kolesterol düşürücü aktivitesinin ilk olarak ortaya atıldığı yoğurtla ilgili çalışmanın Mann ve Spoerry, [26] ardından yapılan araştırmalarda yoğurdun antikolesterolemik etkisine ilişkin farklı sonuçlar alınmıştır. Bazzare ve ark. [27] ve Thompson ve ark. [28] ayrı ayrı yaptıkları çalışmada yoğurdun antikolesterolemik etkiye sahip olmadığını belirlemişlerdir. McNamara ve ark. [29] Yaptıkları çalışmada 18 normolipidemik erkekte yoğurtların plazma kolesterol seviyelerini önemli derecede etkilemediğini belirtmişlerdir. Beena ve Prasad [30] normal yoğurdun kolesterol azaltıcı etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Jaspers ve ark. [13] günde 681 g yoğurt verdikleri erkeklerde yoğurdun bazı günlerde toplam serum kolesterolü %10-20 ile önemli derecede azalttığı belirlenmiş. Ancak, serum kolesterolünün yoğurt tüketiminin devam etmesi ile kontrol değerine geri döndüğü belirtilmiştir. Farklı laktik asit bakteri türlerinin serum kolesterol konsantrasyonları üzerine etkisinin farklı olabileceğini belirtmişlerdir. Gilliand ve ark. [24] kolesterolce zengin diyetle beslenen domuzlarda *L.acidophilus* RP32 türünün serum kolesterol seviyesini önemli ölçüde azalttığını, *L.acidophilus* P47 türünün ise benzer bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Suzuki ve ark. [25] çeşitli laktik asit bakterileriyle fermente edilmiş sütlerle beslenen ratlarda en etkili antikolesterolemik etkinin *L.acidophilus* 2056 suşuyla üretilenlerden elde edildiğini belirtmişlerdir.

Sadeq ve ark. [9] plazma lipitleri üzerine *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 veya *Bifidobacterium longum* BB536 içeren yoğurdun etkisini kolesterolce zenginleştirilmiş diyetle beslenen ratlarda incelemişlerdir. 8 hafta sonra kolesterolce zengin diyetle beslenen pozitif kontrol grubu ratların plazmasında toplam kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinde önemli artışlar gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 veya *Bifidobacterium longum* BB536 içeren yoğurt takviyeli kolesterolce zengin diyetle beslenen gruplarda uygulamadan 8 hafta sonra kontrol grubuna göre plazmada toplam kolesterol, LDL-kolesterol ve VLDL kolesterol seviyelerini anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Ivey ve ark. [15] kan basıncı ve serum lipid profili üzerine yoğurt ve kapsül formundaki *Lactobacillus acidophilus* LA5 ve *Bifidobakterium animalis subsp lactis* BB12'nin etkisini belirlemişlerdir. 55 yaş üzeri 156 kg

ağırlığındaki kadın ve erkeklerde altı hafta sonra toplam kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserit seviye artışlarını izlemişlerdir. *Lactobacillus acidophilus* LA5 ve *Bifidobakterium animalis subsp lactis* BB12 probiyotik suşlarının kardiyovasküler risk faktörlerini düzeltmediğini ifade etmişlerdir.

Tablo 4. Kolesterollü yem ve farklı yoğurt çeşitleri ile beslenen ratlarda toplam kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserit düzeylerine ait veriler (mg/dL) (n=2)

Süre	Ratlara Verilen Yem İçeriği	Kolesterol	HDL-Kolesterol	LDL-Kolesterol	Trigliserit
1. Hafta	KY+S	66.0 ± 1.41^{B}	39.0 ± 1.41^{A}	14.2 ± 4.24^{B}	102.5 ± 11.00^{B}
	KY+PaY	69.5 ± 10.61^{B}	31.0 ± 0.00^{A}	15.0 ± 0.85^{B}	148.0 ± 8.50^{A}
	KY+Y	55.5 ± 12.02^{B}	37.5 ± 2.12^{A}	80.8 ± 24.00^{A}	74.5 ± 6.00^{BCDE}
	KY+PaPrY	124.0 ± 9.89^{A}	23.5 ± 4.95^{A}	16.7 ± 1.56^{B}	44.0 ± 18.00^{EF}
	KY+PrY	58.5 ± 9.19^{B}	28.0 ± 2.83^{A}	7.2 ± 4.24^{B}	84.5 ± 7.80^{BCD}
2. Hafta	KY+S	62.0 ± 2.83^{B}	31.0 ± 7.10^{A}	20.7 ± 1.56^{B}	58.5 ± 0.60^{CDEF}
	KY+PaY	66.0 ± 1.41^{B}	34.0 ± 7.10^{A}	18.3 ± 3.54^{B}	62.5 ± 6.36^{CDEF}
	KY+Y	76.5 ± 13.40^{B}	40.5 ± 3.50^{A}	24.1 ± 4.95^{B}	83.0 ± 8.49^{BCD}
	KY+PaPrY	80.5 ± 2.12^{B}	40.0 ± 16.00^{A}	8.05 ± 0.49^{B}	91.5 ± 9.19^{BC}
	KY+PrY	67.0 ± 0.00^{B}	44.0 ± 4.20^{A}	13.8 ± 2.83^{B}	53.5 ± 6.36^{DEF}
3. Hafta	KY+S	66.5 ± 2.12^{B}	33.0 ± 4.24^{A}	34.7 ± 6.08^{B}	64.5 ± 7.80^{CDEF}
	KY+PaY	67.0 ± 7.07^{B}	36.0 ± 2.83^{A}	15.5 ± 2.97^{B}	62.5 ± 7.80^{CDEF}
	KY+Y	63.5 ± 2.12^{B}	32.5 ± 0.71^{A}	16.7 ± 3.82^{B}	43.5 ± 2.10^{EF}
	KY+PaPrY	63.5 ± 6.36^{B}	37.5 ± 3.54^{A}	17.8 ± 7.64^{B}	29.0 ± 5.70^{F}
	KY+PrY	63.0 ± 1.41^{B}	43.5 ± 2.12^{A}	12.7 ± 1.56^{B}	41.0 ± 0.00^{EF}

En yüksek HDL-kolesterol oranları birinci haftada yağlı yoğurt örneğinde görülürken ikinci ve üçüncü haftalarda (44.00±4.20 mg/dL ve 43.5±2.12 mg/dL) probiyotik yağlı yoğurt örneğinde belirlenmiştir. Gruplar arasında çok önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

Thomson ve ark. [28] günde 1 L yoğurt tüketen kişilerin HDL-kolesterol düzeylerinde önemli bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Rao ve ark. [31] 29 gün süresince yağlı süt veya termofilus sütü ile beslenen sıçanlarda HDL-kolesterol düzeylerinin farklı olmadığını belirlemişlerdir. Danielsen ve ark. [32] 56 gün boyunca asidofilus yoğurdu ile beslenen domuzlarda HDL-kolesterol düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bazzare ve ark. [27] bir hafta yoğurt tüketen bayanlarda HDL-kolesterol düzeyini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Umsan ve Hosono [33] süt ve *L. gasseri* SBT0270 içeren süt verilen ratlarda HDL-kolesterolün önemli derecede azaldığını bulmuşlardır.

Tablo 3'te görüldüğü gibi en yüksek LDL-kolesterol miktarı birinci haftada yağlı yoğurt (80.80±24.00 mg/dL) örneğinde elde edilmiştir. En düşük LDL-kolesterol miktarları her üç haftada da probiyotik yoğurt örneğinde (sırasıyla 7.20±4.24 mg/dL, 13.80±2.83 mg/dL, 12.70± 1.56 mg/dL) elde edilmiştir. Üçüncü haftada fermente yoğurt örneklerinin LDL-kolesterol değerlerinde önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür. Kontrol gruplarında ise haftalara göre LDL-kolesterol miktarları önemli ölçüde artış göstermiştir. İkinci ve üçüncü haftalarda en yüksek LDL-kolesterol miktarları (sırasıyla 20.70±1.56 mg/dL ve 34.70±6.08 mg/dL) kontrol gruplarından elde edilmiştir.

Noakes ve ark. [34] yağı azaltılmış yeni bir süt ürününün yağlarının plazma lipidleri üzerine etkisini 43 erkek üzerinde incelemişler ve süt kaymağında bulunan doymuş yağ asitlerinin LDL-kolesterolünü yükselttiğini bulmuşlardır. Gerhard ve ark. [35] plazmada LDL-kolesterol konsantrasyonlarının düşük yağlı diyetlerde yüksek yağlı diyetlere oranla düştüğünü bulmuşlardır. Richelsen ve ark. [36] *E. feacium* ve *S. thermophilus* ile fermente ettikleri süt ürününün bir ay sonra kadın ve erkeklerde LDL-kolesterolü azaltırken 3 ay sonunda birinci ayla fazla fark olmadığını ve 6. ay sonunda toplam ve LDL-kolesterolün düşük seviyede olduğunu bulmuşlardır. Beena ve Prasad [30] normal yoğurtların kolesterol azaltıcı etkisinin olmadığını ve yoğurdun LDL-kolesterolü çok az değiştirdiğini belirtmişlerdir.

Ibrahim ve ark. [2] plazma ve karaciğer lipidleri üzerine *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ve *Bifidobacterium longum* Bb-46 ile takviyeli manda yoğurdu ve soya yoğurdunun etkilerini kolesterolle zenginleştirilmiş bir diyetle beslenen sıçanlarda belirlemişlerdir. Bb-12 ve Bb-46 içeren yoğurt ve soya yoğurtlu kolesterolce zengin diyetle beslenen grupların plazma toplam kolesterol, LDL-kolesterol ve VLDL miktarlarını kontrol grubuna (Bb-12 ve Bb-46 takviyesiz) göre önemli ölçüde düşük bulmuşlardır. Bb-46 içeren yoğurt ve soya yoğurdunun Bb-12 içeren yoğurt ve soya yoğurdunun göre plazma ve karaciğer kolesterol seviyelerini düşürmesini daha etkili bulmuşlardır. Probiyotik takviyeli kolesterol açısından zengin bir diyetle beslenen sıçanlarda kan plazması toplam kolesterol düzeyleri arasında ters bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir. Furuncuoglu ve ark. [37] yüksek lipid seviyeli 100 hastada (50 kişi çalışma grubu 50 kişi kontrol grubu), stanollü yoğurt ve stanolsüz yoğurdun etkilerini araştırmışlardır. Stanol grubunda toplam kolesterol ve LDL kolesterol seviyesinde bariz bir azalma (sırasıyla %12.9 ve %14.9) bulmuşlar, kontrol grubunda ise LDL kolesterolde düşük bir azalma (%3.3) belirlemişlerdir.

En yüksek trigliserit miktarı birinci haftada pastörize yağlı yoğurt (148.00±8.50 mg/dL) grubunda ve kontrol grubunda (102.50±11.00 mg/dL) elde edilmiştir. Üçüncü hafta sonunda ise bütün yoğurt örneklerinin trigliserit

miktarları kontrol grubundan daha düşük miktarlarda bulunmuştur.

Hepner ve ark. [38] yaptıkları çalışmada 4 hafta diyet ve yoğurtla besledikleri kişilerde kontrol grubuna göre trigliserit düzeyinin daha düşük olduğunu bulmuşlardır. İshida ve Kubo [39] %15 ticari yoğurtla besledikleri ratlarda kontrol grubuna göre trigliserit düzeyini önemli derecede az bulmuşlardır. Danielson ve ark. [32] yaptıkları çalışmada 56 gün asidofiluslu yoğurtla beslenen tavşanlarda serum trigliserit düzeyinin çok farklı olmadığını bulmuşlardır. Suzuki ve ark. [24] yaptıkları çalışmada asidofiluslu sütle beslenen sıçanların serum trigliserit düzeylerinin sütle beslenenlerden farklı olmadığını bulmuşlardır. Kiyosawa ve ark. [40] yaptıkları çalışmada kolesterolle beslenen tavşanlarda yağsız sütün trigliserit seviyesini önemli ölçüde düşürdüğünü, yoğurtta ise kontrol grubuna göre önemli bir farklılık olmadığını bulmuşlardır. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda [34, 37, 41, 42] fermente süt ürünlerinin serum trigliserit düzeyini değiştirmediği gözlemlenmiştir.

Aloğlu ve ark. [43] *Cryptococcus humicola* M5-2 suşunun, *in vivo* ortamda kolesterolü asimile etme yeteneği incelemişler ve kolesterolce zengin diyetle beslenen sıçanlarda bu suş ile beslemenin serum toplam kolesterol, HDL/LDL kolesterol ve trigliserit seviyelerine etkisini belirlemişlerdir. Serum analiz sonucuna göre trigliserit ve toplam kolesterol düzeyinin sırasıyla %25 ve %1.34 oranında düşme gösterdiğini ve özellikle trigliserit düzeyindeki düşme oranına çoğu *in vivo* çalışmada rastlamamışlardır. Elde edilen suşun fermente gıdalar ile beraber tüketiminin sağlık üzerine iyileştirici etkiler yaratacağını belirtmişlerdir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırma bulguları irdelendiğinde, yoğurt ve probiyotik yoğurtla beslenen grupların kan serum toplam kolesterol seviyelerinde üçüncü hafta sonunda önemsiz bir azalma, LDL-kolesterol seviyelerinde ise önemli bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Genel olarak bütün grupların trigliserit seviyelerinde üçüncü hafta sonunda azalma olduğu belirlenmiştir. Pastörize fermente süt ürünleri ile beslenen ratlarda ise, birinci ve ikinci haftalardaki farklılıklara rağmen üçüncü hafta sonunda serum toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyeleri pastörize edilmemiş yoğurt ve probiyotik yoğurtla karşılaştırıldığında benzerlik göstermiştir. Pastörize probiyotik yoğurtla beslenen ratların trigliserit seviyelerinin her üç haftada pastörize yoğurtla beslenen ratlardan daha düşük olduğu gözlenmiştir. Yoğurt örnekleri içinde üçüncü hafta sonunda en yüksek HDL-kolesterol seviyesi ve endüşük LDL-kolesterol seviyesi probiyotik yoğurtla beslenen rat grubunda elde edilmiştir. Probiyotik yoğurt tüketiminin iyi huylu HDL-kolesterol seviyesini artırma, kötü huylu LDL-kolesterol seviyesi üzerinde azaltma etkisinin olduğu ifade edilebilir.

Çalışmada kullanılan *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} kültürünün birinci haftada toplam kolesterol üzerine azaltıcı bir etkisi belirlenmesine rağmen üçüncü hafta sonunda kontrol seviyelerine yakın sonuçlar elde edilmiştir. *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} suşunun yoğurt tüketiminin devam etmesi ile toplam kolesterol tüketimi üzerine azaltıcı bir etkisinin olmadığı görülmüştür. HDL-kolesterol seviyesinin artırıcı ve LDL-kolesterol seviyesinin azaltıcı etki göstermesi kalp damar hastalıkları açısından *L. acidophilus jonsonii* L_{a1} suşunu içeren fermente süt ürünlerinin tüketilmesi olumlu değerlendirilebilir. Ancak fermente süt ürünlerinde farklı probiyotik bakteri türü ve suşları ile çok daha uzun süreli ve daha detaylı çalışma yapılması önerilmektedir.

Bu sonuçlara göre, yüksek kolesterol problemi olan kişilerin beslenme diyetlerinde düzenli bir şekilde yoğurt ve probiotik yoğurtları tüketmeleri halinde ilgili literatürlerin ışığı altında antikolesterolemik aktivite üzerinde etkili olabileceği ifade edilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Nizam Mustafa Nizamlıoğlu'nun Yüksek Lisans tezinin bir kısmı olup, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından FBE2001/078 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

[1] Gönç, S., Akalın, A.S., Düzel, S., 1996. Farelerde Serum Kolesterol Düzeyi Üzerine Acidophilus Yoğurdunun Etkisi. Proje Sonuç Raporu. Tübitak Araştırma Projesi, No: VHAG-1168, Tübitak, Ankara.

[2] İbrahim, A.A.E.G., El-Sayed, E.M., Hafez, S.A., El-Zeini, H.M., Saleh, F.A., 2005. The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *International Dairy Journal* 15: 37–44.

[3] Ceyhan, N., Alıç, H., 2012. Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5: 107-113.

[4] Fernandes, C.F., Shanani, K.M., Amer, M.A., 1987. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacilli fermented dairy products. *FEMS Microbiology Reviews 3*(3): 343-356.

[5] Driessen, F.M., Boer, D., 1989. Fermented milks with selected intestinal bacteria: a healthy trend in new products. *Netherlands Milk Dairy Journal* 43: 367-382.

[6] Golay, A., Ferrara, J., Felber, J., Schneider, H., 1990. Cholesterol-lowering effect of skim milk from immunized cows in hypercholesterolemic patients. *American Journal of Clinical Nutrition* 52(6): 1014-1019.

[7] Marette, S., Roosen, M., Blanchemanche, S., Feinblatt-Mélèze, E., 2010. Functional food, uncertainty and consumers' choices: A lab experiment with enriched yoghurts for lowering cholesterol. *Food Policy* 35: 419–428.

[8] Gürsoy, O., Özel, S., Özbaş, H., Çon, A.H., 2011. Kolesterol seviyesinin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda

düşürülmesinde probiyotik mikroorganizmaların etkisi. *Akademik Gıda* 9: 37-45.

[9] Sadeq, H.A.S., Amin, İ., Mohd, Y.M., Shuhaimi, M., Rokiah, M.Y., Fouad, A.H., 2012. Hypocholesterolaemic effect of yoghurt containing *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4 or *Bifidobacterium longum* BB536. *Food Chemistry* 135: 356–361.

[10] Mayes, P., Çeviren: Menteş, G., 1993. Kolesterol sentezi taşınması ve atılımı. Harper'in Biyokimyası. Barış Kitabevi, İstanbul.

[11] Karleskind, A., Wollf, J. P., 1999. Biochemical and Nutritional Characteristics of Oils and Fats. Oils and Fats Manual, İntercept Limited, Andover U. K., Londres/Newyork, 558-572p.

[12] Theuwissen, E., Mensink, R.P., 2008. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior* 94: 285–292.

[13] Jaspers, D.A., Massey, L.K., Luedecke, L.O., 1984. Effect of consuming yogurts prepared with three cultre strains on human serum lipoproteins. *Journal Food Science* 49: 1178-1181.

[14] International Dairy Fererederation, 1991. Cultured Dairy Product in Human Nutrition. Effect on Cholesterol Metabolism. Square vergote, B-1040 Brussels, BELGIUM, 41p.

[15] Ivey, KL., Hodgson, J.M., Kerr, D.A., Thompson, P.L., Stojceski, B., Prince, R.L., 2015. The effect of yoghurt and its probiotics on blood pressure and serum lipid profile; a randomised controlled trial. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 25: 46-51.

[16] Gönç, S., Akalın, S., Kılınç, S., 1996. Fermente süt mamülleri ve kolesterol arasındaki ilişkiye ait bir değerlendirme. *Gıda* 21(2): 89-94.

[17] Lye, H.S., Rusul, G., Liong, M.T., 2010. Removal of cholesterol by Lactobacilli Via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal Dairy Science* 93: 1383-92.

[18] Majewska, D., Jakubowska, M., Ligocki, M., Tarasewicz, Z., Szczerbińska, D., Karamucki, T., Sales, J., 2009. Physicochemical characteristics, proximate analysis and mineral composition of ostrich meat as influenced by muscle. *Food Chemistry* 117(2): 207-211.

[19] Anonymous, 1996. Yoğurt TS. 1330/Revizyon. Türk Standardları Enstitüsü.

[20] Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. 13th ed. Academic Pres. London.

[21] Friedewald, W.R., Levy, R.I., Frederickson, D.S., 1972. Lipoproteins in serum. *Clinical Chemistry* 18: 499.

[22] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F., 1987. Araştırma ve deneme metotları. (İstatistiksel Metotlar-II). *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* 1021, Ankara.

[23] Anderson, J.W., Gilliand, S.E., 1999. Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* 4 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *Journal of the American Collage of Nutrition* 18 (1): 43-50.

[24] Gilliand, S.E., Nelson, C.R., Maxwell, C., 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology* 49(2): 377-381.

[25] Suzuki, V., Kaizu, H., Yamauchi, Y., 1991. Effect of cultured milk on serum cholesterol concentration in rats which fed high-cholesterol diets. *Animal Science and Technology* 62(6): 565.

[26] Mann, G.V., Spoerry, A., 1974. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *American Journal of Clinical Nutrition* 27(5): 464-469.

[27] Bazzare, T.I., Liu. W.S., Yuhas, S.A., 1983. Total and HDL-cholesterol concentrations following yogurt and calcium supplementation. *Nutrition Reports İnternational* 28(2): 413-421.

[28] Thomson, L., Jenkins, D., Amer, M., Reichert, R., Jenkins, A., Kamulsky, J., 1982. The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol. *American Journal of Clinical Nutrition* 36(6): 1106-1111.

[29] McNamara, D., Lowell, A., Sabb, J., 1989. Effect of yogurt intake on plasma lipid and lipoprotein levels in normolipidemic males. *Atherosclerosis* 79(2-3): 167-171.

[30] Beena, A., Prasad V., 1997. Effects of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolysed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol levels in rats. *Journal of Dairy Research.* 64(3): 453-457.

[31] Rao, D.R., Chawan, C.B., Pulusani, S.R., 1981. Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesteregenesis in rats. *Journal Food Science* 46: 1339-1341.

[32] Danielson, A.D., Peo, E.R., Shanany, K.M., Lewis, A.J., Whalen, P.J., Amer, M.A., 1989. Anticholesteremic property of *Lactobacillus acidophilus* yogurt fed to mature boars. *Journal Animal. Science* 67: 966-974.

[33] Hosono, A., 2000. Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. *Journal of Dairy Science* 83: 1705-1711.

[34] Noakes, N., Nestel, P.S., Clifton, P.M., 1996. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol humans consuming the products. *The American Journal of Clinical Nutrition* 63: 42-46.

[35] Gerhard, G.T., Connor, S.L., Wander, R.C., Connor, W., 2000. Plasma lipid and lipoprotein responsiveness to dietary fat and cholesterol in premenopausal African American and white women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72: 56-63.

[36] Richelsen, B., Kristensen, K., Pedersen, S.B., 1996. Long-term (6 months) effect of a new fermented milk product on the level of plasma lipoproteins-a placebo-controlled and double blind study. *European Journal of Clinical Nutrition* 50: 811-815.

[37] Furuncuoglu, Y., Basar, M., Alıcı, S., Sengul, C., 2014. Effects of a stanol-enriched yogurt on plasma cholesterol levels. *European Journal of General Medicine* 11(4): 230-234.

[38] Hepner, G., Fried, R., Jear, S., Fusetti, L., Morin, R., 1979. Hypercholesterolemic effect of yogurt and milk. *American Journal of Clinical Nutrition* 32 (1): 19-24.

[39] Ishida, M., Kuba, H., 1985. Effect of yogurt, kefir and butter milk on serum lipids of rats. *Scientific Reports of the Miyagi Agricultural College* 33: 43-47.

[40] Kiyosawa, H., Sugawara, C., Sugawara, N., Miyake, H., 1984. Effect of skim milk and yogurt on serum lipids and development of sudanophilic lesions in cholesterol-fed rabits. *American Journal of Clinical Nutrition* 40(3): 479-484.

[41] Agerbaek, N., Gerdes, L.U., Richelsen, B., 1995. Hypocholesterolaemik effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *Eur. J. Clin. Nutr.* 49(5): 346-352.

[42] Bertolami, M.C., Faludi, A.A., Batlouni, M., 1999. Evaluation of the effects of a new fermented milk product (Gaio) on primary hypercholesterolemic. *European Journal of Clinical Nutrition* 53: 97-101.

[43] Aloğlu, H.Ş., Özer, E.D., Öner, Z., Savaş, H.B., Uz, E., 2015. Investigation of a probiotic yeast as a cholesterol lowering agent on rats fed on a high cholesterol enriched diet. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 21(5): 685-689.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 51-59, DOI: 10.24323/akademik-gida.306062

Araştırma Makalesi / Research Paper

Endüstriyel Pekmez Üretim Sürecinde Enerji Analizi

Seda Genç ✉

Yaşar Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 13.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 07.04.2017
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): seda.genc@yasar.edu.tr (S. Genç)*
0 232 570 86 36 0 232 570 70 00

ÖZ

Dünyanın hızlı artan nüfusu sonucunda, her geçen gün daha fazla enerjiye gereksinim duyulmaktadır. Türkiye'deki enerji tüketimi incelendiğinde imalat sanayi, %40'lık payla en büyük tüketici konumundadır. Sanayi kolları içerisinde, gıda sanayi de enerjinin yoğun olarak kullandığı bir sektördür. Bu nedenle, gıda sanayinde enerjinin verimli kullanılması büyük önem arz etmektedir. Pekmez, yüksek enerji içeriği ve mineral madde zenginliği açısından önemli bir gıda maddesidir. Uzun yıllardır geleneksel yöntemlerle üretilen pekmez, günümüzde endüstriyel olarak da üretilmektedir. Bu çalışmada, pekmezin endüstriyel üretim sürecinde enerji kullanımı incelenmiştir. Endüstriyel pekmez üretiminde, üzümlerin yıkanmasıyla başlayan süreç sırasıyla, sap ayırma-ezme, presleme, separasyon, ısıtma-asit giderme, soğutma, filtrasyon, durultma, son filtrasyon, vakum evaporasyon ve soğutma ile sonlanmaktadır. Bu çalışmada, her bir üretim basamağının ve bir bütün olarak sistemin enerji analizi yapılarak, enerji verimlilikleri değerlendirilmiştir. Termodinamik analiz sonucuna göre sistemin birinci yasa verimi %71.2 bulunmuştur ve sistemin enerji analizi sonuçları Sankey diyagramı kullanılarak gösterilmiştir. Sonuç olarak, 1 kg pekmez üretimi için 5.57 kg üzüme gereksinim duyulduğu ve üretim sürecinde gerekli termal ve elektrik enerjisi ihtiyacının sırasıyla 3695 kJ ve 39.51 kJ ve toplam enerji ihtiyacının 3734.51 kJ olduğu hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enerji, Pekmez, Enerji verimliliği, Termodinamik

Energy Analysis in Industrial Grape Molasses (Pekmez) Production Process

ABSTRACT

Energy demand has been increasing as a result of the rapid population growth of the World. When the energy consumption in Turkey is examined, with a share of 40%, industrial production is the biggest consumer. Among industry, food industry is an energy intensive sector. For this reason, efficient use of energy in food industry is of great importance. Grape molasses (pekmez) is an important food in terms of high energy and mineral matter content. Grape molasses (pekmez), which has been produced for many years by traditional methods, is also produced industrially. In this study, the use of energy in the industrial production process of grape molasses has been investigated. The production process starts with the washing of grapes, destemming-crushing, pressing, separation, heating-acid removal, cooling, filtration, clarification and final filtration, and ends up with vacuum evaporation and cooling process. Energy analysis was carried out for each production unit, and the energy efficiencies were calculated accordingly. Results showed that first law efficiency of the whole system was 71.2%, and the energy analysis results of the production line were schematized by means of Sankey diagram. In conclusion, 5.57 kg grape was necessary to produce 1 kg grape molasses, and the total energy requirement was calculated as 3734.517 kJ where thermal and electrical energy requirements were 3695 kJ and 39.51 kJ, respectively.

Keywords: Energy, Grape molasses (pekmez), Energy efficiency, Thermodynamics

GİRİŞ

Ülkemiz, bağcılık için oldukça elverişli bir coğrafi yapıya sahip olması nedeniyle yüzyıllardan beri Anadolu'da üzüm yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye, dünyada üzüm hasat edilen alana sahip olan ülkeler sıralamasında beşinci, üzüm üretimi sıralamasında da üçüncü sırada yer almaktadır [1]. Üzümün sofralık olarak kullanımının yanı sıra şaraplık, kurutmalık, sirke, pekmez, pestil, reçel, meyve suyu gibi mamül ürünler şeklinde değerlendirilme olanağı da bulunmaktadır. Ülkemizde ise üretilen üzümlerin yaklaşık %40'ı kurutularak, %25'i sofralık, %20'si sirke, pekmez ve pestil yapılarak, yaklaşık %15'i de alkollü içki üretiminde kullanılmaktadır [2].

Pekmez, meyve şırasının kaynatılarak koyulaştırılması ile şeker içeriği yüksek olan üzüm, dut, kayısı, erik ve benzeri meyvelerden elde edilen önemli bir geleneksel gıda olmakla birlikte, en yaygın olarak üzüm ve duttan üretilmektedir [3]. İçeriğinde bulunan yüksek miktarda karbonhidrat, organik asitler, mineral maddeler ve vitaminler nedeniyle beslenme açısından da önemli bir gıda maddesidir [4].

Ülkemizde 2012 yılında 219 işletmede, 25.855,42 ton pekmez üretilmiştir. Üzüm pekmezi, üretilen pekmezler içinde işletme sayısı (117 adet) ve pekmez miktarı olarak (43.773.88 ton/yıl) birinci sırada yer almaktadır [5]. Türk Gıda Kodeksi Üzüm Pekmezi Tebliği'nde üzüm pekmezinin fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmektedir. Tebliğde pekmez suda çözünür katı madde oranına göre katı (%68) ve sıvı (%80), pH derecesine göre ekşi (pH 3.5-5) ve tatlı pekmez (pH 5-6) olmak iki çeşitte sınıflandırılmıştır. Ayrıca pekmezlerde bulunabilecek maksimum HMF, kül miktarı ile şeker ve organik asit miktarları tebliğde belirtilmektedir [6].

İmalat sanayi içinde, gıda üretim süreçleri, ısıtma ve soğutma işlemlerinin yaygın olarak uygulanması nedeniyle, enerjinin yoğun olarak kullanıldığı sistemlerdir. Her geçen gün daha fazla enerjiye gereksinim duyulması ve fosil kaynakların hızla tükeniyor olması sebebiyle, enerjinin etkin ve verimli bir biçimde kullanılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda, gıda üretim süreçlerinde enerji analizinin yapılması büyük önem teşkil etmekte; mühendislik ve termodinamik bilgileri ışığında gıda üretim sistemlerinin kütle ve enerji akışlarının belirlenerek, hesaplamaların dikkatli bir biçimde yapılması gerekmektedir. Endüstriyel pekmez üretim sürecinde de ısıtma ve soğutma işlemlerinin yaygın olarak kullanılması, sistemde tüketilen enerji miktarını arttırmaktadır. Bu nedenle, pekmez üretim sisteminde enerji verimliliğinin sağlanabilmesi için sistemin modellenerek termodinamik analiz ve performans değerlendirmesi yapılmalıdır.

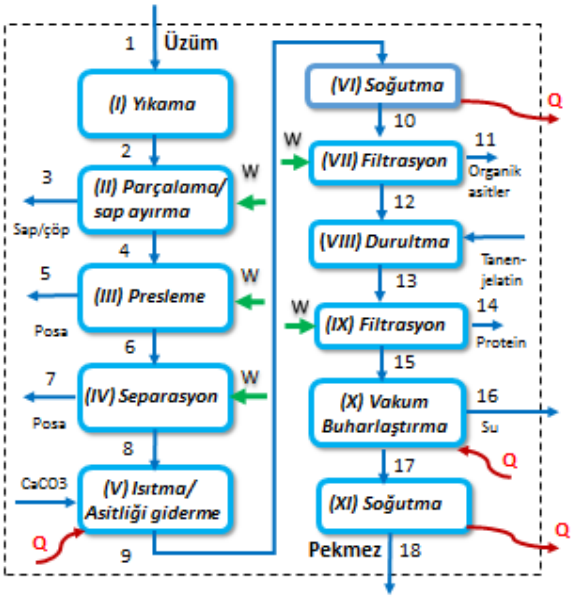
Literatürde gıda üretim süreçlerinin enerji analizlerine ilişkin çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Erbay ve İçier [7] enerjinin Türkiye ve Dünya'daki durumu ile ilgili genel bir değerlendirme yaparak, tarımsal ürünlerin işlenmesinde kullanılan enerjinin çok büyük bir kısmını (%60'dan fazla) tüketen gıda kurutma işlemi için ekserji analizi uygulama yöntemini ve gıda kurutmasında uygulamalarının önemini belirtilen bir derleme çalışması yapmışlardır [7]. Sorgüven ve Özilgen [8], aromalı yoğurt üretim sürecinin çevreye olan etkilerini enerji ve ekserji kullanımı ve karbondioksit emisyonu açısından incelemiştir. Çalışma kapsamında çilekli yoğurt üretimi için kullanılan enerji mekanizmaları tarımsal maddelerin yetişmesi için gerekli olan güneş enerjisi, otoburların et ve süt üretimi için tükettikleri otlar için gereken enerji ve çilekli yoğurdun endüstriyel üretim süreci için gereken enerji olarak üç bölümde incelenmiş ve termodinamik analizi yapılmıştır. Bir başka çalışmada, Türkiye'de bulunan bir şeker fabrikası model olarak seçilerek, şeker pancarından şeker üretimi sürecinin her basamağı, fabrikanın çalışması için gereken enerji üretim süreçleri de dahil olmak üzere detaylı bir biçimde incelenmiş ve tüm üretim sürecinin enerji ve ekserji analizi yapılmıştır. Ayrıca, sistemde en iyi enerji ve ekserji verimini sağlamak için optimizasyon çalışması yapılmıştır [9]. Söğüt ve ark. [10] dört etkili evaporatör sistemine sahip salça üretim tesisinin verilerini kullanarak enerji ve ekserji analizini gerçekleştirmişlerdir. Diğer bir çalışmada, Balkan ve ark. [11] konsantre portakal suyu üretiminin yapıldığı bir fabrikanın performans değerlendirmesini yapmışlardır. Genç ve ark. [12] kırmızı şarap üretim sürecinin enerji ve ekserji analizini yaparak, sistemin birinci ve ikinci yasa verimini hesaplamışlardır. Zisoupoulus ve ark. [13] ekserji analizinin gıda endüstrisi uygulamaları, analiz yöntemi ve kullanılan ekserji indikatörleri ile ilgili geniş bir literatür derlemesi yapmışlardır. Bu konuda şimdiye kadar yapılmış çalışmaların çok büyük bir kısmının (%66) kurutma ile ilgili olduğunu, evaporasyon ile ilgili çalışmaların ise sadece %4 oranında olduğunu rapor etmişlerdir [13].

Literatür araştırması sonucunda pekmez üretim sürecinin modellenmesine ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, modern yöntemle yapılan endüstriyel üzüm pekmezi üretim sürecini modelleyerek, süreç boyunca enerji analizini gerçekleştirmektir. Çalışmada özellikle üretim süreci boyunca sistemde yer alan her bir birim işlem sırasında sıcaklık, ısıtma ve soğutma gibi işlemlerin akımlar üzerindeki etkileri göz önüne alınmıştır. Pekmez üretim süreci boyunca sistemin enerji ihtiyacı belirlenerek; gerek sera gazları salımını azaltmak gerekse de ekonomik maliyeti düşürmek için olası enerji tasarruf noktaları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada, kırmızı üzümün hammadde olarak kullanıldığı endüstriyel pekmez üretim süreci, madde ve enerji denklikleri kurularak termodinamiğin birinci yasası temel alınarak analiz edilmiştir. Bu çalışmayla, literatürde ilk defa teorik olarak pekmez üretim süreci boyunca madde ve enerji akışlarını göstererek, üretim sürecinin enerji verimliliğini tespit etmek ve enerji verimliliğini arttırmak için sistemde yer alan birim işlemlerin iyileştirilmesine katkı sağlamak amaçlanmaktadır.

SİSTEM TANITIMI

Şekil 1'de endüstriyel üzüm pekmezi üretim sürecinin akım şeması gösterilmiştir. Buna göre, üretim süreci yıkama işlemi ile başlayıp pekmez üretimi ile son bulmaktadır. Üretim süreci, buhar, su ve elektriğin

kullanıldığı ısıtma, soğutma, filtrasyon, seperasyon gibi işlemler içermektedir. Üretim hattı boyunca ilk olarak hasadı yapılan kırmızı üzümler fabrikaya gelerek havuzlu yıkama tankına beslenirler (akım 1). Bu sayede üretim için uygun olmayan meyveler ayrılmakta ve meyve üzerindeki toz, toprak, tarım ilaç kalıntıları uzaklaştırılarak hammaddedeki mikrobiyal yük azaltılmış olmaktadır. Yıkama sonrasında üzüm saplarında bulunan fenolik maddelerin ve klorofilin pekmezin renk ve tadını olumsuz yönde etkilemesinin önlenmesi için, üzüm salkımları saplarından ve çöplerinden ayıklanmak ve parçalama/ezme amacıyla sap alıcı/parçalayıcı kombine sistemine girerler (akım 2) [3]. Bu aşamada sapından ve çöpünden ayrılan üzümler parçalanarak mayşeyi (akım 4) oluştururlar ve presleme işlemi için hazır hale gelirler. Ardından mayşe pnömatik preste sıkılarak üzüm şırası olarak adlandırılan üzüm suyu (akım 6) elde edilir ve posa (çekirdek, kabuk vb.) dışarı atılır (akım 5). Mevcut şıranın içinde bulanıklıkların olması sebebiyle şıra (akım 6) separatöre beslenir ve kalan posa da ayrılarak şıranın berrak hale gelmesi sağlanır. Separasyon işlemi sonucunda elde edilen şıranın (akım 8) içeriğinde bulunan malik ve tartarik asit, $CaCO_3$ ilave edilerek ısıtılır, bunun sonucunda hem asitlik giderilir hem de mikrobiyal faaliyetler önlenmiş olur [14]. Isıtma sonucunda soğutulan şıra (akım 10) organik asitlerin bertaraf edilmesi için filtrasyona tabii tutulur. Asitliği giderilmiş şıranın içinde bulunan ve bulanıklığa sebep olan pektin ve proteinlerin son ürün kalitesini olumsuz etkilememeleri için şıraya tanen-jelatin ilave edilerek durultma işlemi uygulanır ve filtrasyon işlemiyle proteinler uzaklaştırılır [15]. Filtrat konsantre edilmek üzere tek etkili, borusal eşanjörlü inen film vakum evaporatöre girer ve %72 kuru madde miktarına ulaşıncaya kadar evaporasyona devam edilir [16]. Şıranın buharı kondens kolonda yoğunlaşarak vakum pompasıyla (akım 16) uzaklaştırılır. Vakum evaporatörden çıkan pekmez (akım 17) hemen soğutmalı tanka alınarak 25°C'ye kadar soğutulur ve dolum ünitesine gitmek için hazır hale gelir (akım 18). Asitliği gidermek için uygulanan ısıtma işlemi (V), şırayı konsantre etme amaçlı uygulanan vakumlu buharlaştırma (X) ve soğutma (VI ve XI) ısı enerjisinin kullanıldığı işlemlerdir. Vakum evaporatöre ısı 250.6 kPa basınçta buhar kazanından elde edilen buharla sağlanmaktadır [17]. Sistemde enerji kaynağı olarak elektrik enerjisi ve buhar üretimi için de doğal gaz kullanılmaktadır.



Şekil 1. Endüstriyel tatlı sıvı pekmez üretim süreci

MODELLEME (TEORİK ANALİZ)

Pekmez üretimini gerçekleştirebilmek için gereken enerji miktarının belirlenmesi için ilk olarak pekmez üretim hattındaki madde ve enerji girdilerini belirlemek gerekmektedir. Çalışmada kullanılan veriler literatürden alınan teorik bilgilere dayanmaktadır [3, 14-16, 18]. Sistem 1kg/s üzüm işleyecek şekilde modellenmiştir.

Kütlenin korunumu genel bir ifadeyle Denklem 1'de gösterilmektedir:

$$\sum \dot{m}_g = \sum \dot{m}_ç \qquad (1)$$

Bu denklemde m_g ve $m_ç$ sırasıyla üretim sürecine giren ve çıkan kütle akış hızlarını sembolize etmektedir. Genel enerji denkliği ise üretim sürecine giren toplam enerjinin süreçten çıkan enerjiye eşitliği olarak tanımlanır ve Denklem 2'deki gibi ifade edilmektedir.

$$\sum \dot{E}_g = \sum \dot{E}_ç \qquad (2)$$

Enerji denkliği tüm terimleri ile yazıldığında Denklem 3'teki halini alır.

$$\dot{Q} + \sum \dot{m}_g h_g = \dot{W} + \sum \dot{m}_ç h_ç \quad (3)$$

Şekil 1'deki pekmez üretim sisteminde yer alan akımların spesifik özgül ısıları (c_p) her bir akımın kompozisyonuna bağlı olarak hesaplanmıştır (Denklem 4).

$$c_p(T) = \sum_i x_i c_{p,i} \quad (4)$$

Denklem 4'te yer alan x terimi akımların kompozisyonunda yer alan her bir bileşenin kütlesel oranını simgelemektedir ve bileşenlere ait c_p değerlerinin hesaplamaları Tablo 1'de yer alan denklemler kullanılarak yapılmıştır [19].

Tablo 1. Kompozisyona ve sıcaklığa (°C) bağlı olarak akımların spesifik özgül ısıları [19].

Kompozisyon	Spesifik Özgül Isı
Karbonhidrat	$c_p = 1.5488 + \frac{1.9625}{10^3}T - \frac{5.9399}{10^6}T^2$
Protein	$c_p = 2.0082 + \frac{1.2089}{10^3}T - \frac{1.3129}{10^6}T^2$
Yağ	$c_p = 1.9842 + \frac{1.4733}{10^3}T - \frac{4.8008}{10^6}T^2$
Kül	$c_p = 1.0926 + \frac{1.8896}{10^3}T - \frac{3.6817}{10^6}T^2$
Su	$c_p = 4.1762 - \frac{9.0864}{10^5}T + \frac{5.4731}{10^6}T^2$

Spesifik özgül ısının hesaplanmasında kullanılan pekmeze ait kompozisyon Tablo 2'de yer almaktadır [18]. Diğer akımların kompozisyonları ve c_p değerleri Genç ve ark. [12] çalışmalarında belirttiği şekilde hesaplanmıştır.

Tablo 2. Pekmezin kompozisyonu (18)

Bileşen	Yüzde (%)
Karbonhidrat	69.52
Protein	0.62
Yağ	0
Kül	1.86
Su	72
Toplam	100

Üretim sürecinde yer alan her bir birim operasyonun ve tüm sistemin enerji verimliliği ise sistemden çıkan ürünün enerjisinin giren akımın enerjisine oranı olarak kabul edilerek enerji verimliliği değerleri bulunmuştur (Denklem 5).

$$\eta_{enerji} = \frac{\dot{E}_{\text{ürün}}}{\dot{E}_{giren}} \quad (5)$$

Endüstriyel pekmez üretim sürecinde yer alan her bir birim operasyona ait kütle ve enerji denklikleri ile enerji verimliliği ifadeleri Tablo 3'te özetlenmiştir.

Pekmez üretim sürecinin modellemesi esnasında aşağıda belirtilen kabuller yapılmıştır [3, 12, 14-18]:

a) Sistem kararlı hal koşullarında çalışmakta ve süreç boyunca kararlı akış koşulları geçerlidir.
b) Sistem elemanlarından dış ortama ısı transferi olmadığı kabul edilmektedir.
c) Sap alma/parçalama ünitesinden çıkan sap/çöp miktarı sisteme giren üzümün %6'sını oluşturmaktadır.
d) Presden (III) çıkan posa miktarı %40'tır.
e) Separatörden (IV) çıkan posa miktarı giren akımın %5'ini oluşturmaktadır.
f) Asitlik giderme için kullanılan $CaCO_3$ ile durultma için kullanılan tanen-jelatin miktarları takip eden filtrasyon (VII-IX) süreçlerinde sistemden uzaklaştırıldıkları için kütle ve enerji denkliklerinde hesaba katılmamışlardır.
g) Filtrasyon (VII) sonrası atığın (protein) kütle debisi giren akımın %1'i kadardır.
h) Vakum evaporasyon 81.46 kPa basınç ve 60°C de gerçekleşmiş ve evaporatörde 250.6 kPa basınçta doymuş buhar kullanılmıştır.
i) Üretim sonucu elde edilen pekmezin kuru maddesi %72'dir.

Sistem yukarıda verilen belirtilen kabuller doğrultusunda EES (Engineering Equation Solver) paket programı kullanılarak modellenmiş ve sonuçlar Microsoft Office Excel programıyla grafik haline getirilmiştir (20).

BULGULAR

Bu çalışmada, kırmızı taze üzümden yapılan, endüstriyel tatlı sıvı pekmez üretim sürecinin enerji analizi gerçekleştirilmiştir. Bütün sistemin ve sistemde yer alan her bir komponentin enerji verimliliği hesaplanarak, 1 kg pekmez üretimi için gereken üzüm miktarı, termal enerji ve iş gereksinimi hesaplanmıştır. Şekil 1'de ifade edilen sistemin çalışma koşullarındaki termodinamik özellikleri Tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 3. Endüstriyel pekmez üretim sürecinde her bir birim işlemde kullanılan kütle, enerji ve enerji verimliliği denklikleri

Sistem Komponenti	Kütle ve Enerji Denkliği	Sistem Komponenti	Kütle ve Enerji Denkliği
I	$\dot{m}_1 = \dot{m}_2$ $m_1\ c_{p.1}T_1 = \dot{m}_2 c_{p.2}T_2$ $\eta_I = \frac{\dot{m}_2 c_{p.2}T_2}{m_1\ c_{p.1}T_1}$	VII	$\dot{m}_{10} = \dot{m}_{11} + \dot{m}_{12}$ $\dot{m}_{10}c_{p,10}T_{10}+\dot{W}_{VII} = \dot{m}_{11}c_{p.11}T_{11}+\dot{m}_{12}c_{p,12}T_{12}$ $\eta_{VII} = \frac{\dot{m}_{12}c_{p,12}T_{12}}{\dot{m}_9\ c_{p,9}T_9+W_{VII}}$
II	$\dot{m}_2 = \dot{m}_3 + \dot{m}_4$ $\dot{m}_2 c_{p.2}T_2+\dot{W}_{II} = \dot{m}_3 c_{p.3}T_3 + \dot{m}_4 c_{p.4}T_4$ $\eta_{II} = \frac{\dot{m}_4 c_{p.4}T_4}{\dot{m}_2 c_{p.2}T_2+\dot{W}_{II}}$	VIII	$\dot{m}_{12} = \dot{m}_{13}$ $\dot{m}_{12}c_{p,12}T_{12} = \dot{m}_{13}c_{p.13}T_{13}$ $\eta_{VIII} = \frac{\dot{m}_{13}c_{p.13}T_{13}}{\dot{m}_{12}c_{p,12}T_{12}}$
III	$\dot{m}_4 = \dot{m}_5 + \dot{m}_6$ $\dot{m}_4\ c_{p.4}T_4+\dot{W}_{III} = \dot{m}_5 c_{p.5}T_5 + \dot{m}_6 c_{p.6}T_6$ $\eta_{III} = \frac{\dot{m}_6 c_{p.6}T_6}{\dot{m}_4\ c_{p.4}T_4+\dot{W}_{III}}$	IX	$\dot{m}_{13} = \dot{m}_{14} + \dot{m}_{15}$ $\dot{m}_{13}c_{p,13}T_{13}+\dot{W}_{IX} = \dot{m}_{14}c_{p.14}T_{14}+\dot{m}_{15}c_{p,15}T_{15}$ $\eta_{IX} = \frac{\dot{m}_{15}c_{p,15}T_{15}}{\dot{m}_{13}c_{p,13}T_{13}+\dot{W}_{IX}}$
IV	$\dot{m}_6 = \dot{m}_7 + \dot{m}_8$ $\dot{m}_6\ c_{p.6}T_6+\dot{W}_{IV} = \dot{m}_7 c_{p.7}T_7 + \dot{m}_8 c_{p.8}T_8$ $\eta_{IV} = \frac{\dot{m}_8 c_{p.8}T_8}{\dot{m}_6\ c_{p.6}T_6+\dot{W}_{IV}}$	X	$\dot{m}_{15} = \dot{m}_{16}+\dot{m}_{17}$ $\dot{m}_{15}c_{p.15}T_{15} + \dot{Q}_X = \dot{m}_{16}c_{p.16}T_{16} + \dot{m}_{17}c_{p.17}T_{17}$ $\eta_X = \frac{\dot{m}_{17}c_{p.17}T_{17}}{\dot{m}_{15}c_{p.15}T_{15} + \dot{Q}_X}$
V	$\dot{m}_8 = \dot{m}_9$ $\dot{m}_8\ c_{p.8}T_8+\dot{Q}_V = \dot{m}_9 c_{p.9}T_9$ $\eta_V = \frac{\dot{m}_9 c_{p.9}T_9}{\dot{m}_8\ c_{p.8}T_8+\dot{Q}_V}$	XI	$\dot{m}_{17} = \dot{m}_{18}$ $\dot{m}_{17}c_{p.17}T_{17}-\dot{Q}_{XI} = \dot{m}_{18}c_{p.18}T_{18}$ $\eta_{XI} = \frac{\dot{m}_{18}c_{p.18}T_{18}}{\dot{m}_{17}c_{p.17}T_{17}}$
VI	$\dot{m}_9 = \dot{m}_{10}$ $\dot{m}_9\ c_{p,9}T_9-\dot{Q}_{VI} = \dot{m}_{10}\ c_{p.10}T_{10}$ $\eta_{VI} = \frac{\dot{m}_{10}\ c_{p.10}T_{10}}{\dot{m}_9\ c_{p,9}T_9}$	Tüm sistem	$\eta_3 = \frac{\dot{m}_{18}c_{p.18}T_{18}+\dot{m}_{16}c_{p.16}T_{16} + \dot{Q}_{VI} + \dot{Q}_{XI}}{m_1\ c_{p.1}T_1+\dot{W}_{tot}+\dot{Q}_V + \dot{Q}_X}$

Sistemde yer alan her bir birim operasyona (komponente) ait enerji kapasiteleri Tablo 5'te özetlenmektedir. Buna göre, sistemin en fazla ısı kapasitesine sahip komponenti 499.5 kW değeri ile vakum evaporatördür (X), ardından sırasıyla 73.44 kW ile soğutucu (VI) - ısıtıcı (V) ve 16.92 kW ile sistemde yer alan diğer soğutucu (XI) gelmektedir. Sistemin toplam enerji gereksinimi 670.48 kW'dır.

Sistemde yer alan her bir birim işlemin ve tüm sistemin enerji verimliliği Denklem 5'e göre hesaplanmış olup sonuçlar Şekil 2'de gösterilmektedir. Buna göre, sistemde enerjetik açıdan en verimsiz birim işlem en düşük enerji verimliliğine sahip olan (%13.05) vakum evaporatördür (X). Vakum evaporatörü %60.62 enerji verimliliğine sahip olan pnömatik pres (III) ve soğutma (VI) ünitesi takip etmektedir. Tüm sistemin enerji verimliliği ise %71.2 olarak hesaplanmıştır. Vakum evaporatörde enerji verimliliği hesaplanırken evaporatörden çıkan ürünün yalnızca pekmez olduğu düşünülerek hesaplama yapılmıştır. Evaporasyon esanasında şıradan buharlaşan su buharı miktarını da kullanılma potansiyeli olduğunu düşünerek pekmezle beraber ürün olarak kabul ettiğimizde enerji verimliliği %89 değerine ulaşmaktadır.

Şekil 2'de Yıkama (I), Isıtma (V), Durultma (VIII) işlemlerinin enerji verimliliği %100 olarak görülmektedir. Enerji verimliliği hesaplamaları birim işlemden çıkan ürünün enerjisinin, o ürünü üretmek için sisteme giren akımların toplam enerjisine oranı olarak tanımlanmıştır (Denklem 5). Bu bağlamda, I,V ve VIII numaralı birim işlemlerde ürünün enerjisi sisteme giren akımların enerjisine eşit olduğu ve modelleme için yapılan kabuller doğrultusunda sistem komponentlerinden dış ortama herhangi bir ısı transferi olmadığı için enerji verimliliği %100 olarak bulunmuştur.

Sistemde harcanan toplam enerji miktarının dağılımı analiz edildiğinde, toplam enerjinin %85'inin ısıtma amaçlı, %14'ünün soğutma amaçlı ve %1'inin de iş olarak tüketildiği görülmektedir (Şekil 3).

Şekil 5'te teorik veriler ışığında yapılan modelleme çalışması kapsamında, sisteme beslenen üzümün debisinin soğutma, ısıtma ve toplam ısı yükü ile iş üzerine olan etkisi parametrik olarak incelenmiştir. Şekil 5'ten görüleceği üzere, pekmez üretiminde sisteme 1 kg/s üzüm beslendiğinde toplam ısı (soğutma + ısıtma) yükü ve iş sırasıyla 663 ve 7.1 kW olarak bulunmuştur. Üzümün kütle akış hızının ısı yükü ve iş üzerine etkisini belirlemek için sistem 0.5-5 kg/s kütle akış hızında çalıştırıldığında, artan kütle artış hızına paralel olarak toplam ısı yükü ve iş gücünün arttığı görülmektedir. Üretim hattına 0.5 kg/s üzüm beslendiğinde toplam ısı yükü ve gerekli iş sırasıyla 331.7 ve 3.55 kW iken

sisteme 5 kg/s debiyle beslenen üzüm için 3317 kW ısı enerjisine ve iş için de 35.5 kW elektrik enerjisine gereksinim olduğu belirlenmiştir.

Sistemde her bir birim işlemde yer alan enerji akımları, Şekil 4'te Sankey diyagramı kullanılarak özetlenmiştir.

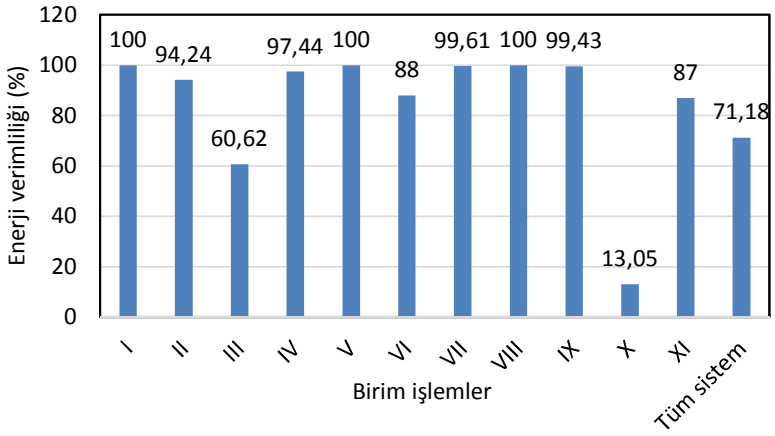
Sonuç olarak 1 kg pekmez üretimi için 5.57 kg üzüme ihtiyaç olduğu; üretim sürecinde gerekli ısı (termal) ve elektrik enerjisi ihtiyacının sırasıyla 3695 kJ ve 39.51 kJ ve toplam enerji ihtiyacının 3734.51 kJ olduğu hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 4. Çalışma koşullarında sistemin termodinamik özellikleri

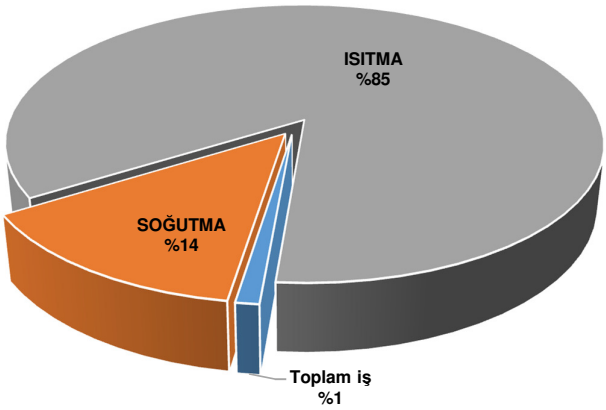
Nokta	Akım	Sıcaklık (K)	Basınç (kPa)	Özgül ısı (c_p) (kJ/kg K)	Kütle akım hızı (kg/s)	Enerji akımı (kW)
1	Üzüm	298.15	101.325	3.48	1.00	1038.00
2	Yıkanmış üzüm	298.15	101.325	3.48	1.00	1038.00
3	Sap/çöp	298.15	101.325	3.34	0.06	59.75
4	Mayşe	298.15	101.325	3.49	0.94	978.1
5	Posa	298.15	101.325	3.44	0.37	385.6
6	Şıra	298.15	101.325	3.53	0.56	593.6
7	Posa	298.15	101.325	3.66	0.01	15.18
8	Şıra	298.15	101.325	3.53	0.55	578.8
9	Şıra	333.15	101.325	3.56	0.55	652.2
10	Şıra	298.15	101.325	3.53	0.55	578.8
11	Tartarik-malik asit	298.15	101.325	1.4	0.005	2.3
12	Şıra	298.15	101.325	3.58	0.54	581.1
13	Şıra	298.15	101.325	3.58	0.54	581.1
14	Protein	298.15	101.325	2.04	0.005	3.31
15	Şıra	298.15	101.325	3.6	0.54	578.5
16	Su	333.15	81.46	4.18	0.36	937.4
17	Pekmez	333.15	81.46	2.35	0.18	140.7
18	Pekmez	298.15	101.325	2.31	0.18	123.7

Tablo 5. Sistem komponentlerinin çalışma koşullarındaki değerleri

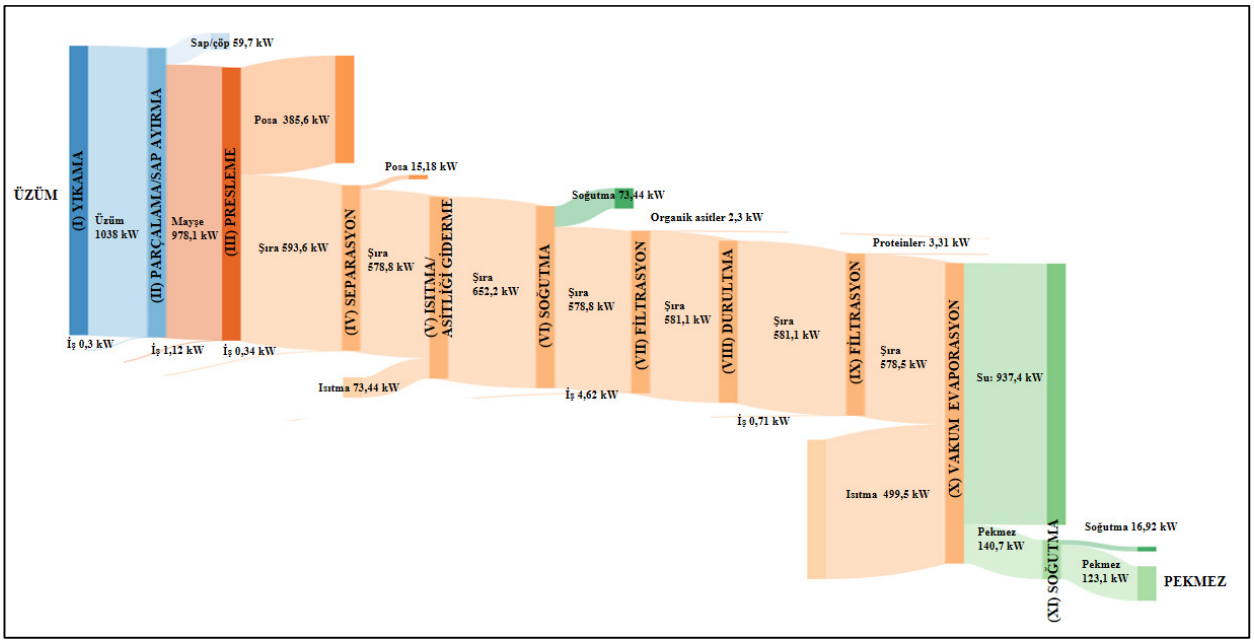
No	Bileşen	Değer (kW)
II	Sap alma/ ezme makinası gücü	0.30
III	Pres gücü	1.21
IV	Separatör gücü	0.34
V	Isıtıcı ısı kapasitesi	73.44
VI	Soğutucu ısı kapasitesi	73.44
VII	Filtrasyon gücü	4.62
IX	Filtrasyon gücü	0.71
X	Vakum evaporatör ısı kapasitesi	499.5
XI	Soğutucu ısı kapasitesi	16.92
Tüm sistem (I-XI)	Enerji gereksinimi	670.48



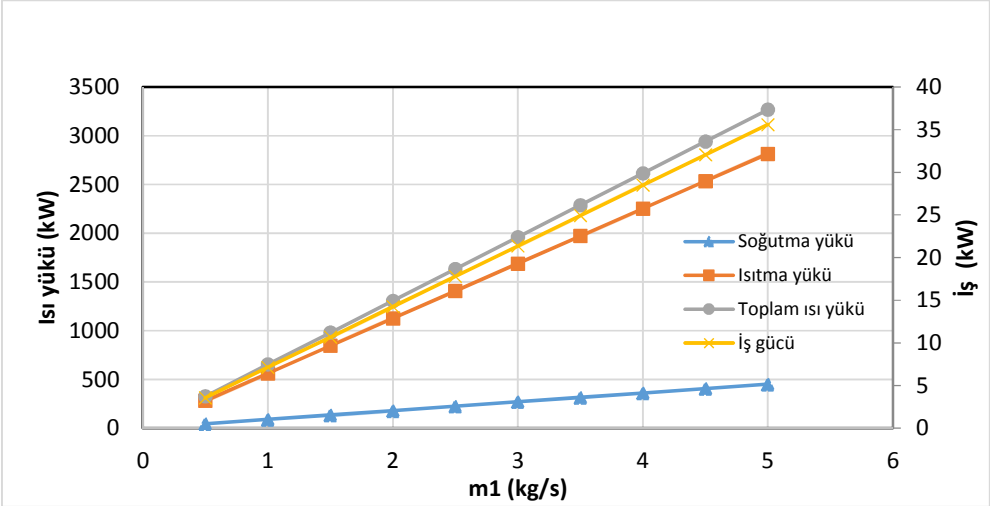
Şekil 2. Pekmez üretim sürecinde yer alan birim işlemlerin enerji verimliliği yüzdeleri



Şekil 3. Pekmez üretim sürecinde enerji tüketim yüzdeleri



Şekil 4. Endüstriyel pekmez üretim sürecinde enerji akım diyagramı (Sankey Diyagramı)



Şekil 5. Üzüm kütle akış hızının ısı yükü ve iş üzerine etkisi

Tablo 6. 1 kg pekmez üretimi için gereken üzüm ve enerji miktarları

	Değer	Birim
Pekmez	1	kg
Üzüm	5.57	kg
Toplam termal enerji ihtiyacı	3695	kJ
Toplam elektrik enerjisi ihtiyacı	39.51	kJ
Toplam enerji ihtiyacı	3734.51	kJ

Bu çalışma, endüstriyel ölçekte pekmez üretim sürecinin enerji analizi üzerine yapılan ilk çalışmadır. Literatürde endüstriyel pekmez üretim sürecine ait veri olmadığı için sistemin enerji verimi diğer gıda üretim süreçleriyle karşılaştırılmıştır. Söğüt ve ark. [12] dört etkili evaporatör kullanılan salça üretim tesisinde evaporatörlerin her birinin enerji verimliliğinin %48-88 değerlerinde olduğunu göstermişlerdir. Bir başka çalışmada, şeker pancarından şeker üretimi yapılan fabrikada yer alan şeker pancarından elde edilen sulu ekstraktın evaporasyonunu içeren işlem basamağının enerji verimliliği yaklaşık %85 olarak rapor edilmiştir. Kırmızı şarap üretiminde tüm sistemin enerji verimliliği %57.2 olarak rapor edilmiştir (12).

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında yapılan literatür incelemesinde, pekmez üretimi hakkında birçok çalışma bulunmasına rağmen, endüstriyel pekmez üretim sürecinin modellemesine ait bir çalışmaya rastlanmamıştır. Pekmez üretim sürecinin detaylı bir şekilde modellemesi, süreç optimizasyonu-kontrolü ve ürün kalitesini etkilemeden enerji tasarrufunun sağlanabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, ilk basamak olarak, literatürden alınan veriler temel alınarak, vakum evaporasyon tekniği ile endüstriyel üzüm pekmezi üretim süreci modellenerek enerji analizi yapılmıştır. Buna göre, sistemin enerji verimliliği %71.2 olarak hesaplanmış ve sistemde en büyük enerji kaybının en düşük enerji verimliliğine sahip olan (%13.05) vakum evaporatörde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, 1kg pekmez üretimi için gereken toplam enerji miktarı 3734,51kJ hesaplanmıştır. Literatürde yer alan diğer gıda üretim süreçlerinin enerji verimlilikleri ile karşılaştırıldığında pekmez üretim sisteminde yer alan vakum evaporatörün enerji verimliliğinin oldukça düşük olduğu görülerek sistemde enerji verimliliği için iyileştirmeler yapılması gerekliliği sonucuna ulaşılmıştır. Bu amaçla, pekmez üretiminde çok etkili vakum evaporatörler kullanılarak enerji verimliliği değerlerinin artacağı düşünülmektedir. Ek olarak, evaporasyon esnasında buharlaşan suyla birlikte yüksek miktarda enerjinin sistemden uzaklaştırıldığı düşünüldüğünde, buharlaşan suyun ve kondensatın üretim süreci içinde kullanılması, atık olan enerjinin verimli bir biçimde sistem içinde tekrar değerlendirilmesi açısından iyi bir alternatif olacaktır.

Termodinamiğin birinci yasası enerji verimliliğini değerlendirmek için yapılan analizlerde gerekli olmakla birlikte, birinci yasa kullanılarak analizi yapılan sistemde yer alan birim işlemlerin potansiyelleri ile kullanım sınırlamaları hakkında tam bir sonuç vermemektedir. Bu bağlamda, çalışmanın devamı olarak, ekserji analizi uygulamasıyla, endüstriyel pekmez üretim sürecinde tersinmezliklerin belirlenerek, termodinamik verimsizliklerin saptanması ve farklı enerji kaynaklarının sistemin enerji ve ekserji verimine etkisinin inceleneceği kapsamlı bir termodinamik analiz uygulaması planlanmaktadır. Ayrıca model çıktıları, endüstriyel pekmez üretim fabrikasından alınacak verilerle doğrulanmalıdır. Validasyon sonucunda elde edilecek veri pekmez üretim sürecinde enerji akımlarının daha iyi anlaşılmasına, enerji kayıplarının belirlenmesine, enerji verimliliğinin artmasına olanak sağlayacak ve enerjinin geri kazanım alternatifleri hakkında bilgi verecektir. Bu çalışmanın benzer sistemler için model olmasını umarız.

TEŞEKKÜR

Makalenin kalitesinin artmasında çok faydalı olan değerli yorumları için hakemlere teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

[1] Arslan, S., 2015. *Ürün raporu, Üzüm.* TC Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Eknomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE), Ankara.

[2] Duran, M., 2003. *Üzüm etüdü.* Dış Ticaret Araştırma Servisi, Ankara.

[3] Batu, A., 2006. Klasik ve modern yönteme göre sıvı ve beyaz katı üzüm pekmezi (Zile pekmezi) üretimi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2: 9-26.

[4] Batu, A., 1993. Kuru üzüm ve pekmezin insan sağlığı ve beslenmesi açısından önemi. *Gıda* 18: 305-307.

[5] T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. *http://www.tarim.gov.tr/GKGM/Belgeler/G%C4%B1da%20 ve%20Yem%20Hizmetleri/gidaisletmeleri_kodeks/2012_yili_gida_sanayi_envanteri/2-Kayit_Isletme_ Turkiye_ Geneli_Kurulu_ Kapasite.pdf.* [Erişim Tarihi: 01 03 2017.]

[6] Türk Gıda Kodeksi, Üzüm Pekmezi Tebliği. *http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2007/06/20070615-6.htm*. [Erişim Tarihi: 01 03 2017.]

[7] Erbay, Z., İçier, F., 2008. Ekserji analizi yönteminin gıda kurutmasındaki önemi ve uygulamaları. *Akademik Gıda* 6(6): 18-27.

[8] Sorgüven, E.,Özilgen, M., 2012. Energy utilization, carbon dioxide emission, and exergy loss in flavored yogurt. *Energy* 40: 214-225.

[9] Taner, T., Sivrioğlu, M., 2015. Energy-exergy analysis and optimisation of a model sugar factory in Turkey. *Energy* 93: 641-654.

[10] Söğüt, Z., İlten, N., Oktay ,Z., 2010. Energetic and exergetic performance evaluation of the quadruple-effect evaporator unit in tomato paste production. *Energy* 35: 3821-3826.

[11] Balkan, F., Çolak, N., Hepbaşlı, A., 2005. Performance evaluation of a triple-effect evaporator with forward feed using exergy analysis. *Int. J. Energy Res.* 29: 455-470.

[12] Genc, M., Genc, S., Göksungur, Y., 2017. Exergy analysis of wine production: Red wine production process as a case study. *Applied Thermal Engineering* 117: 511-521.

[13] Zisopoulos, F.K., Rossier-Miranda,F.C., Van Der Goot, A.J., Boom, R., 2017. The use of exergetic indicators in the food industry – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57(1) 197-211.

[14] Nas, S., Nas, M., 1987. Pekmez ve pestilin yapılışı, bileşimi ve önemi. *Gıda* 12(6): 347-352. *Gıda* 12(6) 347-352.

[15] Kaya, C., Yıldız, M., Hayoğlu, İ., Kola, O., 2005. Pekmez üretim teknikleri. *GAP IV.Tarım Kongresi, Bildiri Kitabı. Sayfa:* 1482-1490*, Şanlıurfa*.

[16] Batu, A., 2005. Production of liquid and white solid pekmez in Turkey. *Journal of Food Quality* 28: 417-427.

[17] Cemeroğlu, B., 2013. Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler. Bizim Büro Basımevi, Ankara.

[18] Üstün, Ş., Tosun, İ., 1997. Pekmezlerin bileşimi. *Gıda* 22(6): 417-423.

[19] Singh R.P., Heldman, D.R., 2013. Introduction to Food Engineering (5th ed.), Academic Press, London.

[20] F-Chart software, 2014. Engineering Equation Solver. *F-Chart Software*.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 60-65, DOI: 10.24323/akademik-gida.306066

Derleme Makale / Review Paper

Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları

Azize Atik[1], Tuncay Gümüş[2,]

[1]Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sultandağı Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, Afyonkarahisar
[2]Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ

Geliş Tarihi (Received): 09.07.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 18.10.2015
Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): tgumus@nku.edu.tr (T. Gümüş)
0 282 250 21 59 0 282 250 99 54

ÖZ

Son yıllarda beslenme bilincinin artmasıyla beraber doğal gıdalara olan talep artmıştır. Tüketicilerin doğal katkılar kullanılarak üretilmiş gıdaları tercih etmesi gıda üretiminde sentetik maddelere alternatif doğal madde arayışlarına hız kazandırmıştır. Bu doğal ürünler arasında yaygın olarak kullanılan arı ürünleri de yer almaktadır. Arı ürünlerinin tümü birçok hastalığın tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Az bilinen arı ürünlerinden biri olan propolisin önemi son yıllarda anlaşılmaya başlanmıştır. Kimyasal kompozisyonu, sahip olduğu bileşenlerin antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen vb. biyolojik aktivitelere sahip olmaları propolisi önemli bir bileşen haline getirmiştir. Antibakteriyel, antifungal, antioksidan nitelikleri ile propolisin gıda muhafazasında kimyasal koruyuculara alternatif bir katkı olması ile ilgili gıda teknolojisi alanında yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu derlemede alternatif bir gıda katkı maddesi olabilecek propolisin gıda teknolojisinde uygulamalarına yönelik yapılmış çalışmalar bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Propolis, Gıda, Antibakteriyel, Antifungal

Potential Uses of Propolis in Food Industry

ABSTRACT

In recent years, consumer consciousness towards healthy nutrition has increased consumer demand for natural foods. Customer demand for foods produced by natural additives has stimulated researches on natural materials that are alternative to synthetic materials in food production. Among these natural products, bee products are extensively used. Bee products have been used to cure several illnesses. Propolis is one of the little known bee products and has become an important ingredient in food industry. Its importance comes mainly from its chemical composition and biological activities like antimicrobial, antioxidant and anticarcinogenic effects. There are favorable researches in food science and technology related with the antibacterial, antifungal, and antioxidant properties of propolis in the field of food preservation as an alternative to chemical preservatives. In this study, studies about propolis as an alternative food additive in food industry are reviewed.

Keywords: Propolis, Food, Antibacterial, Antifungal

GİRİŞ

Günümüzde beslenme bilincinin artmasıyla doğal ya da doğal katkılar kullanılarak üretilmiş gıdalara olan talep artmıştır. Gıda endüstrisinde gıdaların bozulmalarını önlemek amacıyla kullanılan sentetik maddeler son derece ucuzdur. Fakat bu sentetik maddelerin istenmeyen yan etkilerinin olması ve özellikle de kansere neden olma riski, bu maddelere şüphe ile bakılmasına neden olmuştur. Bu nedenle, özellikle besinlerde doğaya dönüş akımı ile birlikte, sentetik maddelere alternatif doğal madde arayışları hız kazanmıştır [1].

Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılanlardan birisi de, arılardan elde edilen ürünlerdir. Bal arısının (*Apis mellifera*) ürünleri olan arı sütü, polen, bal, arı ekmeği, arı zehiri ve propolisin değişik oran ve bileşimlerle hazırlanarak hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılmasına tıp dilinde "Apiterapi" adı verilmektedir [2, 3]. Apiterapi, arıcılık kadar eskidir [4]. 2000 yıl önce tıpçılar tarafından yazılan Çin metinlerinde halk arasında hastalıkların tedavisinde arı ürünlerinin kullanıldığına dair bilgiler mevcuttur [5].

Günümüzde, arılardan iki şekilde ürün elde edilmektedir. Bunlar; arı sütü, balmumu ve arı zehri gibi, arının doğrudan vücudundan salgılanan ürünler, diğeri ise bal, polen ve propolis gibi bitkilerden topladığı ve kısmen vücut salgılarını eklediği ürünlerdir [1]. Bu ürünler arasında az bilinenlerden biri olan propolisin önemi son yıllarda anlaşılmaya başlanmıştır. Kimyasal kompozisyonu, sahip olduğu bileşenlerin antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen vb. biyolojik aktivitelere sahip olmaları propolisi önemli bir bileşen haline getirmiştir. Propolisin içeriği, toplanıldığı bölgedeki bitkilerin içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle, dünyanın farklı coğrafik bölgelerine ait olan propolis örneklerinin kimyasal yapısı ve farmakolojik aktivitelerinin incelenmesi ve belirlenmesi gerekmektedir. Propolisin yapısında bulunan aktif bileşenlerin belirlenmesi için değişik çalışmalarda farklı analitik yaklaşımlar kullanılmıştır [6].

Araştırmaların çoğu propolisin kimyasal bileşimi, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine odaklanmıştır. Antik çağlardan bu yana propolisin tedavi edici özelliklerinden tıp alanında faydalanıldığı bilinmektedir [7]. Bunun yanı sıra kozmetik, gıda gibi çeşitli endüstri dallarında kullanımı son zamanlarda gündeme gelmiş ve araştırmalar propolisin tıp dışındaki alanlarda kullanımına yönelmiştir.

Özellikle antibakteriyel, antifungal, antioksidan nitelikleri ile propolisin gıda muhafazasında kimyasal koruyuculara alternatif bir katkı olması mümkündür. Propolisin gıda teknolojisinde değerlendirilmesine yönelik yapılan çalışmalar olumlu sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada alternatif bir gıda katkı maddesi olabilecek propolisin gıda teknolojisinde uygulamalarına yönelik yapılmış çalışmalar incelenmiştir.

PROPOLİS ve KULLANIM ALANLARI

Propolis

Propolis; işçi arıların ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde topladığı reçinemsi maddeleri ve bitki salgılarını, başlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratıp bir miktar bal mumu karıştırarak oluşturdukları reçinemsi bir maddedir [8].

Propolisin kelime anlamı eski Yunancadan gelmektedir. “Pro”; ön, giriş ve “polis”; şehir anlamına gelmekte, bal arılarının kovan savunması ile ilgili olarak kullanılmıştır. Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır [9]. İnsanoğlu propolisi çok eski çağlardan beri farklı amaçlar için kullanmışlardır. Uzun yıllar boyunca propolisten tıpta çeşitli amaçlar için yararlanılmıştır. Günümüze kadar gelen eski Yunan yazıtları propolisin iltihaplanan yaralar ve diş çürükleri için tedavi amacıyla kullanıldığını tanımlarken, Roma’lılar döneminde yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın içerisine katılarak kullanılmaktaydı. İbranice eski vasiyetnamelerde “Tzori” olarak geçmektedir ve tedavi edici özelliklerinden bahsedilmektedir. Avrupa’daki 12.yüzyıl kayıtları propolisin medikal preparatlarının ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahsetmektedir. Propolis son zamanlarda oldukça popüler hale gelmiştir. İnsanlık için bu reçinemsi yapının keşfedilen yararları henüz çok az aydınlatılabilmiştir [8, 10, 11].

Propolis çok değişik kimyasal maddeler içermesi ve antibakteriyel etkisinden dolayı kovan içinde arılar tarafından kullanımı dışında, ilaç ve kozmetik sanayii ile apiterapide kullanılan bir maddedir. Mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivitesi propolisin çok önemli karakteristik bir özelliğidir. Propolis sahip olduğu özelliklerinden dolayı 1960’ların sonundan itibaren bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve günümüze kadar propolisin terapötik kullanımı, farmokolojisi, biyolojik aktiviteleri ve kimyasal yapısı üzerine pek çok araştırma yapılmıştır [12].

Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Arıların balmumu ile karıştırdıkları propolisin bazı bitkilere özgü proteinleri de yapısında bulundurması, propolisin mumsu kısmının bitkisel mum yapısında olduğunu göstermektedir [11]. Propolis 10°C altında sert ve kırılgan olup, derin dondurucuya konduğu zaman hemen katılaşır. İstenirse bir öğütücü yardımıyla toz haline getirilebilir. Propolis, 15-25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermektedir; 30-40°C arasında ise yumuşayıp yapışkan bir durum almakta ve bu durum yaz aylarında arıcının çalışmasını güçleştirmektedir. 80°C’de kısmen erir. Kovandan alındığı zaman yapışkan ve kendine özgü bir kokusu olan propolisin rengi; bitki türüne, kaynağına, yasına bağlı olarak sarıdan koyu kahverengiye kadar değişmektedir. Propolisin rengi, kokusu ve tıbbi karakteri bitkiye, bölgeye, mevsime ve koloniye bağlı olarak değişir [12].

Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95’lik alkolde büyük ölçüde çözünmekte, suda çok az çözünmekte veya hiç çözünmemektedir. Propolis, tıbbi alanda %70’lik alkolde çözünmüş çözelti olarak kullanılmaktadır [11, 13]. Propolisin bileşimi arılar tarafından kullanılan bitki kaynağına bağlı olarak çeşitlilik göstermekle birlikte genellikle %50 reçine (flavonoidler ve fenolik asit türevlerini içeren) ve bitkisel balsam, %30 balmumu, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır [14].

Propolis polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehitler, alkoller ve ketonlar, sekuiterpen kinonlar, kumarinler, steroidler, amino asitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal yapıları kapsayan 300'den fazla bileşen içermektedir [14, 15]. Reçine ve balzam içeren kısım terpenler, polisakkaritler, kafeik asit gibi maddeler içerir. Balmumu ise yağ asitleri, B vitaminleri, C ve E vitaminleri içerir. Organik kısmın en önemli bölümü olan flavonoidler (polifenolik içerik), üzerinde en fazla çalışma yapılmış maddeler olup, propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur. Bu kısım pinosembrin, pinostrobin, kuerasetin gibi maddeleri içerir. Propolis ayrıca farklı mineral ve oligo elemanlar içerir. Flavon ve flavonoidler propolise antifungal, antiviral ve antibakteriyel özellikler kazandıran maddelerdir. İçerdiği başlıca kimyasal bileşikler şunladır; flavonoidler, sinnamik asit ve türevleri benzoik asit, sinaptik ve izoferulik asitler, çeşitli aldehitler, ketonlar ve eser elementler, kleredon, diterpenler, seskiterpenler ve tripenler (özellikle de steroitler) [8].

Propolisin temel komponentlerinin flavonoidler olduğu tespit edilmiştir. Propolisin flavonoid yapısı toplandığı bitkiye bağlı olarak bazı farklılıklar da gösterebilmektedir. Propoliste bulunan bütün komponentlerden flavonoidlerin oranı %25'in üzerindedir. Flavonoidler polifenolik bileşiklerdir. Serbest radikal temizleme özelliklerinden dolayı antioksidandırlar ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Alternatif olarak metal şelat oluşturmalarından ötürü de antioksidant olabilecekleri belirtilmektedir [8, 16].

Propolisin farmakolojik yönden değerli olması, günümüzde tıbbi preparatlarının hazırlanması ve antibakteriyel ve antiviral yönden değerli olması, içerisinde bulunan sekonder metabolitler sayesindedir. Bu metabolitler arasında; fenolik asitler (kafeik asit ve sinnamik asit) ve esterleri, ketonlar, fenolikaldehitler, flavonlar ve flavonoidler (pinosembrin, pinobanksin, akasetin, krisin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin, kuarsetin), terpenler ve terpenoidler, aromatik asit ve esterleri, aminoasitler, alkoller, aldehitler, alifatik asit ve esterleri ve bazı hidrokarbonlar sayılabilir [1].

Propoliste Bulunan Bileşenlerin Biyolojik Aktiviteleri

Propolisin antibakteriyel, antiviral, antifungal, antikaryojenik, antiülser, immünomodülatör, antiinflammatuar, antioksidan, hepatoprotektif, anestezik, antitümöral, antikanser, radyoprotektif, nöroprotektif, antiproliferatif ve tümör indüklü anjiogeneze karşı koruyucu gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip olduğu yapılan değişik araştırmalarla gösterilmiştir. Bitki kaynağı ve toplanma bölgesi propolisin biyolojik aktivitesinde büyük önem taşımaktadır. Flavonoidler gibi fenolik bileşikler propolisin biyolojik aktivitesinden başlıca sorumlu olan yapılardır. Farklı yapısal özelliklere sahip olan flavonoidler biyolojik aktivitelerinde önemli çeşitlilikler gösterir. Flavonoidlerin hayvan sistemlerindeki biyokimyasal etkileri; biyolojik polimerlere bağlanma eğilimi, ağır metal iyonlara bağlanma, elektron taşınmasının hızlandırılması ve serbest radikalleri yakalama yeteneği olmak üzere dört kategoriye ayrılmaktadır. Flavonoidlerin ve fenolik asitlerin, özellikle kafeatların antibakteriyel, antiviral ve antioksidan etkileri bilinmektedir [14].

Propolisin en yaygın bilinen ve en çok araştırılan özelliklerinden biri antimikrobiyal aktivitesidir. Propolisin çeşitli bakteri, mantar, virüs ve diğer mikroorganizmalara etkisi ile ilgili birçok bilimsel çalışma gerçekleştirilmiştir [17]. Propolisin antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili çalışmaların bazılarında propolisin yalnızca Gram(+) bakteri ve bazı funguslara karşı aktif olduğu [18], diğerlerinde ise Gram(-) bakterilere karşı aktivitesinin zayıf olduğu belirtilmiştir [19]. Genellikle Gram(+) bakterilerin propolise karşı, Gram(-) bakterilere kıyasla daha hassas olduğu bildirilmiştir. Propolisin, insan tüberküloz basilini de kapsayan Gram(+) basillere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu daha önceki çalışmalarda da bildirilmiştir [20]. Propolisin mikroorganizma gruplarına karşı etkisi Tablo 1'de listelenmiştir [17].

Tablo 1. Propolisin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi [17].

Antimikrobiyal Etki	Hedef Organizma
Bakterisidal Etki	*Bacillus* larvaları
	Bacillus subtilis ve diğ.
	Staphylococcus türleri
	Staphylococcus aureus
	Streptococcus
	Streptomyces
	Saccharomyces cerevisiae
	Escherichia coli
	Salmonella ve Shigella
	112 anaerobik suş
	Klebsiella pneumoniae
Fungisidal Etki	*Candida albicans*
	Aspergillus niger
	Botrytis cinerea
	Ascosphaera apis
	Plasmopara viticola
Antiviral Etki	Herpes
	Patates virüsü
	İnfluenza
Nematodisidal Etki	*Ascaris suum*

Propolisin Kullanım Alanları

Sahip olduğu nitelikler nedeniyle propolisin antik çağlardan bu yana tedavi ve sağlık amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Doğal ilaçların başında gelen propolisin kimyasal yapısı, farmakolojik özellikleri ile etkili ve hızlı bir şekilde fayda sağlaması çeşitli şekillerde kullanımı yaygınlaştırılmış olup ticari olarak propolis ürünlerini kapsül, tablet, granül, pastil ve çiklet şeklinde bulmak mümkündür [11].

Propolisin başlıca kullanım alanları aşağıda sıralanmış olup, propolisin önemi anlaşıldıkça bu alanların sayısı artmaktadır [8]:

a. Propolis, bakterilerin birçoğuna karşı öldürücü ya da gelişmelerini engelleyici bileşikler içermesi nedeniyle bazı bakteriyel hastalıkların iyileştirilmesinde, vücudun genel çalışma sistemi ve iç salgı bezlerinin çalışmalarının düzenlenmesinde, bazı fungal hastalıkların tedavisinde, içerisindeki esansiyel yağ asitleri nedeniyle lokal anestezide, grip, uçuk gibi viral enfeksiyonlara karşı, antitümör etkisi nedeniyle özellikle akciğer kanserlerinde, hastalık sonrası halsizliğin ve yorgunluğun giderilmesinde, doku ve hücrelerin formasyonunu düzenlemede, antiromatik özelliği nedeniyle romatizmal hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sistemini düzenlenmesinde hastalıklara karşı vücut direncini arttırmakta kullanılır.
b. Çürümeyi ve bozulmayı engelleyici özelliği ile gıda sanayinde kullanılmaktadır.
c. Çimlenme engelleyici olması nedeniyle yumrulu bitkilerin saklanmasında kullanılır.
d. Mobilya sanayinde cila işlerinde kullanılır.
e. Propolis bitki ekstraktları, arı sütü ve E vitamini ile birlikte kozmetik alanında gün geçtikçe artan oranlarda kullanılmaktadır. Cildi besleyici, temizleyici ve onarıcı ürünlerden krem, süt ve pomatların yapımında geniş ölçüde kullanım alanına sahiptir.
f. Evcil hayvanların ayak ve deri problemlerinin çözümünde, endometritisin tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir.

PROPOLİSİN GIDA TEKNOLOJİSİNDE KULLANIMI

Propolisin antibakteriyel, antifungal, antioksidan özellikleri nedeniyle gıda teknolojisinde kullanımına yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Reçinemsi yapısı nedeniyle propolisin doğrudan kullanımı mümkün değildir. Bu nedenle su, etanol, metanol, eter vb. çözücülerde ekstrakte edilerek elde edilen eksraktın kullanımı yaygındır.

İşlenmemiş tavuk etlerine marinasyon sırasında uygulanan propolisin mikrobiyal gelişimi engellediği aynı zamanda işlenmiş etlerde toplam uçucu nitrojen (TVB-N) içeriğini ve TBA değerlerini azaltmakta olduğu bildirilmiştir [22]. Bal, propolis, ve arı sütü ile muamele edilen taze sığır, domuz, tavuk eti ve balık filetolarında oksidatif bozulmanın incelendiği bir çalışma arı ürünlerinin antioksidan etki gösterdiğini ve oksidatif bozulmayı yavaşlattığını göstermiştir. Ayrıca balın özellikle de propolis ve arı sütünün güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [23].

Yapılan bir çalışmada 8 hafta süreyle depolanan yağ ilave edilmiş et ürünlerine; %0.02, %0.4'lük etonolik propolis ekstraktı ve %28 potasyum sorbat ilave edilerek muhafaza süresine etkinliği incelenmiş ve propolis ile muamele edilen et ürünlerinin muhafaza süresinin daha uzun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca %0.4 propolis ekstraktı kullanılan etlerde tiyobarbütirik asit (TBA) ve melandialdehit (MDA) artışı en düşük düzeyde bulunmuştur [24].

Sığır etinden yapılmış hamburger köftelerinin etonolik propolis ekstraktı ile muamele edilip üç ay -18°C'de dondurularak muhafazasında fizikokimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin belirlendiği bir çalışmada, propolisin et kalitesini olumsuz yönde etkilemeden raf ömrünü artırdığı tespit edilmiştir [25].

Sulu propolis ekstraktının şabut (*Barbus grypus*) filetolarının muhafazasına etkisinin incelendiği bir araştırmada %0.1, 0.3 ve 0.5 konsantrasyonlarında propolis ekstrakları ile muamele edilen filetolar 24 gün 2°C'de muhafaza edilmiştir. Araştırma sonunda %0.1 konsantrasyonda propolis ekstraktı raf ömrünü yaklaşık 6 gün uzatırken, %0.5 konsantasyonun 12 güne kadar muhafaza süresini uzattığı görülmüştür [26]. Yapılan çalışmalar propolisin güçlü antibakteriyel ve antioksidan özellikleri nedeniyle et ve et ürünlerinin üretim ve muhafazasında doğal bir koruyucu olarak kullanılabilir olduğunu göstermektedir.

Farklı propolis konsantrasyonlarının (250, 500, 1000 ppm) ras peyniri yüzeyinde oluşan mikrobiyal yük üzerine etkisinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına göre 1000 ppm konsantrasyondaki propolisin peynirde küf ve sterigmatosistin oluşumunu tamamen engellediği görülmüştür [27]. Yoğurtta bazı fermentatif bakteriler üzerine propolisin antibakteriyel etkisi incelenmiş ve düşük konsantrasyonlarda bile normal bakteri gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir [22]. Bu çalışma sonuçlarına göre propolisin süt ürünlerinde ekonomik ve doğal bir koruyucu olarak kullanımı mümkündür.

Pastörize edilmiş meyve sularında bozulmaya neden olan 6 maya türüne karşı propolis ekstraktının antifungal etkisinin belirlendiği araştırmada, propolisin mayalara karşı önemli ölçüde inhibe edici etki gösterdiği tespit edilmiştir [28]. Propolisin gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Bacillus cereus, Staphlococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* patojenlerine karşı etanolik propolis ekstraktının etkisi disk düfizyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ekstraktın tüm bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiş ve ilgili patojenlere karşı gıda güvenliğinin sağlanmasında propolisin doğal bir koruyucu olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [29]. Benzer bir çalışmada etanolik propolis ekstraktının *Escherichia coli* patojenine karşı bakterisidal ve bakteriyostatik etkisi incelenmiştir. Ekstraktın *E. coli* gelişimini başarılı bir şekilde inhibe ettiği görülmüş ve doğal gıda koyucusu olarak kullanımının mümkün olacağı bildirilmiştir [30].

Temiz ve ark. [21], propolisin, gıdalarda mikotoksin üreterek gıda toksikasyonuna neden olan *Aspergillus versicolor* ve *Penicillium aurantiogriseum* küflerine karşı antifungal etkisini incelemişlerdir. Çalışmada üç farklı konsantrasyonda (%1, %5 ve %10) propolis ekstraktı kullanılmış ve %1-5 konsantrasyonlarda farklı oranlarda antifungal etki gösterirken %10 konsantrasyondaki ekstraktın her iki tür küf gelişimini %100 engellediği rapor edilmiştir. Bu çalışma propolisin antifungal özelliğiyle gıda muhafazasında kullanımının mümkün olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda gıdaların sağlıklı ve uzun süre korunması amacıyla antibakteriyel ve antioksidan polilaktik asit

filme propolis ilave edilmesiyle, gıda ambalaj sanayinde yeni bir uygulama gündeme gelmiştir [22]. Yapılan çalışma sonuçları propolisin gıda teknolojisinde kullanılabileceğini göstermektedir.

SONUÇ

Günümüzde doğal yaşam ve beslenme bilincinin gelişmesine paralel olarak, doğal ya da doğal katkılar kullanılarak üretilmiş işlenmiş gıdalara olan talep artmıştır. Gıda endüstrisinde gıdaların bozulmalarını önlemek amacıyla kullanılan sentetik maddelerin yan etkilerinin olması ve özellikle de kansere neden olma riski, bu maddelere şüphe ile bakılmasına neden olmuştur. Bu nedenle, özellikle besinlerde doğaya dönüş akımı ile birlikte, sentetik maddelere alternatif doğal madde arayışlar başlamış ve özellikle propolisin sahip olduğu özellikleri nedeniyle gıda, tarım, hayvancılık alanlarında kullanılmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır.

Propolis içerdiği bileşenlerin güçlü antioksidan, antibakteriyel, antifungal özelliklere sahip olduğunu göstermiş bu durum propolisin çeşitli endüstri dallarında kullanımına yönelik çalışmalara ışık tutmuştur. Özellikle güvenli gıda üretiminde, gıda muhafazasında kimyasal koruyuculara alternatif bir doğal katkı maddesi olarak değerlendirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Propolisin gıda teknolojisinde kullanımına yönelik yapılan çalışmalar olumlu sonuçlar vermektedir. Bununla birlikte propolisin gıdalara ilave edildikten sonra duyusal özelliklerindeki değişiklikler ile birlikte, endüstriyel boyutta kullanım için daha fazla araştırma yapılmasına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

[1] Yavuz, C., 2011. Türkiye'nin Bazı İllerinden Toplanan Propolislerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.

[2] Yücel, B., 2004. Apiterapi; Arı Ürünlerinin İnsan Sağlığı Üzerindeki Önemi. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çiftçi Broşürü: 56, İzmir.

[3] Ulusoy, E., 2012. Bal ve apiterapi. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 12(3): 89-97.

[4] Hamdy, M.H., El-Banby, M.A., Khakifa, K.L., Gad, E.M., Hassanein, E.M., 1989. The antimicrobial effect of honey in the management of septic wounds. Fourth International Conference on Apiculture in Tropical Climates, Cairo, International Bee Research Association, London, pp. 61-67.

[5] Bayrak, N., 2000. Arı Ürünlerinin (Bal, Arı Sütü, Polen ve Propolis) Mikrofloralarının ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

[6] Bankova, V., Marcucci, M., Castro, S., 2000. Propolis recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3-15.

[7] Silici, S., Kutluca, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity af propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 69-73.

[8] Duman, S., 2010. Çanakkale (Türkiye) İlinde Toplanan Propolis Örneklerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.

[9] Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B., C., Ceyran, G., 2002. Önemli bir arı ürünü: Propolis. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2(2): 10-24.

[10] Kutluca, S., 2003. Propolis Üretim Yöntemlerinin Koloni Performansı ve Propolisin Kimyasal Özellikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

[11] Duran, G.G., 2007. In vitro Koşullarda Propolisin Antibakteriyal, Antifungal ve Leyişmanyasidal Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.

[12] Karabulut, E., 2011. Proplisin Etanolik Ekstresinin *Helicobacter pyroli*'ye Karşı Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

[13] Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food Chemical Toxicology* 36: 347-363.

[14] Çakıroğlu, T.N., 2010. Çeşitli Çözücülerde Türk Propolisinin Çözünürlüğünün İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

[15] Kanbur, M., Eraslan, G., Silici, S., 2009. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Exotoxicology and Enviromental Safety* 72: 909-915.

[16] Özan, F., 2006. Propolis'in Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi. Doktora Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

[17] Albayrak, S., Albayrak, S., 2008. Propolis: doğal antimikrobiyal madde. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi* 37(3): 201-115.

[18] Marcucci, M.C., 1995. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 26: 83–89.

[19] Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S.A.H., Dandiya, P.C., 1991. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Etnopharmacology* 35: 77–82.

[20] Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N., Calder, P.C., 1997. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiology Research* 152: 239–246.

[21] Temiz, A., Mumcu, A.Ş., Tüylü, A.Ö., Sorkun, K., Salih, B., 2013. Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of Turkey against two food-related molds, *Aspergillus versicolor* and *Penicillium aurantiogriseum*. *Gıda* 38(3): 135-142.

[22] Topal, E., Yücel, B., Köseoğlu, M., 2013. Propolisin hayvancılık, tarım ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Hasad Hayvancılık Dergisi* 29(341): 58-65.

[23] Nagai, T., Inoue, R., Kanamori, N., Suzuki, N., Nagashima, T., 2006. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. *Food Chemistry* 97: 256-262.

[24] Han, S.K., Park, H.K., 2002. Accumulation of thiobarbituric acid-reactive substances in cured pork sausage treated with propolis extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(13): 1487-1489.

[25] Moghazy, E.A., El-Shaarawy, M.O.A., 2001. Quality attributes of beefburger as affected by using propolis and frozen storage. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 79(4): 479-495.

[26] Duman, M., Özpolat, E., 2015. Effect of water extract of propolis of fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. *Food Chemistry* 189: 80-85.

[27] Aly, S.A., Elewa, N.A., 2007. The Effect of Egyptian honeybee propolis on the growth of *Aspergillus versicolor* and sterigmatocystin biosynthesis in Ras cheese. *Journal of Dairy Research* 74(1): 74-48.

[28] Koç, A.N., Silici, S., Mutlu, S.F., Sağdıç, O., 2007. Antifungal activity of propolis in four different fruit juices. *Food Technology and Biotechnology* 45(1): 57-61.

[29] Nedji, N., Loucif-Ayad, W., 2014. Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 4(6): 433-437.

[30] Tosi, E.A., Re, E., Ortega, M.E., Cazzoli, A.F., 2007. Food preservative based on propolis: bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry* 104: 1025-1029.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 66-74, DOI: 10.24323/akademik-gida.306069

Derleme Makale / Review Paper

Potansiyel Fonksiyonel Bileşen: Kahve Çekirdeği Zarı

Gizem Ateş, Yeşim Elmacı ✉

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

Geliş Tarihi (Received): 01.06.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 02.12.2016
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): yesim.elmaci@ege.edu.tr (Y. Elmacı)*
0 232 311 13 16 0 232 342 75 92

ÖZ

Kahve sudan sonra en çok tüketilen ve petrolden sonra en çok ticareti yapılan ikinci önemli üründür. Tüketicinin kahveye artan talebinden dolayı kahve endüstrisinde çok miktarda atık meydana gelmekte olup, kahve çekirdeği zarı temel atıklardan biridir. Kahve çekirdeği zarı, kahve çekirdeğini saran ve kavrulma işlemi sırasında oluşan bir yan üründür. Düşük oranda yağ ve indirgen karbonhidrat içeriğine, yüksek oranda protein, kül ve lif içeriğine sahip olan kahve çekirdeği zarı, diyet lifince zengin ürünlerin geliştirilmesinde fonksiyonel bir bileşen olarak değerlendirilebilir. Aynı zamanda antioksidanca zengin olan kahve çekirdeği zarının yapılan ön araştırmalarda in vitro ortamda bifidobakterilerin gelişimini destekleyici etkisinin görülmesi ile prebiyotik etkiye sahip fonksiyonel bir bileşen olduğu belirlenmiştir. Bu derlemede, kahve çekirdeği zarının kimyasal ve fonksiyonel özellikleri sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kahve, Kahve çekirdeği zarı, Diyet lifi, Antioksidan madde, Fonksiyonel bileşen

Potential Functional Ingredient: Coffee Silverskin

ABSTRACT

Coffee is the second most consumed beverage after water and the largest traded commodity after petroleum. Due to the great consumer demand of coffee, large amounts of residues are generated in the coffee industry, and coffee silverskin is one of the most important by-products of coffee industry. Coffee silverskin is a tegument of coffee bean, which is a by-product of roasting process. With its low contents of fat and reducing carbohydrates and high contents of soluble dietary fiber, protein and ash, silverskin could be used as a functional ingredient in developing foods enriched with dietary fiber. Additionally, coffee silverskin with high antioxidant capacity supports growth of bifidobacteria in vitro, which might have some beneficial effects, thus coffee silverskin can be proposed as a new potential functional ingredient due to potential prebiotic activity. In this review, chemical and functional properties of coffee silverskin are presented.

Key Words: Coffee, Coffee silverskin, Dietary fiber, Antioxidant compound, Functional ingredient

GİRİŞ

Kahve 1000 yıllık bir geçmişe sahip olan, dünyada en çok tüketilen ve petrolden sonra en çok ticareti yapılan ikinci önemli üründür [1-3]. Kahve bitkisi yaklaşık 80 tür içermekte [4], yalnızca iki türü ticari olarak kullanılmaktadır. Bunlar kahve üretiminin %75'ini karşılayan *Coffea arabica* (Arabika) ve %25'ini karşılayan *Coffea canephora* (Robusta) olarak bilinmektedir. Arabika kahvesinin sahip olduğu duyusal özellikler bakımından Robusta'dan daha üstün olduğu ve uluslararası piyasada yüksek fiyatlara sahip olduğu belirtilmektedir [1-2]. Dünya çapında birçok ülkede

kahve üretimi yaygınlaşmakta, Brezilya, Vietnam ve Kolombiya dünyadaki kahve üretiminin yarısından fazlasını karşılamaktadır. Uluslararası Kahve Organizasyonu (International Coffee Organization) tarafından kahve tüketimi 2011-2012 yılında 60 kg'lık 130 milyon torba olarak belirlenmiş ve dünyada her gün 2.25 milyar fincandan fazla kahve tüketildiği belirtilmiştir [5].

Kahve meyvesi düzgün ve sert bir dış kabuk (perikarp) ile kaplıdır. Meyve ham iken genellikle yeşil renklidir, olgunlaştığında ise koyu kırmızı veya kırmızı-mor bir renge dönüşmektedir. Perikarp yumuşak, sarımsı, lifli ve tatlı bir tadı olan pulpu (mesokarp) sarmakta, bunu yarısaydam, renkli, ince, viskoz ve su ile birleşme kapasitesi yüksek olan musilaj tabakası izlemektedir [6-7]. Daha sonra, sarımsı ince bir endokarp tabakası görülmektedir. En içte ise kahve çekirdeklerinin iki yarımküresini de kaplayan çekirdek zarına rastlanılmaktadır [7].

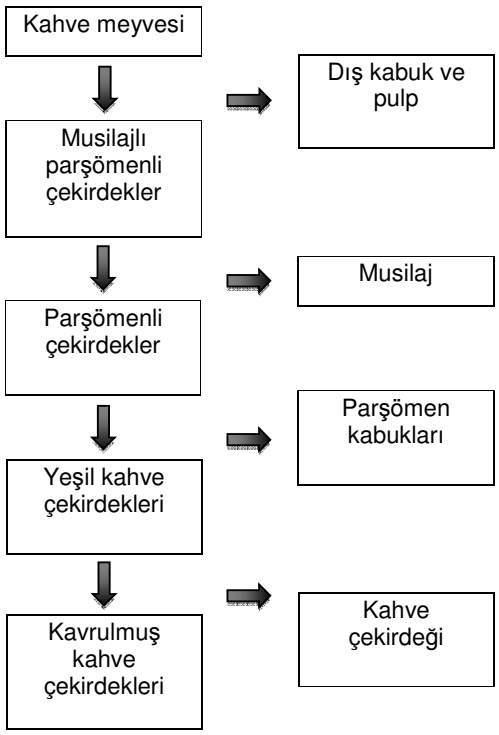
Yeşil kahve çekirdeğine sarılı halde bulunan kahve çekirdeği zarı, kavurma işleminin yan ürünü olarak elde edilmekte [5, 7-9] ve yüksek konsantrasyonda diyet lifi ve antioksidan madde içermektedir [7, 10]. Yüksek antioksidan içeriği, fenolik maddelerin konsantrasyonundan ve kavurma işlemi boyunca gerçekleşen Maillard reaksiyonu sonucu oluşan melanoidinden kaynaklanmaktadır. Lifli dokunun ana bileşenlerini selüloz ve hemiselüloz oluşturmakta, proteinlerin yanı sıra glukoz, ksiloz, galaktoz, mannoz ve arabinoz gibi monosakkaritler içermektedir [7].

Kahve endüstrisi yan ürünleri ile ilgili bugüne kadar yapılan çalışmaların birçoğu kahve küspesine yöneliktir. Bu çalışmada kahve çekirdeği zarının kimyasal özellikleri ile fonksiyonel özellikleri konusunda yapılan çalışmalar incelenmiş, kahve çekirdeği zarının fonksiyonel bileşen olarak gıdalarda kullanılabilirliği ile ilgili bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

KAHVE ÇEKİRDEĞİNİN İŞLENMESİ ve OLUŞAN YAN ÜRÜNLER

Kahvenin uluslararası ticareti, kahveye kuru veya yaş işleme yöntemi uygulanarak gerçekleştirilmektedir [7]. Kuru işleme yöntemi Robusta tipi kahve üretiminde ve Brezilya'da üretilen Arabika tipi kahve üretiminin büyük çoğunluğunda uygulanan bir yöntemdir. Yöntemde doğal ve yapay kurutma uygulanmakla birlikte en yaygın olarak uygulanan kurutma yöntemi güneşte kurutmadır [7, 11]. Bu yöntemde hasat edilmiş kahve meyvesi %10-11 rutubete kadar güneşte kurutulup mekanik yolla tek aşamada çekirdeği saran kısımlardan (kabuk, dış zar, pulp, musilaj, parşömen tabakası ve çekirdek zarı) uzaklaştırılmaktadır [7]. Kurutmada kiraz kırmızısı renk dikkate alınmakta, açık havada 12-15 gün içinde bu renk elde edilmektedir [5]. Yapay kurutmada statik, döner, yatay veya dikey kurutucular kullanılabilmektedir [7, 11]. Bu yöntemde kahve çekirdeği su ile işlem görmediği için küf oluşumu tehlikesine maruz kalmamaktadır. Kurutma işlemi istenilen renk, şekil ve aromatik bileşenleri sağlamasından dolayı kahve kalitesine olumlu bir katkıda bulunmaktadır [5].

Yaş işleme yöntemi ise 3 aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 1) [11]. Birinci aşamada kahve kabuğu ve pulp, 2.aşamada musilaj ve çözünebilir şeker, 3.aşamada ise parşömen tabakası uzaklaştırılmaktadır. Bu yöntemde, kahve meyvesinin preslenmesi ile zar ve pulpun büyük kısmı uzaklaşmış olmaktadır. Sonraki aşama kalan pulp kalıntısının ve musilaj tabakasının uzaklaştırılmasıdır. Bunun için kontrollü fermentasyon işlemi uygulanmaktadır [7]. Fermentasyon sonrası musilajdan arındırılmış parşömenli kahve çekirdeği elde edilmektedir. Kahve çekirdeği zarı kurutma ızgaralarına yayılarak %10 nem içeriğine ulaşıncaya kadar kurutulmakta ve parşömen tabakası uzaklaştırılmaktadır. Böylece yeşil kahve çekirdeği elde edilmektedir. Yeşil kahve çekirdeklerinin kavrulması ile de kahve çekirdeği zarı ortaya çıkmakta, kavrulmuş kahve çekirdekleri elde edilmektedir [5].



Şekil 1. Kahvenin işlenmesi (yaş işleme) ve ortaya çıkan atıklar [11]

Kahve işleme sırasında birtakım yan ürünler meydana gelmektedir (Şekil 2) [5]. Kahve pulpu, kahve işlemede ilk yan ürün olarak ortaya çıkmakta, bütün meyvenin kuru ağırlıkça %29'unu oluşturmaktadır. Kahve pulpu, yaş işleme yöntemi ile elde edilmekte ve her 2 ton kahve üretiminde 1 ton kahve pulpu açığa çıkmaktadır. Temel olarak karbonhidrat, protein ve mineral (özellikle potasyum) açısından zengin olan kahve pulpu tanen, polifenol ve kafein içeriğince de zengindir. Kahve pulpu, kuru ağırlıkça %1.80-8.56 tanen, %6.5 toplam pektin maddesi, %12.4 indirgen şeker, %2.0 indirgen olmayan şeker, %1.3 kafein, %2.6 klorojenik asit ve %1.6 kafeik asit içermektedir [5]. Arabika kahve pulplarında flavan-3-ol, hidroksisinnamik asit, flavonoidler ve antosiyaninler olmak üzere 4 temel polifenol mevcuttur. Yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik madde içeriğine

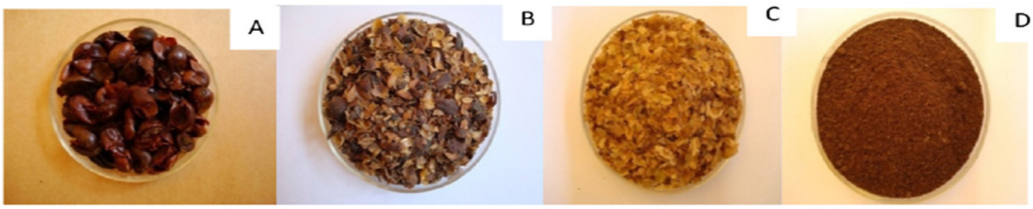
bakıldığında klorojenik asit (CGA) (%42.2), epikateşin (%21.6), 3,4-dikaffeoylkuinik asit (%5.7), 3,5-dikaffeoylkuinik asit (%19.3), 4,5-dikaffeoylkuinik asit (%4.4), kateşin (%2.2), rutin (%2.1), protokateşik asit (%1.6), ve ferulik asit (%1.0) içeriğine rastlanılmaktadır. Daha sonra yapılan araştırmalarda bunlara ek olarak 5-ferulokuinik aside ve antosiyanin siyanidin-3-rutinoside'a rastlanıldığı görülmektedir [7].

Kahve musilajı, yaş işleme yönteminde uygulanan enzimatik degradasyon öncesi kahve çekirdeğine yapışık olan kısımdır. %84.2 su, %8.9 protein, %4.1 şeker, %0.91 pektin, %0.7 kül içeriğine sahiptir [7].

Kahve parşömeni, kahve çekirdeğinin her iki yarımküresini birbirinden ayıran, güçlü ve lifli endokarp olarak ifade edilmektedir. Yaş işleme ve kuru işlemede farklı olarak ele alınmakta olan kahve parşömeni, yaş işleme yönteminde kurutma ve kabuk ayırma sonrası uzaklaşmaktadır. Kahve parşömeni %40-49 α-selüloz, %25-32 hemiselüloz, %33-35 lignin ve %0.5-1 kül içeriğine sahiptir [7].

Kahve çekirdeğinin kuru yöntem ile işlem görmesi sonucu elde edilen kahve parşömeni ise, kahve meyvesinin dış zarını, pulpu ve parşömeni içeren toplam atıktır [7]. Kahve parşömeni, kahve çekirdeğini çevrelemekte ve kahve çekirdeğinin kuru ağırlığının yaklaşık %12'sini oluşturmaktadır. Bir ton kahve meyvesinden yaklaşık 0.18 ton parşömen elde edilmektedir. %15.0 nem, %7.0 protein, %0.3 lipid ve %72.3 karbonhidrat, %24.5 selüloz, %29.7 hemiselüloz, %23.7 lignin ve %6.2 kül içermektedir [5].

Yeşil kahve hem uçucu olan hem de uçucu olmayan bileşenler içermektedir. Temel bileşenleri karbonhidrat, protein, lipid, mineraller, kül, kafein, klorojenik asit, trigonellin, su oluşturmaktadır. Yeşil kahve çekirdeğinin tüketilir formu kavurma işleminden sonra elde edilmektedir. Yeşil kahvenin kalite değerlendirilmesinde koku ve lezzetin yanı sıra boyut, şekil, renk, sertlik ve kusur dikkate alınmaktadır. Kahvenin karakteristik lezzet ve aroması kavurma ve kaynatma boyunca gerçekleşen reaksiyonlar sonucu oluşan yüzlerce kimyasal bileşenin kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu işlem kurutma, kavurma veya piroliz, soğutma olmak üzere 3 aşamada incelenebilmektedir. İlk aşama suyun ve uçucu bileşenlerin yavaş bir şekilde kahve çekirdeğinden ayrılması ile açıklanmaktadır. Bu aşamada çekirdeğin rengi yeşilden sarıya dönmektedir. İkinci aşamada piroliz reaksiyonları gerçekleşmektedir. Bu aşamada çekirdeğin hem fiziksel hem de kimyasal özelliklerinde kayda değer bir değişim gözlenmekte, Maillard reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin polifenollere dönüştüğü görülmektedir. Üçüncü aşama olan kahve kaynatma işleminde ise pürüzsüz saf çözeltiden emülsiyon hale gelmiş çözelti elde edilmektedir. Bu kahvelere Türk kahvesi, espresso, filtre kahve, cappuccino örnek olarak verilebilmektedir [5].



A: Kahve pulpu B: Kahve parşömeni C: Kahve çekirdeği zarı D: Atık kahve

Şekil 2. Kahve çekirdeğinin işlenmesi sırasında meydana gelen yan ürünler [5]

Kahve çekirdeği zarı, kavurma işleminin yan ürünü olarak elde edilmektedir [5]. Kavrulmuş kahve kuru ağırlık olarak %38-42 karbonhidrat, %23 melanoidin, %11-17 lipid, %10 protein, %4.5-4.7 mineral, %2.7-3.1 CGA, %2.4-2.5 alifatik asit, %1.3-2.4 kafein içermektedir. Yaklaşık 850 uçucu komponente sahiptir ancak bunlardan 40 tanesi aromaya katkı sağlamaktadır. Kahvenin lezzet, aroma gibi karakteristik özellikleri kahvenin kavrulması aşamasında gelişmektedir. Kavurma işlemi boyunca polisakkaritler düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlara dönüşmekte, kahve çekirdekleri organik komponentlerin pirolizinden dolayı açık kahverenginden koyu kahverengine dönmektedir. Kavurma ile kahve çekirdeği zarı uzaklaşmakta, organik bileşenlerin yanması ile karsinojenik bileşenler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi bileşenler meydana gelmektedir. Kavrulma sırasında özellikle birinci dakikada akrilamid oluşumu gözlenmektedir. Arabika kahvelerine kıyasla Robusta kahvelerinde akrilamid oluşumunun daha fazla olduğu görülmüş, geçen süre ile akrilamid konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Ortam koşullarında depolama sırasında da kavrulmuş kahve çekirdeklerinde akrilamid içeriğinin azaldığı görülmüştür [7].

Kahve küspesi, çözünür kahve elde edilirken ortaya çıkan atık olup, yaklaşık bir ton yeşil kahveden 650 kg kahve küspesi ve yaklaşık 2 kg kahve küspesinden 1 kg çözünür kahve elde edilmektedir. Önemli protein içeriğinin yanı sıra mannoz, galaktoz gibi zengin şeker içeriğine sahiptir. Kimyasal kompozisyonları bitkiden bitkiye hatta aynı bitkinin değişik bölümlerinde bile farklılık göstermektedir. Farklı coğrafik yerlere, bitkinin yaşına, iklime ve toprak özelliklerine göre de değişmektedir [5].

KAHVE ÇEKİRDEĞİ ZARI

Kimyasal Kompozisyonu

Kahve çekirdeği zarının ve diğer kahve yan ürünlerinin kimyasal kompozisyonu Murphy ve Madhava Naidu [5]

tarafından gerçekleştirilen çalışmada belirlenmiş olup, kahve çekirdeği zarının yüksek oranda protein, düşük oranda yağ içermekte olduğu, mineral içeriğinden dolayı yüksek kül oranına sahip olduğu saptanmıştır. Tablo 1'den kahve çekirdeği zarının diğer kahve yan ürünlerine kıyasla protein içeriğinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Aynı şekilde kahve çekirdeği zarının diğer kahve yan ürünlerine kıyasla toplam lif ve klorojenik asit içeriğinin de yüksek olduğu gözlenmektedir.

Tablo 1. Kahve yan ürünlerinin kimyasal kompozisyonu [5]

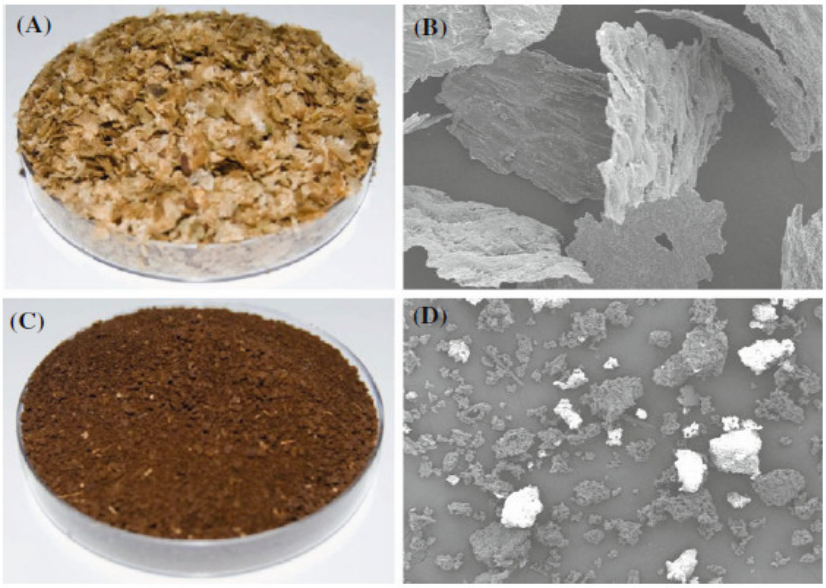
Parametreler (%)	Kahve pulpu	Kahve parşömeni	Kahve çekirdeği zarı	Kahve küspesi
Selüloz	63.0 ± 2.5	43.0 ± 8.0	17.8 ± 6.0	8.6 ± 1.8
Hemiselüloz	2.3 ± 1.0	7.0 ± 3.0	13.1 ± 9.0	36.7 ± 5.0
Protein	11.5 ± 2.0	8.0 ± 5.0	18.6 ± 4.0	13.6 ± 3.8
Yağ	2.0 ± 2.6	0.5 ± 5.0	2.2 ± 1.9	ND
Toplam lif	60.5 ± 2.9	24 ± 5.9	62.4 ± 2.5	ND
Toplam polifenol	1.5 ± 1.5	0.8 ± 5.0	1.0 ± 2.0	1.5 ± 1.0
Toplam şeker	14.4 ± 0.9	58.0 ± 20.0	6.65 ± 10	8.5 ± 1.2
Pektin	6.5 ± 1.0	1.6 ± 1.2	0.02 ± 1.0	0.01 ± 0.005
Lignin	17.5 ± 2.2	9.0 ± 1.6	1.0 ± 2.0	0.05 ± 0.05
Tanen	3.0 ± 5.0	5.0 ± 2.0	0.02 ± 0.1	0.02 ± 0.1
Klorojenik asit	2.4 ± 1.0	2.5 ± 0.6	3.0 ± 0.5	2.3 ± 1.0
Kafein	1.5 ± 1.0	1.0 ± 0.5	0.03 ± 0.6	0.02 ± 0.1

ND: Tanımlanmamış

Kahve çekirdeği zarının mineral madde içeriğinin belirlendiği bir çalışmada [12], kahve zarının potasyum, kalsiyum, magnezyum, sülfür, fosfor, demir, manganez, bor, bakır gibi mineral maddelere sahip olduğu ve potasyumu en yüksek oranda içerdiği belirlenmiştir. Potasyumu ise kalsiyum ve magnezyum izlemektedir (Tablo 2). Kahve çekirdeği zarının mineral içeriğinin yüksek olması minerallerin hormonal ve enzimatik aktiviteleri, büyümeyi destekleyen ve elektrot dengesini düzenleyici özellikleri nedeniyle insan vücudunun metabolik ve psikolojik fonksiyonlarını düzenlemesi açısından önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum solunum, sindirim ve sirkülasyon gibi hayati işlemleri de destekleyen minerallerce zengin olan kahve çekirdeği zarının gıda formülasyonlarında besinsel özellikleri arttırmak için kullanılabilirliğini sağlamaktadır [12]. Kahve çekirdeği zarının çok düşük indirgen karbonhidrat içeriğine sahip olduğu, polisakkarit yapısındaki arabinogalaktan ve galaktomannanların kahve zarının temel bileşenlerini oluşturduğu saptanmıştır [11]. Şekil 3'de kahve çekirdeği zarının mikroskobik incelenmesi ile elde edilen görüntüde yüzey tabakalarından oluşan fibröz dokuların varlığı gözlenmektedir [1]. Bu fibröz dokuların temel bileşenlerinin selüloz ve hemiselüloz olduğu, glikoz, ksiloz, galaktoz, mannoz ve arabinozun da gümüş zarda bulunan diğer karbonhidratları oluşturduğu belirlenmiştir [1, 8]. Borrelli ve ark. [11] ve Sudha ve ark. [13] tarafından gerçekleştirilen çalışmada kahve zarının buğday kepeği, pirinç kepeği, yulaf kepeği ve arpa kepeğine göre; Ajila ve ark. [14] ve Macagnan ve ark. [15] tarafından yapılan bir çalışmada mango kabuğu tozu, elma posası ve portakal posasına göre daha yüksek toplam diyet lifi içeriğine sahip olduğu görülmüştür (Tablo 3 ve Tablo 4). Yapılan başka bir çalışmada kahve çekirdeği zarının diyet lifi içeriğinin (%15 çözünür diyet lifi, %85 çözünmeyen diyet lifi olmak üzere toplam %50-60 toplam diyet lifi) elma (%28.43), brokoli (%28.94), lahana (%22.41), havuç (%28.4), buğday kepeği (%41.97), yulaf kepeği (%28.60) ve patatesten (%2.85) daha yüksek olduğu ifade edilmektedir [16]. Bu durum kahve zarının yüksek oranda diyet lifine sahip ürünler geliştirmede fonksiyonel bir bileşen olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir [1]. Ayrıca fruktooligosakkarit ve fermentasyon boyunca üretilen fruktofuranosidaz içeriğinden dolayı kahve çekirdeği zarının iyi bir besin kaynağı olduğu ifade edilmektedir [8].

Tablo 2. Kahve çekirdeği zarının mineral madde içeriği [12]

Mineral element	Kahve çekirdeği zarı (mg/kg kuru ağırlık)
Potasyum	21.100±0.00
Kalsiyum	9.400±0.01
Magnezyum	3.100±0.00
Sülfür	2.800±0.00
Fosfor	1.200±0.00
Demir	843.30±7.90
Alüminyum	470.60±13.9
Stronyum	71.72±0.30
Baryum	66.26±0.26
Bakır	63.30±1.00
Sodyum	57.30±1.10
Manganez	50.00±0.60
Bor	31.90±1.40
Çinko	22.30±0.10
Kobalt	21.39±1.04
İyot	18.30±1.64
Nikel	1.64±0.34
Krom	1.59±0.00
Molibden	0.24±0.29
Vanadyum	1.01±0.05
Kurşun	≤1.60
Selenyum	≤1.60
Galyum	≤1.47
Kalay	≤1.30
Kadmiyum	≤0.15



Şekil 3. Kahve çekirdeği zarının (A, B) ve kahve küspesinin (C, D) elektron mikroskobunda görüntüsü [1]

Tablo 3. Kahve çekirdeği zarının kimyasal kompozisyonunun lifçe zengin diğer kaynaklarla kıyaslanması [11, 13]

Bileşenler (%)	Kahve çekirdeği zarı	Buğday kepeği	Pirinç kepeği	Yulaf kepeği	Arpa kepeği
Nem	7.30±0.4	7.68±0.03	10.56±0.02	6.45±0.04	4.92±0.03
Kül	7±0.2	5.70±0.05	10.00±0.06	4.00±0.04	5.00±0.04
Yağ	2.2±0.1	4.00±0.05	8.00±0.08	5.00±0.8	5.00±0.04
Protein	18.6±0.6	13.12±0.10	13.00±0.15	12.0±0.13	14.0±0.18
Toplam diyet lifi	62.4±0.6	47.50±0.36	40.00±0.28	20.4±0.19	45.0±0.21
Çözünmeyen diyet lifi	53.7±0.2	42.49	35.67	11.5	34.2
Çözünür diyet lifi	8.8±0.4	5.01±0.04	4.33±0.05	8.9±0.04	10.8±0.04

Tablo 4. Kahve çekirdeği zarının kimyasal kompozisyonunun lifçe zengin meyvelerle kıyaslanması [11, 14, 15]

Bileşenler (%)	Kahve çekirdeği zarı	Mango kabuğu tozu	Elma posası	Portakal posası
Nem	7.30±0.4	10.5±0.5	10.80±0.03	8.45±0.83
Kül	7±0.2	3±0.18	0.50±0.05	2.97±0.42
Yağ	2.2±0.1	2.2±0.06	2.70±0.10	4.21±0.12
Protein	18.6±0.6	3.6±0.6	2.06±0.005	4.89±0.06
Toplam diyet lifi	62.4±0.6	51.2±1.08	51.10±1.86	54.82±0.23
Çözünmeyen diyet lifi	53.7±0.2	32.1±1.34	36.50±1.14	29.65±1.46
Çözünür diyet lifi	8.8±0.4	19.0±0.26	14.60±0.14	25.17±0.22

Fonksiyonel Özellikleri

Su ve Yağ Tutma Kapasitesi

Su ve yağ tutma kapasitesi uygulanan santrifüj kuvvetinden sonra bileşenin su veya yağı tutma kapasitesi olarak tanımlanabilmektedir. Su ve yağ tutma kapasitesi gıdaların üretimi, işlenmesi ve depolanması boyunca önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda gıdaların besinsel ve duyusal özelliklerini etkilemektedir [12]. Su ve yağ tutma kapasitesi gıdaların pişirilmesi sırasında kaybolan suyun ve yağın tutulmasını sağlamakta, bu durum gıdadaki lezzetin korunması ve gıdanın teknolojik özelliğinin arttırılması için önem taşımaktadır [17]. Yüksek yağ tutma kapasitesi, yağ ve su emülsiyonlarında stabilitenin sağlanması açısından önem taşımaktadır. Ballesteros ve ark. [12] tarafından yapılan bir çalışmada kahve çekirdeği zarı ≤500 µm boyutuna getirilmiş ve kahve çekirdeği zarının su ve yağ tutma kapasitesi incelenmiş, kahve çekirdeği zarının su tutma kapasitesi 5.11 (g su/g kuru örnek), yağ tutma kapasitesi 4.72 (g yağ/g kuru örnek) olarak belirlenmiştir. Kahve çekirdeği zarının su tutma kapasitesinin lif içerdiğinden dolayı pirinç kabuğu, buğday otu ve okaradan (soya sütü yapımı aşamasında arta kalan soya fasulyesi posası) daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Pourfarzad ve ark. [18] tarafından yapılan başka bir çalışmada alkali hidrojen peroksit ile muamele edilmiş kahve çekirdeği zarının su tutma kapasitesi 6.74 (g su/g kuru örnek), yağ tutma kapasitesi 4.76 (g yağ/g kuru örnek) olarak belirlenmiştir.

Antioksidan Madde İçeriği

Narita ve Inouye [16] tarafından yapılan bir çalışmada kahve çekirdeği zarının antioksidan madde açısından zengin olduğu belirtilmiş, kahve çekirdeği zarının yabanmersini, erik, ahududu, elma ve portakal gibi meyvelere ve havuç, yeşil biber, ıspanak gibi sebzelere kıyasla daha fazla antioksidan madde içerdiği saptanmıştır**.** Kahve çekirdeği zarının yüksek antioksidan içeriğine lif-antioksidan kompleksi oluşumunun etkili olduğu belirtilmektedir. Tahıl ürünlerinde lif-antioksidan kompleksini ferulik asit esterleri oluşturmaktayken, kahve çekirdeği zarında klorojenik asit oluşturmaktadır. Klorojenik asit yeşil kahve çekirdeğinde yüksek miktarda bulunmakta, polisakkaritlerle kavrulma boyunca tepki göstermekte ve melanoidin olarak adlandırılan kahvenin kavrulması boyunca Maillard reaksiyonu sonucu meydana gelen yüksek molekül ağırlığına sahip koyu renkli polimerleri oluşturmaktadır. Bresciani ve ark. [6] tarafından yapılan bir çalışmada kahve çekirdeği zarının iyi bir fenolik madde kaynağı olduğu ve fenolik maddelerin büyük bir kısmını klorojenik asidin oluşturduğu ifade edilmektedir (Tablo 5). Antihipertansif etkiye sahip doğal antioksidanlar içeren klorojenik asit, diyabeti önlemekte ve glikoz seviyesinin normal düzeyde tutulmasını sağlamaktadır. Kafein, trigonellin gibi insan sağlığı açısından yararlı olan biyoaktif komponentleri de içeren kahve çekirdeği zarı, potansiyel bir fonksiyonel gıda ürünü olarak önem kazanmaktadır. Kafeinin, kanser ve diyabeti, Alzheimer, Parkinson hastalıklarına ve kalp-damar hastalıklarına yakalanma riskini azaltırken, trigonellinin, hipoglisemik, hipolipidemik, sinir koruyucu, antimigren, yatıştırıcı, hafızayı güçlendirici, antibakteriyal, antiviral, anti-tümor aktiviteye ve antidiyabetik fonksiyona sahip olduğu ifade edilmektedir [19]. Mesias ve ark. [20] tarafından yapılan başka bir çalışmada kahve çekirdeği zarının fonksiyonel içeriği belirlenmiş olup, iyi bir fenolik bileşen kaynağı olduğu ifade edilmiştir (Tablo 6). Antioksidan madde tayininde 4 farklı yöntem kullanılmış, melanoidin ve CGA içeriğinin kahve çekirdeği zarının antioksidan özelliğine katkı sağladığı belirtilmiştir. Kahve çekirdeği zarının antioksidan madde içeriği domates, şeftali, elma ve kahve içeceği ile kıyaslandığında kahve içeceğinden yüksek olduğu, diğer gıda maddeleri ile yakın antioksidan madde içeriğine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 7) [11].

Tablo 5. Kahve çekirdeği zarının fenolik madde içeriği [6]

Bileşenler	Ortalama değer (mg/100g)
Caffeoylquinic asit lakton	4±0.4
3-Coumaroylquinic asit	2.4±0.5
5- Coumaroylquinic asit	5.7±0.8
3-Caffeoylquinic asit	147.8±15.9
5-Caffeoylquinic asit	198.9±6.6
4-Caffeoylquinic asit	84.9±7.6
Feruloylquinic asit	21.2±2.7
5 ve 4-feruloylquinic asit	121.6±6.3
Toplam klorojenik asit	588.9±75.4

Tablo 6. Kahve çekirdeği zarının fonksiyonel bileşen içeriği [20]

Parametreler	Sonuç
Melanoidin (mg/g)	172.67±3.54
CGA's (mg/g)	11.18
Kafein (mg/g)	30.26
Toplam fenolik madde (mg eq GA/g)	31.00±0.24
ABTS (µmol TEAC/g)	85.20±1.91
ORAC (µmol TEAC/g)	1194±76.62
FRAP (µmol TEAC/g)	829.8±38.16
DPPH (µmol TEAC/g)	219.9±4.34

Tablo 7. Kahve çekirdeği zarının antioksidan madde içeriğinin bazı gıda maddeleri ile kıyaslanması [11]

Örnek	ABTS (mmol Troloks/100 g kuru madde)
Domates	2.16
Şeftali	2.15
Elma	2.78
Kahve içeceği	1.63
Kahve çekirdeği zarı	1.92

Prebiyotik Etki

Narita ve Inouye [16] tarafından yapılan bir çalışmada kahve çekirdeği zarının bifidobakterilerin gelişimini destekleyici etkisi olduğu görülmektedir. Borrelli ve ark. [11] tarafından yapılan bir çalışmada fermentasyonda karbon kaynağı olarak kahve çekirdeği zarı kullanılmış, fermentasyon boyunca (24 saat) mikroorganizma sayısının arttığı görülmüştür. Özellikle toplam anaerobik ve aerobik bakteri sayısının artması nitrojen ve karbon

kaynağı olarak kahve çekirdeği zarının kullanılabilirliğini sağladığı görülmektedir. Ortamda bifidobakterilerin baskın olduğu koliformların limitli bir büyüme gösterdiği ve clostridia gelişiminin inhibe edildiği gözlenmiştir. Çalışmada glukozun ve kahve çekirdeği zarının kıyaslaması yapılmış, kahve çekirdeği zarının bifidobakterilerin gelişimini destekleyici özelliği ile referans madde olarak kabul edilen glukoz ile benzer özelliklere sahip olduğu ve kahve çekirdeği zarının karbon kaynağı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

UYGULAMA ALANLARI

Gıda Formülasyonları

Pourfarzad ve ark. [18] tarafından yapılan çalışmada kahve çekirdeği zarı diyet lifi kaynağı olarak kullanılarak yüksek kalitede, uygun raf ömrüne sahip, tüketici tarafından tercih edilen duyusal özelliklere ve görünüş özelliklerine sahip ekmek üretebilmek için optimum alkali hidrojen peroksit muamelesi koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla optimum işlem koşulların belirlenmesi için yüzey yanıt yöntemi kullanılmıştır. Alkali hidrojenle muamele edilmiş kahve çekirdeği zarı %5 oranında un yerine ikame edilmiş, ekmeklerin fiziksel özelliklerine bakılmış (renk, su aktivitesi, su ve yağ tutma kapasitesi), ekmeklerde hacim ölçümü, merkezi dilimin ağırlığı ve spesifik hacmi, duyusal değerlendirme, doku ölçümü, görüntü analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre alkali hidrojen peroksit yönteminde optimum koşullar 1 saat karıştırma süresi, 1:5 kahve çekirdek zarı / alkali hidrojen peroksit oranı, 120µM partikül boyutu olarak belirlenmiştir. Kontrol örneğinde çözünür lif, çözünmeyen lif ve toplam lif 0.11; 0.36; 0.47 g/100g olarak bulunurken kahve çekirdeği zarıyla zenginleştirilen ekmekte 0.61; 2.34; 2.95 g/100g olarak belirlenmiştir.

Garcia-Serna ve ark. [21] tarafından yapılan çalışmada daha sağlıklı bir ürün elde etmek için bisküvi üretiminde şeker ikamesi olarak Stevia kullanılmış ve bisküvi formülasyonuna yüksek diyet lifi içeriğine sahip kahve çekirdeği zarı eklenerek (%1.33 ve %3.33) bisküvinin reolojik özellikleri, su aktivitesi, viskozitesi, duyusal kalitesi ve besinsel özellikleri geliştirilmiştir. Sakkaroz yerine stevia ve kahve çekirdeği zarının kullanılması ile istenilen nem içeriğine sahip bisküvi üretimi gerçekleştirilmiştir. Kontrol ürüne kıyasla (sakkaroz içeren bisküvi) stevia ve kahve çekirdeği zarı katkılı bisküvinin kalınlığında önemli bir azalma saptanmış, doku incelendiğinde kontrolle aralarında herhangi bir fark bulunmamıştır. Kahve çekirdeği zarının bisküvide istenilen renk oluşumuna katkı sağladığı görülmüştür. HMF oluşumu büyük oranda azalmış, akrilamid oluşumunda değişikliğe neden olmadığı ifade edilmiştir. Çalışma sonunda, daha sağlıklı, besinsel içeriği daha yüksek ve daha iyi kalitede bisküvi üretilmiş, kahve çekirdeği zarının doğal renklendirici ve diyet lifi kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Martinez-Saez ve ark. [22] tarafından yapılan bir çalışmada kahve çekirdeği zarı içecek üretiminde kullanılmış, çalışmada antioksidanca zengin içecek üretiminin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda kahve çekirdeği zarının kullanımı ile antioksidan içeriği artan, vücutta yağ birikimini önleyen, hem duyusal açıdan kabul edilebilir hem de besinsel içeriği yüksek olan içecek üretiminin gerçekleştirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Ribeiro ve ark. [19] tarafından yapılan bir çalışmada altın kahve (yeşil kahvenin minimum işlem görmüş hali), kahve çekirdeği zarı ve kakao ilave edilmiş kahve içeceği üretilmiş ve bu içeceğin antioksidan özellikleri incelenmiştir. %1 altın kahve, %2 kahve çekirdeği zarı, %3 kakao tozu ve %94 kavrulmuş kahve tozu içeren yeni kahve karışımının klorojenik asit, trigonellin, teobromin ve kafein içeriği sayesinde biyoaktif komponentlerce zenginleştirildiği, önemli miktarda antioksidan içeriğe sahip olduğu ve duyusal özelliklerinin geliştiği belirtilmiştir.

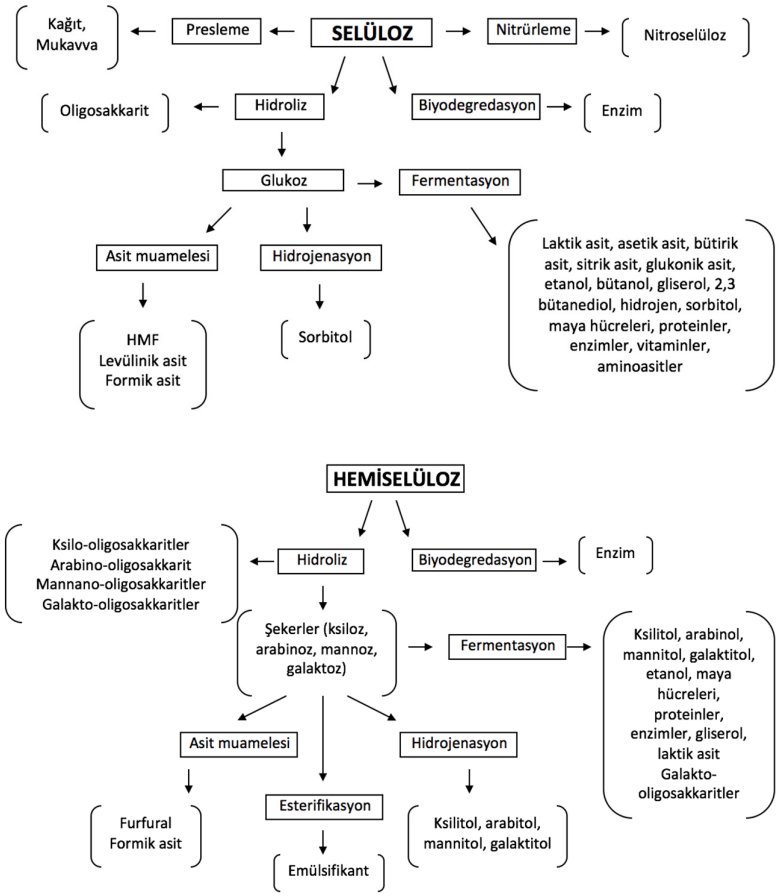
Diğer Uygulama Alanları

Kahve çekirdeği zarının içerdiği selüloz ve hemiselüloz fraksiyonlarının kullanıldığı uygulama alanları Şekil 4'te gösterilmektedir [1].

Şekil 4'ten görüldüğü gibi kahve çekirdeği zarı selüloz ve hemiselüloz içeriğinden dolayı çeşitli işlemlerden geçirilerek kağıt, nitroselüloz, çeşitli oligosakkaritler, enzimler, HMF, sorbitol, etanol, maya hücreleri, protein, laktik asit vs. olarak değerlendirilebilmektedir.

SONUÇ

Kahve çekirdeği zarı selüloz, hemiselüloz, protein, yağ, polifenoller, mineraller ve melanoidin gibi farklı kimyasal kompozisyona sahip kahve yan ürünüdür. İçerdiği yüksek diyet lifi ve polifenollerin antioksidan aktivitesinden kaynaklanan sağlığa faydalı etkileri bulunmaktadır. Ayrıca fruktooligosakkarit ve fermentasyon boyunca üretilen fruktofuranosidaz içeriği kahve çekirdeği zarını iyi bir besin kaynağı yapmaktadır. Bunlara ek olarak sahip olduğu prebiyotik içeriğinden dolayı kahve çekirdeği zarının potansiyel fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılması önerilmektedir. Bu çalışma kahve çekirdeği zarının daha iyi tanınmasını sağlayarak bu konuda gelecekte yapılacak olan birçok çalışma ile fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi sağlanacaktır.



Şekil 4. Kahve çekirdeği zarının diğer uygulama alanları [1]

KAYNAKLAR

[1] Mussatto, S., Machado, E.S., Martins, S., Teixeira, J., 2011. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology* 4: 661-672.

[2] Zuorro, A., Lavecchia, R., 2012. Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production* 34: 49-56.

[3] Machado, E.M.S., Rodriguez-Jasso, R.M., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I., 2012. Growth of fungal strains on coffee industry residues with removal of polyphenolic compounds. *Biochemical Engineering Journal* 60: 87–90.

[4] Narita, Y., Inouye, K., 2012. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chemistry* 135: 943–949.

[5] Murthy, P.S, Madhava Naidu, M., 2012. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. *Resources, Conservation and Recycling* 66: 45-58.

[6] Bresciani, L., Calani, L., Bruni, R., Brighenti, F., Del Rio, D., 2014. Phenolic composition, caffeine content and antioxidant capacity of coffee silverskin. *Food Research International* 61: 196–201.

[7] Esquivel, P., Jiménez, V.M., 2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International* 46: 488-495.

[8] Toschi, T.G., Cardenia, V., Bonaga, G., Mandrioli, M., Rodriguez-Estrada, M.T., 2014. Coffee silverskin: characterization, possible uses, and safety aspect. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 10836-10844.

[9] Jiménez-Zamora, A., Pastoriza, S., Rufian-Henares, 2015. Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *Food Science and Technology* 61: 12-18.

[10] Costa, A.S.G., Alves, R.C., Vinha, A.F., Barreira, S.V.P., Nunes, M.A., Cunha, L.M., Oliveira, M.B.P.P., 2014. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products* 53: 350-357.

[11] Borrelli, R.C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., Fogliano, V., 2004. Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(5): 1338-1343.

[12] Ballesteros, L.F., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I., 2014. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food and Bioprocess Technology* 7: 3493–3503.

[13] Sudha, M.L., Vetrimani, R., Leelavathi, K., 2007. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. *Food Chemistry* 100: 1365–1370.

[14] Ajila, C. M., Leelavathi, K., Prasada Rao, U. J. S., 2008. Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science* 48: 319-326.

[15] Macagnan, F.T., dos Santos, L.R., Roberto, B.S., de Moura, F.A., Bizzani, M., da Silva, L.P., 2015. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 6:1–6.

[16] Narita, Y., Inouye K., 2014. Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Research International* 61: 16-22.

[17] Burdurlu, H.S., Karadeniz, F., 2016. Gıdalarda Diyet Lifinin Önemi., Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, *http://www.gidamo.org.tr/resimler/ekler/f6ffe13a5d75b2d_ek.pdf?dergi=15* (Erişim Tarihi: 1 Mayıs 2016).

[18] Pourfarzad, A., Mahdavian-Mehr, H., Sedaghat, N., 2013. Coffee silverskin as a source of dietary fiber in bread-making: Optimization of chemical treatment using response surface methodology. *Food Science and Technology* 50: 599-606.

[19] Ribeiro, V.S., Leitão, A.E., Ramalho, J.C., Lidon, F.C., 2014. Chemical characterization and antioxidant properties of a new coffee blend with cocoa, coffee silverskin and green coffee minimally processed. *Food Research International* 61: 9-47.

[20] Mesías, M., Navarro, M., Martínez-Saez, N., Ullate, M., del Castillo, M.D., Morales, F.J., 2014. Antiglycative and carbonyl trapping properties of the water soluble fraction of coffee silverskin. *Food Research International* 62: 1120–1126.

[21] Garcia–Serna, E., Martinez–Saez, N., Mesias, M., Morales, F.J., del Castillo, M.D., 2014. Use of coffee silverskin and stevia to improve the formulation of biscuits. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 64: 243–251.

[22] Martinez-Saez, N., Ullate, M., Martin-Cabrejas, M.A., Martorell, P., Genovés, S., Ramon, D., del Castillo, M.D., 2014. A novel antioxidant beverage for body weight control based on coffee silverskin. *Food Chemistry* 150: 227–234.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 75-83, DOI: 10.24323/akademik-gida.306074

Derleme Makale / Review Paper

Bal ve Diğer Arı Ürünlerinin Bazı Özellikleri ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Ceren Mutlu[1,2], Mustafa Erbaş[1], ✉, Sultan Arslan Tontul[1,3]

[1]Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya
[2]Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir
[3]Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Elazığ

Geliş Tarihi (Received): 29.08.2015, Kabul Tarihi (Accepted): 19.06.2016
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): erbas@akdeniz.edu.tr (M. Erbaş)*
0 242 310 65 75 0 242 227 45 64

ÖZ

Bal, bitkilerin çiçeklerinden veya diğer canlı kısımlarından salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve olgunlaşması sonucunda üretilen doğal bir fonksiyonel gıdadır. Balın kimyasal bileşimi coğrafi ve botanik çeşitliliğine göre değişiklik göstermekle birlikte temel olarak yaklaşık; %82 karbonhidrat, %17 su, %0.7 mineral madde, %0.3 protein ve vitamin, organik asit, fenolik bileşikler ve serbest aminoasit gibi makro ve mikro bileşenlerden oluşmaktadır. Bu bileşenler sayesinde bal antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip olup, hem sindirim sistemine hem de kanser ile tümör hücrelerinin bertaraf edilmesi üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Bal dışında arıcılık faaliyetleri ile üretilen; propolis, arı sütü, arı zehri, polen ve balmumu gibi ürünler de bulunmakta olup bu ürünlerin de beslenme ve sağlık açısından önemli faydaları bulunmaktadır. Bu derlemede bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve sağlık üzerine etkileri, balda yapılan sahtecilik ve tespit yöntemlerine ait bilgilerin derlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal, *Apis mellifera*, Arıcılık ürünleri, Tağşiş, Deli bal

Some Properties of Honey and Other Bee Products and Their Effects on Human Health

ABSTRACT

Honey is a natural functional food of honey bees (*Apis mellifera*) produced by collecting nectar secreted from flowers and other living parts of plants and from insects living on the plants and these secreted liquids are stored in honeycomb after bees change their compositions. Chemical composition of honey may change depending on their geographical and botanical diversity. It contains macro and micro compounds such as 82% carbohydrate, 17% water, 0.7% mineral, 0.3% protein and vitamin, organic acids, phenolic compounds and free amino acids. With these compounds, honey has antimicrobial and antioxidant properties, and it has beneficial effects on both gastrointestinal system and elimination of carcinogenic and tumor cells. Additionally, propolis, royal jelly, bee venom, beeswax and pollen are produced as a result of beekeeping activities and these products may also have health beneficial effects. In this study, health beneficial effects of honey and some bee products, honey adulteration and methods of its determination are reviewed.

Keywords: Honey, *Apis mellifera,* Beekeeping products, Adulteration, Poisonous honey

GİRİŞ

Bal arılar tarafından üretilen doğal bir gıda olup, diğer arıcılık ürünleri olan propolis, arısütü, arı zehri, balmumu, polen gibi diğer arı ürünlerine göre temin edilebilirliği ve tüketimi daha yüksektir [1].

Bal, TS 3036 Bal Standardı'na göre; "Bitkilerin çiçeklerinde ya da diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tali maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir ürün" olarak tanımlanmaktadır [2].

Arıların bitkisel kaynaklardan topladıkları nektarları metabolize ederek bala dönüştürmeleri biyokimyasal bir proses olup, kovan içerisinde doğal bir ortamda gerçekleştirilmektedir. Bir kovanda yaklaşık olarak 10 ila 40 bin arı bulunmakta ve her bir arı günde 10-15 kez kovandan dışarı çıkarak, her çıkışında 80-100 çiçekten nektar ve polen toplamaktadır [3].

Arının nektar topladığı kaynağa göre bal; çiçek balı ve salgı balı olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılmaktadır. Çiçek balının kaynağı bitki çiçeklerinin nektarı olup başlıca çeşitleri; ıhlamur, yonca, turunçgil, pamuk, kekik ve akasya ballarıdır. Salgı balının kaynağını ise bitkilerin veya bitki üzerinde yaşayan böceklerin salgısı oluşturmaktadır. Bu grubun tipik örnekleri ise; çam, meşe, köknar ve yaprak ballarıdır [4, 5].

Bileşiminde sağlık açısından faydalı birçok biyoaktif madde bulunduran ve doğal bir gıda olan bala dışarıdan herhangi bir madde katılması veya balın doğal yapısında bulunan bir maddenin uzaklaştırılması kanun ve yönetmeliklerce yasaklanmıştır. Bal Tebliği'ne (2012/58) göre bal; kendine özgü tat ve kokuya sahip, herhangi bir katkı maddesi içermeyen, yapısında bulunan polen ve bala özgü maddeleri uzaklaştırılmamış ve *Clostridium botulinum* gibi sağlığa zararlı patojenleri, parazitleri ve onların yumurtalarını içermeyen nitelikte olmalıdır [1, 6]. Bal Tebliği'ne göre balın sahip olması gereken bazı özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Bal Tebliği'ne (2012/58) göre balın sahip olması gereken özellikleri [6]

Özellik (100 g balda)	Çiçek balı	Salgı balı	Karışım
Su (en fazla, g)	20	20	20
Sakkaroz (en fazla, g)	5-10	5-10	5-10
Fruktoz + glikoz (en az, g)	60	45	45
Suda çözünmeyen madde (en fazla, g)	0.1	0.1	0.1
Serbest asitlik (en fazla, meq/kg)	50	50	50
Diastaz sayısı (en az)	8	8	8
HMF (en fazla, ppm)	40	40	40
Prolin miktarı (en az, ppm)	300	300	300
Naftalin miktarı (en fazla, ppb)	10	10	10

Belirtilen özelliklerin dışında bala, içerdiği doğal enzimleri parçalayacak veya önemli düzeyde inaktive edecek düzeyde ısıl işlem uygulanması yasaklanmıştır [6]. Ayrıca uygulanan ısıl işlem monosakkaritler ile azotlu maddeler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonunu hızlandırmakta ve reaksiyon sonucunda sağlık açısından zararlı etkileri bulunan HMF (5-hidroksimetilfurfural) ve akrilamid gibi bileşikler de oluşmaktadır [7]. Isıl işlem uygulamasının indikatörlerinden biri olan HMF bileşiğinin miktarı, ısıl işlemin yanı sıra depolama süresi boyunca da artmaktadır. HMF düzeyinin düşük olması genellikle balda tazelik ile ilişkilendirilmektedir [8, 9].

BAL

Balın yapısında yaklaşık olarak 200 çeşit bileşen bulunmaktadır. Bal içerdiği vitaminler, mineraller, organik asitler, flavonoidler, fenolik asitler, aminoasitler ve enzimler nedeniyle sindirimi kolay, besleyici ve pek çok hastalığa karşı koruyucu ve tedavi edici özellik gösteren fonksiyonel bir gıdadır [10, 11]. Balın kimyasal bileşimi coğrafi ve botanik kaynağına göre değişiklik göstermektedir. Ancak temel olarak bal; yaklaşık %82 karbonhidrat, %17 su, %0.7 mineral ,%0.3 protein, vitamin, organik asit, fenolik bileşikler ve serbest aminoasit gibi makro ve mikro bileşenlerden oluşmaktadır. Balın içerdiği temel şekerler fruktoz ve glikoz olup bu monosakkaritlerin yanı sıra yapısında sakkaroz, maltoz, izomaltoz, laktoz, galaktobiyoz gibi disakkaritleri ve bazı oligosakkaritleri de bulundurmaktadır. Bal, bileşiminde bulunan yüksek karbonhidrat içeriği nedeniyle düşük su aktivitesi değerine sahip olup bu değer yaklaşık 0.59-0.63 aralığında bulunmaktadır [4, 10, 12, 13]. Balın içeriğini oluşturan başlıca bileşenler Tablo 2'de verilmiştir [1].

Bal, yapısında bulunan hayvansal ve bitkisel kaynaklı glukonik, bütirik, asetik, formik, laktik, süksinik, malik, sitrik ve okzalik asitler gibi organik asitler nedeniyle asidik bir gıda özelliği taşımaktadır. Titrasyon asitliği değeri ortalama %0.57 ve pH değeri ise ortalama 3.9 düzeyindedir [10]. Bal, B grubu vitaminlerini ve C vitamini içermekte olup bu vitaminlerin balın antioksidan özellik kazanmasına da katkıda bulundukları belirtilmektedir [14]. Bal bileşiminde bulunan potasyum, fosfor, demir, magnezyum, sodyum, mangan, klor, kükürt ve iyot gibi insan vücudunun ihtiyaç duyduğu mineral maddelerce de zengin bir besin kaynağıdır. Yapılan bir çalışmada bal örnekleri içerisinde ağır metallere de rastlamış olup arı ürünlerinin çevre kirliliğinin indikatörlerinden biri olabileceğini ve bu

yöntemle çevre kirliliğinin tespitinin ucuz ve etkili bir takip yöntemi olduğunu belirtilmiştir [3].

Bal, flavonoidler (luteolin, kuersetin, apigenin, galangin vd), fenolik asitler (kafeik asit, ferulik asit vd) ve bu maddelerin türevlerini içermekte olup balın yapısında bulunan bu tür polifenoller balın görünüşü ve fonksiyonel özellikleri üzerine de etkili olmaktadır. Balın fenolik bileşen miktarı nektar kaynağına ve coğrafik ve ekolojik şartlara göre değişiklik göstermekle birlikte açık renkli bal örneklerinin fenolik bileşen içeriğinin koyu renkli ballara göre genellikle daha düşük olduğu bildirilmektedir [1, 15].

Tablo 2. Balın içeriğini oluşturan başlıca bileşenler (%)

	Çiçek Balı		Salgı Balı	
	Ortalama	En Küçük-En Büyük	Ortalama	En Küçük-En Büyük
Su	17.2	15-20	16.3	15-20
Monosakkaritler				
Fruktoz	38.2	30-45	31.8	28-40
Glikoz	31.3	24-40	26.1	19-32
Disakkaritler				
Sakkaroz	0.7	0.1-4.8	0.5	0.1-4.7
Diğerleri	5.0	2-8	4.0	1-6
Trisakkaritler				
Melezitoz	<0.1	-	4.0	0.3-22
Erloz	0.8	0.5-6	1.0	0.1-6
Diğerleri	0.5	0.5-1	3.0	0.1-6
Oligosakkaritler	3.1	-	10.1	-
Mineraller	0.2	0.1-0.5	0.9	0.6-2
Aminoasitler	0.3	0.2-0.4	0.6	0.4-0.7
Asitler	0.5	0.2-0.8	1.1	0.8-1.5
pH değeri	3.9	3.5-4.5	5.2	4.5-6.5

BALIN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Su İçeriği

Balın su içeriği, temel olarak nektardan kaynaklanmaktadır. Bal hasat zamanı, sırlanmış petek yüzdesi, hasat sırasındaki iklim koşulları ve depolama şartları da balın su içeriği üzerinde etkili olmaktadır. Balda su içeriği %10-20 arasında bulunmakta olup, bu değer Bal Tebliğine göre %20'yi geçmemelidir. Su içeriği balın kalitesi, viskozitesi, kristalleşmesi ve tadı üzerine etki etmekte ve balın raf ömrü ile olgunluk düzeyinin belirlenmesinde bir kriter olarak kabul edilmektedir. Düşük su içeriğinin ballarda ozmotolerant mayalar tarafından gerçekleştirilen fermantasyon oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada balda tespit edilen yüksek su içeriğinin, balın depolanması sırasında meydana gelen fermantasyon nedeniyle olduğu bildirilmiştir [4, 6, 12, 16, 17].

Protein ve Aminoasit İçeriği

Balın protein miktarı oldukça düşük olmakla birlikte bu değer arının nektar kaynağına göre değişmektedir. Yapılan çalışmalarda albümin ve globulin gibi proteinlerin balın bileşiminde bulunduğu tespit edilmiştir. Balın protein miktarının düşük olmasına karşın, 11 ila 21 farklı aminoasidi bileşiminde bulundurması ile aminoasitler açısından zengin bir gıda olduğu bildirilmiştir. Aminoasit bileşiminin %80-90 kadarının, arının nektarı bala dönüştürürken salgıladığı sıvıda ve toplanan nektarlarda bulunan prolin aminoasidi olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle prolin içeriği balın kalitesi ve bala yapılan sahtecilik hakkında değerlendirme yapılmasında kullanılan temel kriterlerden birisi olup Bal Tebliği'ne göre balın prolin aminoasidi içeriği 300 mg/kg'dan daha az olmamalıdır [6, 12].

Enzim İçeriği

Bal doğal enzimler bakımından oldukça zengin bir gıda maddesidir. Balın bileşiminde bulunan başlıca enzimler; diastaz, invertaz ve β-glikozidazdır. Nektar ve arı kaynaklı bir enzim olan diastaz enzimleri ısıl işlem ve depolama sırasında inaktive olduğundan balın tazeliğinin değerlendirilmesinde bir kriter olarak kullanılmaktadır [18]. Diastaz enzimi, ısıl işlem sonucu inaktive olmakta ve enzim inaktivasyonun takibi diastaz sayısı analizi ile yapılmaktadır. Diastaz sayısı; 100g balda bulunan amilaz enzimlerinin 38-40°C'de 1 saat içerisinde parçaladığı nişasta miktarını ifade etmektedir. Balın içerdiği diastazın, 90 ile 100°C sıcaklıkları arasında geri dönüşümsüz olarak inaktive olduğu bildirilmiştir. Balın 20°C'de 540 gün muhafazasında diastaz miktarında önemli bir azalış olmadığı, 200 gün 30°C'de muhafaza edilen ballardaki diastaz kaybının ise 70°C'de 5.3 saatlik ısıl işlem uygulaması ile aynı olduğu bildirilmiştir [1].

BALIN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

Viskozite

Viskozite sıvı haldeki moleküllerin, sürtünme kuvvetine bağlı olarak akışa karşı gösterdikleri direnç olarak tanımlanmaktadır. Bal sahip olduğu şeker içeriği nedeniyle viskozitesi yüksek bir gıdadır. Balda viskozitenin sıcaklık artışı ile azaldığı, artan kuru madde konsantrasyonu ile arttığı belirtilmiştir [19]. Yapılan bir

araştırmada çam, köknar, pamuk, portakal, ayçiçeği ve kekik ballarının viskozitelerinin 2.54-23.4 Pas arasında değiştiği bildirilmiştir [20]. Yapılan başka bir çalışmada incelenen bal örneklerinin viskozite değerlerinin 1.77-11.38 Pa.s aralığında değiştiği, yonca balının en düşük ve sedir balının ise en yüksek viskoziteye sahip olduğu bildirilmiştir [21].

Elektriksel İletkenlik

Balda elektrik iletkenliği değeri, salgı balları ile çiçek ballarını ayırt etmek amacıyla kullanılmakta olup, bu değer balın mineral ve asit miktarına göre değişmektedir. Elektriksel iletkenlik değeri salgı ballarında çiçek ballarına göre daha yüksektir. Bal Tebliği'ne göre salgı ballarının elektrik iletkenliği değeri en az 0.8 mS/cm ve çiçek ballarının ise en fazla 0.8 mS/cm olmalıdır [6, 22, 23]. Yapılan bir çalışmada balın elektriksel iletkenlik değerinin balda bulunan mineraller, organik asit ve protein miktarı ile pozitif ve balın su içeriği ile ise negatif bir ilişki içerisinde olduğunu belirtilmiştir [24].

Renk

Bal Tebliği'ne (2012/58) göre balın rengi su beyazı ile koyu amber renk arasında değişiklik göstermekte [6] olup, *Pfund* adı verilen milimetrik bir renk skalasına göre değerlendirilmektedir [25]. USDA'ya (United States Department of Agriculture) göre bal renginin *Pfund* değeri 8 mm'den düşük ise 'su beyazı', 9-17 mm ise 'ekstra beyaz', 18-34 mm ise beyaz, 35-50 mm ise 'ekstra açık amber', 51-85 mm ise 'açık amber', 86-114 mm ise 'amber' ve 114 mm'den büyük bir değer ise 'koyu amber' renk olarak sınıflandırılmaktadır [12]. Balın rengi, temel olarak toplam mineral (kül) içeriği ile ilişkilendirilmekte olup genellikle kül içeriği düşük olan ballarda açık renk gözlenirken, kül içeriği yüksek olan balların daha koyu renge sahip olduğu bildirilmektedir [8, 26]. Ayrıca nektardaki renk değişimleri, polen rengi, enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ve bal çerçevelerinin kullanım süresine bağlı olarak da bal renginin değiştiği belirtilmiştir [16]. Balın fizikokimyasal özelliklerinin belirlendiği çeşitli çalışmalardan elde edilen bazı veriler Tablo 3'te verilmiştir.

Kristallenme

Bal içerdiği glikoz ve fruktoz monosakkaritleri ve sakkaroz gibi şekerler ve diğer kompleks yapılar nedeniyle aşırı doygun bir çözeltidir. Kolza tohumu ve karahindiba bitkilerinin nektarlarından üretilen balların haricinde genellikle ballarda fruktoz, glikoza göre daha fazla miktarlarda bulunmaktadır [34]. Balın kristalize olmasında viskozitesi, depolanma sıcaklığı ve yapısında bulunan diğer maddelerin varlığı gibi faktörler etkili olmaktadır [35]. Kristalizasyon genellikle glikoz moleküllerinin, monohidrat formundan kurtularak birbirleriyle etkileşimleri sonucu gerçekleşmektedir [36]. Balda kristalizasyonun başlamasına kadar geçen süre fruktoz/glikoz ve glikoz/su oranlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Fruktoz/glikoz oranının 1.33 değerinden yüksek olduğu bal örneklerinde kristalizasyonu uzun süre gerçekleşmezken 1.11'den düşük olduğu durumda ise bal hızla kristalize olmaktadır. Glikoz/su oranının, 1.7 değerinin altında olmasının kristalizasyon hızını azalttığı ve 2.0'dan yüksek olması ise kristalizasyon hızını arttırarak balın tamamen kristalize olmasına neden olduğu belirtilmiştir [34]. Kristalizasyon, balda meydana getirdiği tekstürel değişimlere bağlı olarak sıvı ve berrak bal arzu eden tüketicilerin tercihini olumsuz yönde etkilemesinin yanı sıra balın dolumu ve ambalajlanması sırasında problemlere neden olduğundan istenmeyen bir durumdur [36]. Ayrıca kristalizasyonun balların, sulu fazda çözünmüş halde bulunan glikoz miktarının azalmasına bağlı olarak su aktivitesini arttırdığı ve artan su aktivitesi ile birlikte maya hücrelerinin balda gelişerek fermantasyona neden olduğu da belirtilmiştir [35]. Belirtilen nedenlerle balda kristalizasyonun engellenmesi ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmekte olup yapılan bir araştırmada ultrasonikasyon ve ısıl işlem uygulaması ile sıvılaştırılan kristalize balların, yalnız ısıl işlem etkisi ile sıvılaştırılanlara göre daha berrak ve içerdiği kristal sayısının daha az olduğu belirtilmiştir [36].

BALIN İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİSİ

Antimikrobiyal Etki

Balın antimikrobiyal etkisinin, düşük su aktivitesi ve yüksek asitlik değerlerine sahip olmasının yanı sıra hidrojen peroksit, flavonoid ve fenolik asit gibi bileşikleri de yapısında bulundurmasından kaynaklandığı bildirilmektedir. Bu özellikleri sayesinde bal, insanlarda hastalık oluşturan patojen bakterilerin gelişimini inhibe edici bir ortam oluşturmaktadır.

Literatürde balın yalnızca bakterilere karşı değil aynı zamanda virüs, mantar ve parazitlere karşı da inhibe edici özelliklerini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada hidatik kiste (ekinokokkoz) sebep olan *Ecinococccus granulosus* parazitine uygulanan %10'luk bal konsantrasyonun üçüncü dakikadan itibaren öldürücü etki gösterdiği tespit edilmiştir [1]. Bingöl yöresinden toplanan bal örneklerinde antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada ise 0.1 mL bal örneğinin *Escherichia coli, Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus brevis*, *Pseudomonas aeroginosa* gibi bakteri türleri ile *Candida albicans* ve *Rhodotorula rubra* gibi mantar türlerinin gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir [37].

Antioksidan Etki

Gıda bileşenleri ile havada bulunan oksijen arasında gerçekleşen etkileşimden kaynaklanan oksidasyon reaksiyonu gıdalarda çoğunlukla besin değerinin azalması ile birlikte renk, tat ve koku değişimi gibi istenmeyen sorunlara da neden olabilmektedir. Gıdada doğal olarak bulunabilen veya dışarıdan ilave edilen ve oksidasyon reaksiyonlarına engelleyen maddeler genel olarak antioksidan maddeler olarak tanımlanmaktadır [7]. Bal, doğal olarak antioksidan özelliği olan bir gıdadır.

Tablo 3. Balın fizikokimyasal özelliklerinin incelendiği çalışmalardan derlenmiş bazı veriler

Örnek	Su içeriği (%)	pH	Elektriksel İletkenlik (mS/cm)	Toplam Mineral (%)	Renk	HMF (ppm)	Prolin (ppm)	Diastaz Sayısı	Kaynak
Türkiye balları	17-20.8	-	0.2-3.1	-	42.9-88.5 (*L* değeri)	<40	282-845	6.3-13.2	[27]
Türkiye çiçek balı	7.9-17.4	3.7-6.4	-	-	8.9-18.5 (*L* değeri)	0.03-4.1	-	-	[28]
Gourma balı	16.0	5.7	0.5	-	119 mm Pfund	384.1	-	4	[16]
Prosopis nigra balı	15.2	4.1	0.7	-	32 mm Pfund	13.1	-	-	[29]
Cezayir balı	11.6-14.1	3.7-4.0	0.4-0.8	-	-	15.2-24.2	1692.2-2712.4	-	[30]
Manuka balı	19.2	4.4	-	-	-	90.9	325.59	5	[31]
Akasya balı	20.6	3.2	1.6	0.2	97 mm Pfund	-	-	-	[24]
Çam balı	14.7	4.8	1.1	0.5	69.49 mm Pfund	-	-	-	[4]
Yonca balı	18.5	3.4	-	0.06	34.16 mm Pfund	18.7	-	10.9	[21]
İspanya akasya balı	15.9	-	0.19	-	9.1 mm Pfund	3.3	-	17.3	[26]
Hindistan balı	17.3	4.7	0.5	0.5	-	4.62	-	-	[32]
Hardal balı	14.3	6.9	-	0.2	-	-	-	-	[33]

Balın antioksidan madde içeriği; üretildiği nektarın toplandığı bitkisel kaynağa ve mevsimsel ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir [11]. Balın antioksidan özelliği yapısında bulunan glikoz oksidaz, katalaz, peroksidaz gibi enzimlerin yanı sıra flavonoidler, fenolik asitler (benzoik, ferulik, kumarik ve kafeik asit) [38] karotenoidler, tokoferoller ve tiamin, riboflavin ve askorbik asit gibi vitaminlerden kaynaklanmaktadır [30]. Balın antioksidan özelliği ile toplam fenolik madde içeriğinin ilişkili olduğu ve toplam fenolik madde miktarının artışı ile balın antioksidan özelliğinin de arttığı belirtilmiştir [31]. Ayrıca koyu renkli balların fenolik madde içeriklerinin genellikle açık renkli ballara göre yüksek olduğu ve buna bağlı olarak da antioksidan özelliklerinin daha yüksek olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir [39, 40]. Anadolu'nun çeşitli bölgelerinden 2006-2007 yılları arasında toplanan 16 bal örneğinin incelendiği bir araştırmada; mavikantaron, sedir, çam ve fiğ balı gibi koyu renkli balların antioksidan kapasitelerinin açık renkli ballara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [21]. Bangladeş balları üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise; toplanan farklı bal örneklerinin renkleri ve prolin aminoasidi içeriğinin, antioksidan kapasitesinin göstergesi olduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada multiflora bal örneklerinin antioksidan kapasitesinin içerdiği fenolik asit ve flavonoid çeşit ve miktarlarına bağlı olarak monoflora bal örneklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [12]. Balın, sahip olduğu antioksidan özellikleri ile polifenol oksidaz enzim aktivitesi sonucu meyve ve sebzelerde gerçekleşen enzimatik esmerleşme reaksiyonları ve lipitlerde meydana gelen ve acılaşmaya neden olan oksidasyon reaksiyonlarını engellediği bildirilmiştir [1]. Bunların yanı sıra bal, oksidasyon reaksiyonları sonucu meydana gelen serbest radikal oluşumunu hızlandıran metal iyonlarını tutarak sağlığı koruyucu etki de göstermektedir [41].

Sindirim Sistemi Üzerine Etkisi

Balın antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin yanında bileşiminde bulunan metabolitlerin sindirim sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu da yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Balın, mide ülserinin temel etkeni olan *Helicobacter pylori* bakterisinin gelişimini inhibe ederek, hastalığın etkisini azalttığı bildirilmiştir [39]. Fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise günlük diyette bal ile beslenen deneklerin mide lezyonlarının azaldığı tespit edilmiştir [42].

Kanser Üzerine Etkisi

Balın, farklı bölgelerden toplanan nektar ve arı salgılarının doğal metabolitlerini içermesi nedeniyle kanser hücreleri ve tümörlerin gelişimini durdurucu veya yavaşlatıcı etkilere sahip doğal bir gıda olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [43]. Balın kanser hücrelerini inhibe edici etkisinin yapısında bulundurduğu fenolik asit ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı ve bu bileşiklerin kansere neden olan serbest radikal oluşumunu ve oksidatif stresi engellediği bildirilmiştir [44]. Bu özelliklere bağlı olarak da birçok çalışmada mide, kolon ve karaciğer kanserinin tedavisinde bal tüketiminin olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir [45].

DELİBAL (ZEHİRLİ BAL)

Halk arasında delibal, tutar bal veya acı bal olarak da adlandırılan bu bal, fundalıklardan özellikle ormangülü (*Rhododendron ponticum*) bitkisinin nektarları ile beslenen arılar tarafından üretilmekte ve Karadeniz Bölgesi'nde ve özellikle de Doğu Karadeniz'de yaygın olarak bulunmaktadır [46]. Tüketildiğinde içerdiği grayanatoksin nedeniyle zehirlenmelere neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalarla 5-30g delibal tüketimi ile zehirlenmenin gerçekleşebildiği ve çocuk, yetişkin ve yaşlılar için öldürücü olabildiği belirtilmiştir. Ancak genellikle bu zehirlenmelerde 24 saat içerisinde iyileşme gözlendiği ve zehirlenme belirtilerinin bulantı, kusma, boğazda keskin ağrı, solunum problemleri ve kaslarda zayıflık olduğu belirtilmiştir [47].

SAHTE BAL

Arıların beslendiği nektar veya salgıları midelerinde bala dönüştürmesi doğal bal üretim yöntemidir. Sahte bal üretimi ise bal arılarının nektar veya salgı yerine şeker şurupları ile beslenmesinin sağlanarak bu şuruplardan bal üretmesi veya doğrudan şeker şuruplarının bala ilave edilmesi gibi çeşitli yollarla yapılmaktadır. Balda yapılan sahtecilik, balın prolin içeriğinin, potasyum ve sodyum oranının (K/Na) ve toplam polen spektrumunun belirlenmesi gibi çeşitli tekniklerle anlaşılabilmektedir. Ayrıca belirtilen yöntemlerle değerlendirme yapılırken, balın sakkaroz içeriği, asitliği ve hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı gibi parametreler de kesin sonuçlara ulaşılmasına yardımcı olmaktadır [48].

Ballarda karbon izotop ($\delta^{13}C$) oranının belirlenerek, C4 şeker miktarının hesaplanması yöntemi ile de sahte ve doğal bal ayırımı yapılabilmektedir. Fotosentez sırasında buğday, arpa, yonca ve pamuk gibi bitkilerde olduğu gibi genellikle ilk meydana gelen bileşik 3 karbonlu olup bu bitkiler C-3 bitkileri olarak adlandırılmaktadır. Mısır, darı, şeker kamışı ve sorgum gibi bitkilerde ise fotosentez esnasında oluşan ilk bileşik 4 karbonlu olduğundan bun bitkilere de C-4 bitkileri adı verilmektedir. Ballarda sahtecilikte kullanılan şeker şurupları C-4 bitkilerinden üretildiğinden, C4 miktarının belirlenmesi ile balın doğal olup olmadığı anlaşılabilmektedir. C4 miktarı balda bulunan ^{13}C ve ^{12}C izotoplarının oranlarının belirlenmesi ile hesaplanmaktadır. Karbon izotop oranı, bal ve baldan çöktürülen proteinlerin yakılması sonucu açığa çıkan CO_2 gazında bulunan karbon atomundaki izotop oranlarının ($^{13}C/^{12}C$) kütle spektroskopisi yöntemi ile tespit edilmesiyle belirlenmektedir. Bal ve çöktürülen bal proteinlerinden belirlenen izotop oranları kullanılarak aşağıdaki eşitlik yardımıyla balın içerdiği %C4 miktarı tespit edilmektedir [23].

$$\%C4\ \text{şeker} = \left((\delta^{13}C_{protein} - \delta^{13}C_{bal}) / (\delta^{13}C_{protein} - (-9.7)) \right) \times 100 \qquad \text{Eşitlik 1}$$

Tük Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre $\delta^{13}C$ değerinden Eşitlik 1'de belirtilen formül yardımı ile hesaplanan %C4 miktarı doğal ballarda en fazla %7 olmalıdır [6].

DİĞER ARI ÜRÜNLERİ

Arıcılık faaliyetleri ile bal dışında üretilen; propolis, arı sütü, arı zehri, polen ve balmumu gibi ürünler de bulunmakta olup, bu ürünlerin sağlık açısından önemli faydaları bulunmaktadır. Bal dışındaki bu ürünlerden çoğunlukla çeşitli sağlık sorunlarının giderilmesi (Apiterapi) amacıyla yararlanılmaktadır [49].

Baldan sonra insanlar tarafından bilinirliği en yüksek arı ürünü olan propolis; *Apis mellifera* tarafından çeşitli bitki kaynaklarından toplanan bir reçine karışımıdır. Fizikokimyasal özelliklerine ve coğrafi kaynaklarına göre 12 değişik türü bulunmakta olan propolis [50]; tiamin, riboflavin, askorbik asit ve α-tokoferol gibi vitaminler ile bakır, kalsiyum, stronsitum gibi elementleri ve kafeik, sinamik ve miristik asit gibi bileşenleri de yapısında bulundurmaktadır [37]. Arılar tarafından balmumu ile karıştırılan propolis, yabancı organizmaların yuvaya girişlerinin engellenmesi için yuvalarda bulunan çatlakların kapatılması ve yuva iç duvarlarının pürüzsüzleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Arılar tarafından belirtilen amaçlarla kullanılan propolis, insan sağlığı açısından da antimikrobiyal ve antikanserojen etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda farklı propolis ekstraksiyonlarının kanserli hücre gelişimlerini engellediği, tümör hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını azalttığı belirtilmiştir [51].

Arı sütü; bal arılarının arı sütü bezlerinden salgılanan beyazımsı sarı renkte ve viskoz bir madde olup kraliçe ve işçi arıların beslenmesinde kullanılmaktadır [52,53]. Kraliçe ve işçi aralar arasındaki morfolojik ve fonksiyonel farklılık arı sütü ile beslenme süresinden kaynaklanmaktadır. İşçi arılar en fazla üç gün arı sütü ile beslenirken, kraliçe arı tüm larva ve olgunluk dönemi boyunca arı sütü ile beslenmeyi sürdürmektedir [53]. Arı sütünün yapısında; proteinler, lipitler, vitaminler, şekerler, serbest aminoasitler ve 10-hidroksi-trans-2-dekanoikasit (10-HDA) gibi biyoaktif bileşenler bulunmaktadır [52, 53]. Asidik bir yapıda olan arı sütünün pH değeri 3.4-4.5 aralığında olup, su aktivitesi 0.92 ve yoğunluğu 1.1 g/mL'dir. Arı sütü, birçok ülkede gıda, sağlık ve kozmetik sanayinde farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Sağlık üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda antibakteriyel, antiinflamatuar, antioksidan, tansiyonu düşürücü, antiseptik ve antitümör gibi olumlu etkileri bulunduğu belirtilmiştir [49, 54].

Arı zehri; bal arılarının karın boşluğunda bulunan bezlerden, içerisinde melitin (%50-55), apamin (%2-3) ve adolapin (%1) gibi biyoaktif peptidlerin, histamin (%0.7-1.5), noradrenalin ve dopamin (%0.2-1.5) gibi bileşenlerin ve çeşitli enzimlerin bulunduğu arı tarafından savunma amaçlı üretilen bir salgıdır [52, 55]. Arı zehri sırt ağrıları, deri hastalıkları ve romatizma tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bir ürün olmakla birlikte yapılan çeşitli çalışmalarda prostat, karaciğer ve meme kanserine de karşı antikanserojenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir [56, 57].

Polen; çiçekli bitkilerin üremek amacı ile oluşturdukları biyoaktif yapılar olup, arıların beslenmesi, balların sınıflandırılması ve sağlık alanında tedavi amacıyla kullanılmaktadır [58,59]. Polenlerin protein, karbonhidrat, lipit, enzim, vitamin, aminoasit gibi bileşenlerin yanı sıra adrenalin ve noradrenalin gibi hormon niteliğindeki biyoaktif bileşenleri de içerdiği bildirilmiştir [60]. Arıların beslenmesi açısından büyük bir öneme sahip olan polenin yetersiz olduğu durumlarda arı kolonisindeki popülasyonun azaldığı ve arıların patojen ve pestisit gibi olumsuz dış etkenlere karşı dirençlerinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca polenin elde edildiği bitkisel kaynağa göre polen bileşimi ve kalitesi farklılık gösterdiğinden, bu değişimin de doğrudan arı sağlığını etkilediği bildirilmiştir [61].

Bal mumu; bal arılarının karın bölgesinde bulunan dört çift bez tarafından salgılanan kompleks maddelerden üretilmekte olup, yapısında çeşitli monoesterler (%35), diesterler (%14) ve triesterler (%3), hidroksi esterler (%12) ve uzun zincirli serbest yağ asitleri (%12) bulunmaktadır. İçerdiği bu bileşenler nedeniyle su gibi polar çözücülerde çözünmeyen balmumu, memeliler tarafından da sindirilememektedir. Balmumu arılar tarafından kovanlarda yavrular için kuluçka yeri olarak, bal ve polen depolanması gibi çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Balmumu sanayide ise, kozmetik ve eczacılık alanlarında çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır [62].

SONUÇ

Bal, doğal olarak arılar tarafından üretilen ve sağlığa yararlı birçok biyoaktif besin bileşenini bir arada bulunduran fonksiyonel bir gıdadır. Bal bileşiminde, bitki nektarı kaynaklı aminoasit, karbonhidrat, vitamin, organik asit ve fenolik bileşiklerin yanında; arı kaynaklı enzimleri de içermekte olup balın antioksidan, antimikrobiyal ve antikarsinojen etkileri de çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Tüm bu yararlı özelliklerine rağmen bal, yalnızca kahvaltılık gıda olarak çoğunlukla yetişkinler tarafından tüketilmektedir. Bu nedenle bal kaynaklı yeni ürünlerin geliştirilmesiyle toplum sağlığına ve özellikle çocukların beslenmesine daha fazla katkıda bulunulabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Karadal, F., Yıldırım, Y., 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 9(3): 197-209.

[2] Anonim, 2010. TSE 3036 Bal Standardı. 19 Ocak 2010 Kabul Tarihli Bal Standardı, Ankara.

[3] Nisbet, C., Güler, A., Yarım G.F., Cenesiz, S., Ardalı, Y., 2013. Çevre ve flora kaynaklarının arı ürünlerinin mineral madde içerikleri ile ilişkisi. *Turkish Journal of Biochemistry/Türk Biyokimya Dergisi,* 38(4): 494-498.

[4] Karabagias, I.K., Badeka, A.V., Kontakos, S., Karabournioti, S., Kontominas, M.G., 2014. Botanical discrimination of Greek unifloral honeys with physico-chemical and chemometric analyses. *Food Chemistry* 165: 181-190.

[5] Sunay, A.E., Samancı, T., 2008. Arı ürünleri üretimi. *BAL-DER Arı Ürünleri ile Sağlıklı Yaşam Platformu Derneği*.

[6] Anonim, 2012. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği (2012/58). *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 27 Temmuz 2012 Tarih ve 28366 Sayılı Resmi Gazete*, Ankara.

[7] Köksel, H., 2007. Karbonhidratlar. Gıda Kimyası, Editör İ. Saldamlı, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları 3. Baskı*, Ankara, 72-77s.

[8] Gomes, S., Dias, L.G., Moreira, L.L., Rodrigues, P., Estevinho, L., 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology* 48(2): 544-548.

[9] Kahraman, T., Buyukunal, S.K., Vural, A., Altunatmaz, S.S., 2010. Physico-chemical properties in honey from different regions of Turkey. *Food Chemistr* 123(1): 41-44.

[10] Özmen, N., Alkın, E., 2006. Balın antimikrobiyel özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2006(4): 155-160.

[11] Spilioti, E., Jaakkola, M., Tolonen, T., Lipponen, M., Virtanen, V., Chinou, I., Kassi, E., Karabournioti, S., Moutsatsou, P., 2014. Phenolic acid composition, antiatherogenic and anticancer potential of honeys derived from various regions in Greece. *PloS One* 9(4): e94860.

[12] Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A., Gan, S.H., 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12(1): 177.

[13] Moniruzzaman, M., Rodríguez, I., Ramil, M., Cela, R., Sulaiman, S., Gan, S., 2014. Assessment of gas chromatography time-of-flight accurate mass spectrometry for identification of volatile and semi-volatile compounds in honey. *Talant,* 129: 505-515.

[14] Chua, L.S., Rahaman, N.L.A., Adnan, N.A., Tijh, T., Tan, E., 2013. Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* http://dx.doi.org/10.1155/2013/313798.

[15] Escuredo, O., Silva, L.R., Valentão, P., Seijo, M.C., Andrade, P.B., 2012. Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry* 130(3): 671-678.

[16] Nombré, I., Schweitzer, P., Boussim, J.I., Rasolodimby, J.M., 2010. Impacts of storage conditions on physicochemical characteristics of honey samples from Burkina Faso. *African Journal of Food Science* 4(7): 458-463.

[17] Stephens, J., Greenwood, D., Fearnley, L., Bong, J., Schlothauer, R., Loomes, K., 2015. Honey production and compositional parameters. *Processing and Impact on Active Components in Food* 675-680.

[18] Sak-Bosnar, M., Sakač, N., 2012. Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chemistry* 135(2): 827-831.

[19] Oroian, M., 2013. Measurement, prediction and correlation of density, viscosity, surface tension and ultrasonic velocity of different honey types at different temperatures. *Journal of Food Engineering* 119(1): 167-172.
[20] Yanniotis, S,, Skaltsi, S., Karaburnioti, S., 2006. Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering* 72(4): 372-377.
[21] Özcan, M.M., Ölmez, Ç., 2014. Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food Chemistry* 163: 212-218.
[22] Batu, A., Küçük, E., Çimen, M., 2013. Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz Bölgeleri çiçek ballarının fizikokimyasal ve biyokimyasal değerlerinin belirlenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies* 8(1): 52-62.
[23] Bilgen-Çınar, S., 2010. Türk çam balının analitik özellikleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora, Türkiye. 81 ss.
[24] Chua, L.S., Abdul-Rahaman, N.L., Sarmidi, M.R., Aziz, R., 2012. Multi-elemental composition and physical properties of honey samples from Malaysia. *Food Chemistry* 135(3): 880-887.
[25] Belay, A., Solomon, W., Bultossa, G., Adgaba, N., Melaku, S., 2015. Botanical origin, colour, granulation and sensory properties of the Harenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry* 167: 213-219.
[26] Juan-Borrás, M., Domenech, E., Hellebrandova, M., Escriche, I., 2014. Effect of country origin on physicochemical, sugar and volatile composition of acacia, sunflower and tilia honeys. *Food Research International* 60: 86-94.
[27] Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E.A., Silici, S., Kolayli, S., 2015. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry* 180:133-141.
[28] Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., Kayacier, A., 2013. Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: Determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Industrial Crops and Products* 46:124-131.
[29] Isla, M.I., Craig, A., Ordoñez, R., Zampin, C., Sayago, J., Bedascarrasbure, E., Alvarez, A., Salomón, V., Maldonado, L., 2011. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT-Food Science and Technology* 44(9): 1922-1930.
[30] Khalil, M.I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M.A., Islam, M.N,, Sulaiman, S.A., Gan, S.H., 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules* 17(9): 11199-11215.
[31] Alzahrani, H.A., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, Y., Bakhotmah, B.A., 2012. Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules,* 17(9): 10540-10549.
[32] Begum, S.B., Roobia, R.R., Karthikeyan, M., Murugappan, R., 2015. Validation of nutraceutical properties of honey and probiotic potential of its innate microflora. *LWT-Food Science and Technology* 60(2): 743-750.
[33] Linkon, M., Prodhan, U.K., Elahi, T., Talukdar, J., Alim, M.A., Hakim, M.A., 2015. Comparative analysis of the physico-chemical and antioxidant properties of honey available in Tangail, Bangladesh. *Universal Journal of Food and Nutrition Science* 3(1): 19-22.
[34] Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., Seijo, M.C., 2014. Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry* 149:84-90.
[35] Shafiq, H., Iftikhar, F., Ahmad, A., Kaleem, M., Sair, A.T., 2012. Effect of crystallization on the water activity of honey. *International Journal Of Food And Nutritional Sciences* 3(3): 1-6.
[36] Kabbani, D., Sepulcre, F., Wedekind, J., 2011. Ultrasound-assisted liquefaction of rosemary honey: Influence on rheology and crystal content. *Journal of Food Engineering* 107(2): 173-178.
[37] Aksoy, Z., Dığrak, M., 2006. Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 18(4): 471-478.
[38] Isidorov, V., Bagan, R., Bakier, S., Swiecicka, I., 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of Polish herbhoneys. *Food Chemistry* 171: 84-88.
[39] Ajibola, A., Chamunorwa, J.P., Erlwanger, K.H., 2012. Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition and Metabolism* 9(61): 1-13.
[40] Marshall, S., Gu, L., Schneider, K.R., 2015. Health benefits and medicinal value of honey. *Ifas Extension, University of Florida*.
[41] Manyi-Loh, C.E., Clarke, A.M., Ndip, R.N., 2011. An overview of honey: therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. *African Journal of Microbiology Research* 5(8): 844-852.
[42] Zanini, S., Marzotto, M., Giovinazzo, F., Bassi, C., Bellavite, P., 2014. Effects of dietary components on cancer of the digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(13): 1870-1885.
[43] Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A., Wahab, M.S.A., 2014. Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules* 19(2): 2497-2522.
[44] Othman, N.H., 2012. Honey and cancer: sustainable inverse relationship particularly for developing nations-a review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* http://dx.doi.org/10.1155/2012/410406.
[45] Abdel-Latif, M.M., 2015. Chemoprevention of gastrointestinal cancers by natural honey. *World Journal Pharmacology* 4(1): 160-167.
[46] Ayda, B., 2003. Deli bal zehirlenmesi. *Yoğun Bakım Dergisi,* 3(1): 33-36.
[47] Kurtoglu, A.B., Yavuz, R., Evrendilek, G.A., 2014. Characterisation and fate of grayanatoxins in mad

honey produced from *Rhododendron ponticum* nectar. *Food Chemistry* 161: 47-52.

[48] Başoğlu, F.N., Sorkun, K., Löker, M., Doğan, C., Wetherilt, H., 1996. Saf ve sahte balların ayırt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve palinolojik kriterlerin saptanması. *Gıda Dergisi* 21(2): 67-73.

[49] Tunca, R.İ., Taşkın, A., Karadavut, U., 2015. Determination of bee products consumption habits and awareness level in some provinces in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 3(7): 556-561.

[50] Teles, F., da Silva, T.M., da Cruz-Júnior, F.P., Honorato, V.H., de Oliveira-Costa, H., Barbosa, A.P.F., de Oliveira, S.G., Porfírio, Z., Libório, A.B., Borges, R.L., 2015. Brazilian red propolis attenuates hypertension and renal damage in 5/6 renal ablation model. *PloS One* 10(1), 10.1371/journal.pone.0116535.

[51] Choudhari, M.K., Haghniaz, R., Rajwade, J.M., Paknikar K.M., 2013. Anticancer activity of Indian stingless bee propolis: an in vitro study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* http://dx.doi.org/10.1155/2012/410406.

[52] Oršolić, N., 2012. Bee venom in cancer therapy. *Cancer and Metastasis Reviews* 31(1-2): 173-194.

[53] Zong, Q.S., Wu, J.Y., 2014. A new approach to the synthesis of royal jelly acid. *Chemistry of Natural Compounds* 50(3): 399-401.

[54] Ramadan, M.F., Al-Ghamdi, A., 2012. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods* 4(1): 39-52.

[55] Bogdanov, S., 2012. Bee venom: Composition, health, medicine: A review. *Peptides* 44: 18-22.

[56] Jo, M., Park, M.H., Kollipara, P.S., An, B.J., Song, H.S., Han, S.B., Kim, J.H., Song, M.J., Hong, J.T., 2012. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology* 258(1): 72-81.

[57] Park, M.H., Choi, M.S., Kwak, D.H., Oh, K.W., Yoon, D.Y., Han, S.B., Song, H.S., Song, M.J., Hong, J.T., 2011. Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-κB. *The Prostate* 71(8): 801-812.

[58] Bakoğlu, A., Kutlu, M.A., Bengü, A.Ş., 2014. Bingöl ilinde arıların yoğun olarak konakladıkları alanlarda üretilen ballarda bulunan polenlerin tespiti. *Türk Tarım ve Doğa Bilmileri Dergisi* 1(3): 348-353.

[59] Erdoğan, Y., Dodoloğlu, A., 2005. Balarısı (*Apis mellifera* L.) kolonilerin yaşamında polenin önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi* 2005(2): 79-84.

[60] Karataş, F., Şerbetçi, Z., 2008. Arı polenlerindeki adrenalin ve noradrenalin miktarlarının HPLC ile belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 20(3): 419-422.

[61] Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L.P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J-L., Alaux, C., 2013. Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter. *PloS One* 8(8): e72016.

[62] Schmidt, J.O., 1997. Chemical composition and application: Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy, Edited by Mizrahi, A., Lensky, Y., *Springer Science & Business Media* 15-27 p.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 84-94, DOI: 10.24323/akademik-gida.306077

Derleme Makale / Review Paper

Yenilebilir Film ve Kaplamalar: Üretimleri, Uygulama Yöntemleri, Fonksiyonları ve Kaslı Gıdalarda Kullanımları

Serpil Tural, Furkan Türker Sarıcaoğlu, Sadettin Turhan ✉

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 55139 Samsun

Geliş Tarihi (Received): 10.01.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 21.06.2016
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sturhan@omu.edu.tr (S. Turhan)*
0 362 312 19 19 / 1506 0 362 457 60 35

ÖZ

Ambalajlama endüstrisindeki hızlı gelişime paralel olarak, son yıllarda, bariyer özelliğinden dolayı sınırlı etki gösteren klasik ambalajlama teknikleri yanında, ek avantajlar sağlayan yeni ambalaj materyalleri ve teknolojileri de geliştirilmektedir. Bu teknolojilerden biri olan yenilebilir film ve kaplamalar, raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda maddelerinin ambalajlanmasında kullanılan ve gıda ile birlikte tüketilebilen ambalajlardır. Önceleri, genellikle depolama ve taşıma sırasında nem kaybını önlemek amacıyla kullanılan bu ambalajlar, günümüzde gıdaların kalite özelliklerinin iyileştirilmesi ve raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca bu ambalajlar, antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerle kombine edilerek gıdalarda istenmeyen renk oluşumunu, lipit oksidasyonunu ve mikrobiyolojik bozulmaları engellerler. Kaslı gıdalar, depolama sırasında meydana gelen mikrobiyal ve biyokimyasal değişiklikler nedeniyle çabuk bozulan ve raf ömrü nispeten kısa olan ürünlerdir. Bu yüzden, kaslı gıdaların depolama süresince bozulmalarının geciktirilerek korunmalarında modern ambalajlama teknolojileri önem taşımaktadır. Bu derlemede, bu teknolojilerden olan yenilebilir film ve kaplamaların özellikleri ve kaslı gıdalarda kullanımları konusunda günümüze kadar yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yenilebilir filmler, Yenilebilir kaplamalar, Kaslı gıdalar

Edible Films and Coatings: Their Production, Application Methods, Functions and Uses in Muscle Foods

ABSTRACT

In recent years, novel packaging materials and methods with additional advantages have been developed in parallel with the rapid development in packaging industry besides classical packaging that may show limited barrier effect. Edible film and coating production is one of the technologies where packages are used for extend the shelf life and can be consumed with foods. Typically, food packages have been generally used to prevent moisture loss during storage and transportation of foods, and nowadays they are being used both to improve the quality characteristics and to extent shelf life of foods. In addition, these packages are combined with antioxidant and antimicrobial compounds to inhibit undesirable color formation, lipid oxidation and microbiological spoilage in foods. Muscle foods are perishable and have relatively short shelf life due to microbial and biochemical changes during storage. Therefore, modern packaging technologies are important for delaying the deterioration of muscular foods during storage. In this review, studies on the properties of edible films and coatings and their application in muscle foods are presented.

Keywords: Edible films, Edible coatings, Muscle foods

GİRİŞ

Biyolojik olarak parçalanabilen ambalaj materyalleri içinde, genel olarak oksidatif ve fiziksel strese karşı iyi bir bariyer oluşturmaları nedeniyle değişik biyopolimerlerden üretilen yenilebilir film ve kaplamalar son yıllarda oldukça ilgi görmektedir [1]. Esasen yenilebilir film ve kaplamaların gıdaların ambalajlanmasında kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. İlk olarak, 12. Yüzyıl'ın başlarında Çin'de turunçgillere mumdan yapılan kaplamaların uygulandığı bilinmektedir. 15. yüzyılın sonlarında, Japonya'da kaynatılmış soya sütünden elde edilen ve Yuba adı verilen yenilebilir bir film, gıdaların kalitesinin korunması ve görünümünün iyileştirilmesi amacıyla kullanılmıştır [2]. Önceleri, genellikle depolama ve taşıma sırasında nem kaybını önlemek amacıyla kullanılan yenilebilir film ve kaplamalar, günümüzde gıdaların kalite özelliklerinin iyileştirilmesi ve raf ömrünün uzatılması amacıyla kullanılmaktadır [3]. Yenilebilir film ve kaplamalar, suyun yanı sıra aroma bileşikleri, antioksidanlar, antimikrobiyal maddeler, pigmentler, esmerleşme reaksiyonlarını durduran iyonlar ve vitaminler gibi bileşenlerin ambalaj içerisinde tutulmasını sağlarlar. Gıdalarda istenmeyen renk oluşumunu, lipit oksidasyonunu ve aroma kaybını engellerler. Yenilebilir film ve kaplamaların bu etkileri, büyük ölçüde bu materyallerin farklı geçirgenlik özelliklerine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır [4, 5].

Raf ömrünü uzatmak amacıyla gıda maddelerinin ambalajlanmasında kullanılan ve gıda maddesi ile birlikte tüketilebilen maddeler, yenilebilir ambalajlar olarak adlandırılmaktadır [2]. Yenilebilir ambalajlar; yenilebilir filmler, yenilebilir kaplamalar, yenilebilir tabakalar ve yenilebilir torbalardan oluşmaktadır. Kalınlığı 254 µm'den büyük olan yenilebilir tabakalar ve kalınlığı 254 µm'den küçük olan yenilebilir filmler, gıda maddesinden ayrı olarak üretildikten sonra gıda maddesi bileşenleri arasına yerleştirilmekte veya yenilebilir torbalar olarak üretilmektedir. Yenilebilir kaplamalar ise, gıda maddesinin direkt yüzeyinde oluşturulan ince tabakalar olarak tanımlanmaktadır [6]. Yenilebilir film ve kaplamalar arasındaki temel fark, yenilebilir kaplamaların genelde daldırma metoduyla veya püskürtme şeklinde gıdaya uygulanması, yenilebilir filmlerin ise katı bir tabaka şeklinde hazırlandıktan sonra gıdanın bu film ile sarılmasıdır [7, 8].

Hayvansal gıdalar içinde, biyolojik değeri yüksek protein kaynağı olarak kaslı gıdalar, lezzet özelliklerinin yanı sıra, beslenme açısından önemli olan mineral maddeleri, vitaminleri, özellikle elzem aminoasitleri ve yağ asitlerini yeterli miktarda yapısında bulundurması ile kişilerin metabolik ihtiyaçlarının karşılanmasında çok önemli besin öğeleridir. Ancak, sağlık açısından bu denli önemli olan bu gıdalar, protein olmayan azot, su aktivitesi ve pH değerlerinin yüksek olması nedeniyle uygun olmayan depolama koşullarında bir takım değişikliklere uğrayarak bozulabilmektedir [9]. Bu değişikliklerden lipit oksidasyonu kaslı gıdaların raf ömrünü sınırlandırmada oldukça önemli etkiye sahiptir. Lipit oksidasyonu vitaminlerin ve esansiyel aminoasitlerin kaybına, ayrıca renk, lezzet, koku ve tekstürde istenmeyen değişikliklere neden olmaktadır. Bu da kalitede düşmeye, ürünün bozulmasına ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır [9, 10]. Kaslı gıdalarda en önemli bozulma mikrobiyolojik yolla olmaktadır. Bu gıdalara bulaşan mikroorganizmalar uygun koşullar bulmaları durumunda gelişip çoğalarak arzu edilmeyen değişikliklere neden olmakta, patojen mikroorganizmaların bulaşmasıyla da ölümlere kadar gidebilen gıda zehirlenmeleri görülebilmektedir [9].

Yenilebilir film ve kaplamaların kaslı gıdaların raf ömrü ve kalite özellikleri üzerine etkisi konusunda çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu alandaki çalışmalar yeni olmamakla birlikte, tüketicilerin yüksek kalitede ürüne olan taleplerinin artışı, çevresel nedenler ve yeni pazar oluşumu nedeniyle son zamanlarda artış göstermiştir. Bu çalışmada yenilebilir film ve kaplamaların üretimleri, uygulama yöntemleri, fonksiyonları ve kaslı gıdalarda kullanımları konusunda günümüze kadar yapılan çalışmaların geniş bir özeti verilmiştir.

YENİLEBİLİR FİLM VE KAPLAMALARIN ÜRETİMİNDE KULLANILAN MATERYALLER

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı birçok polisakkarit, lipit ve protein tek başına veya karışım halinde yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılmaktadır (Şekil 1) [6]. Film hazırlamada kullanılan bu üç temel materyalin kimyasal yapısı büyük ölçüde farklılık gösterdiğinden film özellikleri üzerine etkileri de farklıdır [11]. Genel bir kural olarak, lipitler su transferini azaltmak, polisakkaritler oksijen ve diğer gazların geçişini kontrol etmek, proteinler ise filmlere mekanik dayanıklılık kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır [2, 11]. Yenilebilir film ve kaplama üretiminde bu üç ana materyal yanında çözücü, plastikleştirici, emülsüfiyer, antioksidan ve antimikrobiyal ajanlardan da yararlanılmaktadır [11].

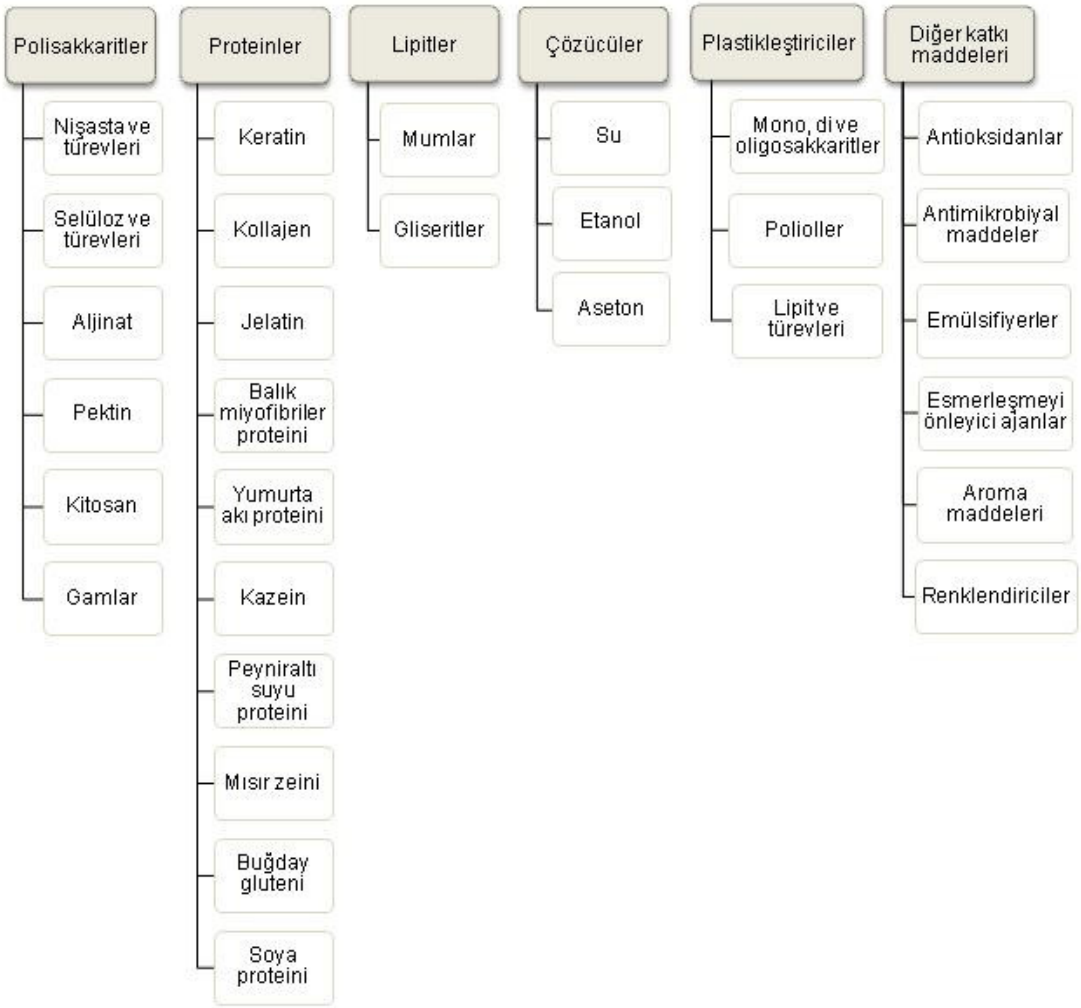
Polisakkaritler

Polisakkaritler, glikozidik bağlarla bağlanmış monosakkaritlerden oluşan kompleks karbonhidratlardır. Birçok polisakkarit ve türevleri düşük maliyette olmaları, kolay elde edilebilmeleri ve iyi film oluşturma özellikleri nedeniyle yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılmaktadır [6]. Polisakkarit filmlerin en önemli özelliği yapısal olarak dayanıklı olmaları ve oksijen geçişini yavaşlatmalarıdır. Bu filmlerin su geçişine karşı dirençleri oldukça düşüktür [2, 6]. Bu nedenle depolamada meydana gelen ağırlık kaybını en aza indirmek için gıda yüzeyine kalın bir film şeklinde uygulanmaktadırlar [2]. Polisakkarit bazlı yenilebilir film ve kaplama üretiminde nişasta ve türevleri, selüloz ve türevleri, aljinat, pektin, kitosan ve gamlar kullanılmaktadır [6].

Proteinler

Yenilebilir film ve kaplama üretiminde, bitkisel (mısır zeini, buğday gluteni, soya proteini, bezelye proteini, ayçiçeği proteini, yer fıstığı proteini ve çiğit proteini) ve hayvansal kökenli proteinler de (keratin, kollajen, jelatin, balık miyofibriler proteini, yumurta akı proteini, kazein ve

peyniraltı suyu proteini) kullanılabilmektedir [6, 12]. Protein bazlı filmlerin, genel olarak mekanik ve optik özellikleri, oksijen, karbondioksit, aroma ve lipit transferine karşı bariyer özellikleri iyi olup, yüksek su buharı geçirgenliğine sahiptirler [1, 6]. Bu filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerinin iyi olması proteinlerin hidrofilik özelliklerinden kaynaklanmaktadır [6]. Protein bazlı filmlerde, protein kompozisyonuna bağlı olarak geçirgenlik özelliği değişebilmektedir [2]. Ayrıca; protein kaynağı, protein çözeltisinin pH'sı, plastikleştirici madde, film kalınlığı, hazırlama koşulları ve film çözeltisine dahil olan yapılar gibi faktörler film özelliklerini etkileyebilmektedir. Protein bazlı filmler kaplandıkları gıdanın besin değerini de artırmaktadır [12].



Şekil 1. Yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılan materyaller

Lipitler

Doğal ve sentetik mumlar ve gliseritler gibi lipit bileşikler, düşük polariteye sahip olduklarından nem kaybına karşı iyi bariyer özellik göstermeleri nedeniyle kaplama maddesi olarak kullanılmaktadırlar. Genel olarak mum kaplamalar nem transferine karşı, diğer lipit ve lipit olmayan kaplamalardan daha fazla direnç göstermektedirler. Mum ve yağ bazlı film ve kaplamalar; kalınlık ve kaygan yüzeyleri, mumsu ve acı tatları nedeniyle uygulamada problem oluşturabilmektedirler [6]. Herhangi bir lipidin hidrofilik veya ıslak bir yüzeye doğrudan uygulanması, gıda ile film ara yüzeyi arasında zayıf bir çekim kuvvetine neden olmaktadır. Bu nedenle, çift katlı kaplama yapılarak daha iyi bariyer özellikler sağlanabilmektedir [2]. Lipitlerden film üretiminde çözücü ve yüksek sıcaklığa gereksinim duyulmakta ve lipit bazlı filmler zayıf mekanik özellik göstermektedir. Sıvı fazdaki lipitler, gaz ve buhar geçişine karşı katılara göre daha az direnç göstermektedir [12].

Kompozitler

Genellikle tek bir hammaddeden üretilen filmler ya iyi bir bariyer özelliği veya iyi bir mekanik direnç gösterir, ancak bu iki özelliği aynı anda bünyesinde bulunduramazlar. Protein ve polisakkarit bazlı filmler, oksijen geçişine karşı direnç gösterirken, hidrofilik olduklarından su buharı geçişine karşı dirençleri sınırlıdır. Lipit bazlı filmler ise iyi bir nem bariyeri

oluşturur, ancak bu filmlerin yüzeyinde gözenekler ve çatlaklar gibi olumsuzluklar bulunabilir, yüzeye yapışmaları zayıftır, homojen değildirler ve üründe mumsu bir tada neden olurlar. Bu olumsuzlukların giderilmesi ve istenen özellikte film oluşturmak için farklı materyallerin karışımlarından yararlanılmaktadır [4]. Kompozit filmlerin yapımında iki temel yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan biri, yenilebilir film üzerine lipit laminasyonu ile çift tabakalı filmlerin üretimi, diğeri de film çözeltisine lipit ilave edilmesine dayanan emülsiyon tekniğidir [4, 6]. Kompozit film oluşturmak için en fazla kullanılan madde selüloz eterdir. Bununla birlikte aljinat, kitosan, nişasta, pektin ve karagenan gibi hidrokolloitler de kullanılmaktadır. Bu maddeler genellikle stearik veya palmitik asit, balmumu, asitlendirilmiş monogliseritler ve lesitin ile karıştırılarak kullanılmaktadır [11].

Çözücüler

Su ve etanol, yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılan en yaygın çözücülerdir. Ancak, film veya kaplama maddesi tarımsal bir proteinden üretilecekse, diğer organik çözücüler de kullanılabilmektedir. Zein proteininden elde edilen filmlerde çözücü olarak etanol ve aseton kullanılmaktadır. Çözücü olarak etanol kullanıldığında elde edilen filmler, aseton kullanılarak hazırlanan filmlere göre daha iyi gerilme kuvveti göstermektedir. Aynı zamanda etanol kullanılarak hazırlanan filmler nemli ve yüksek nemli ortamlarda daha iyi davranış göstermektedir [11].

Plastikleştiriciler

Film ve kaplamalara mekanik özelliklerini geliştirmek amacıyla katılan düşük molekül ağırlıklı bileşiklere plastikleştirici adı verilmektedir [11]. Plastikleştiriciler, intermolekuler güçleri azaltmakta, biyopolimer zincirlerinin hareketliliğini artırmakta ve böylece filmin mekaniksel özelliklerini geliştirmektedir. Plastikleştirici kullanımı polisakkarit filmlerin parlaklığını sağlamak için de gereklidir [12]. Protein kaynaklı yenilebilir filmlerin çoğu, plastikleştirici kullanılmadığında kırılgan yapıda iken, kullanıldığında yapı sağlamlaşmaktadır. Plastikleştiriciler, filmlerin hem esneklik ve gerilme dayanımlarını, hem de geçirgenliklerini etkilemektedir [11].

Yenilebilir film ve kaplama üretiminde filmin esneklik ve sağlamlığını geliştirmek amacıyla glukoz, fruktoz-glukoz şurupları ve sukroz gibi mono, di veya oligosakkaritler; gliserol, sorbitol, gliserol türevleri, polietilen glikolleri gibi polioller; fosfolipitler ve yağ asitleri gibi lipit ve türevleri plastikleştirici olarak kullanılmaktadır [6]. Bir plastikleştiricinin etkinliği boyut, şekil ve protein yapısıyla uyumluluk göstermesi gibi üç faktöre bağlıdır. Normal depolama koşullarında plastikleştiricinin yapısı, filmin esneklik ve geçirgenliğini etkileyebilmektedir. Katı plastikleştiriciler, antiplastikleştirici etki göstermekte, geçirgenliği iyileştirmekte ve esnekliği azaltmaktadırlar [11].

Diğer Katkı Maddeleri

Yenilebilir film ve kaplamalar; antioksidan ve antimikrobiyal maddeler, emülsifiyerler, esmerleşmeyi önleyici ajanlar, aroma maddeleri, renklendiriciler ve diğer fonksiyonel maddeler gibi gıda katkıları ile birleştirilerek kullanılabilmektedir. Bir gıda maddesinin duyusal özellikleri, gıdanın yenilebilir film ve kaplamasına aroma maddesi ilave edilerek iyileştirilebilmekte ve böylece gıda kalitesi ve kullanımı geliştirilebilmektedir. Yenilebilir film ve kaplamaların aktif bileşenlerle birleştirilmesi, bu gıdaların tüketici sağlığı üzerine olan etkisini de geliştirmektedir [11].

Kırmızı et, kanatlı etleri ve su ürünlerinde mikroorganizma gelişimini önleyerek bu ürünlerin raf ömrünü uzatmak ve daha güvenli hale getirmek için yenilebilir film ve kaplamaların yapısına antimikrobiyal maddeler ilave edilebilmektedir. Antimikrobiyal film ve kaplamaların temel avantajı, ajanın gıda içerisine difüze olarak mikroorganizma gelişimini inhibe etmesidir [11]. Kitosan, organik asitler, nisin, laktoperoksidaz sistemler, bitkisel ekstraklar ve esansiyel yağlar yenilebilir film ve kaplamalarda yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal maddelerdir [6]. Yenilebilir film ve kaplamaların oksijen bariyer özellikleri, antioksidan kullanım miktarını sınırlandırmasına rağmen, yağ miktarı yüksek olan ürünlerde, özellikle kırmızı et, kanatlı etleri ve su ürünlerinde daha fazla koruma sağlayabilmek için yapıya ilave edilmektedirler. Bu amaçla çeşitli doğal ve sentetik antioksidan maddeler kullanılmakta ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir [11].

Emülsüfiyer maddeler, kompozit emülsiyon filmlerde lipit dağılımını sağlamak ve kaplama maddelerinin etkinliğini arttırmak amacıyla kullanılmaktadırlar. Asetillenmiş monogliserit, lesitin, gliserol monopalmitat, polisorbat 60, polisorbat 65, polisorbat 80, sodyum lauril sülfat, sorbitan monooleat ve sorbitan monosterat yaygın olarak kullanılan emülsüfiyerlerdir. Bu maddelere ilaveten amfilik özellikleri nedeniyle birçok protein de emülsüfiyer olarak kullanılmaktadır [6].

YENİLEBİLİR FİLM ve KAPLAMA HAZIRLAMA ve GIDALARA UYGULAMA YÖNTEMLERİ

Hazırlama Yöntemleri

Yenilebilir film ve kaplamaların hazırlanmasında çözücü uzaklaştırma, ısıtarak jelleştirme ve eriyiğin katılaştırılması gibi çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır. Polisakkarit bazlı yenilebilir filmlerin üretiminde çözücü uzaklaştırma tekniği kullanılmaktadır. Bu yöntemde sürekli bir yapı oluşturulmakta ve bu yapı, polimer molekülleri arasında kimyasal ve fiziksel etkileşimler ile stabilize edilmektedir. Bu amaçla film çözeltisindeki makro moleküller önce; su, etanol veya asetik asit gibi çözücülerde çözündürülmekte ve bu çözeltinin içerisine jelleştirici ve çapraz bağ yapıcı maddeler ilave edilmektedir. Daha sonra bu çözelti ince bir tabaka halinde dökülmekte, kurutulmakta ve yüzeyden soyularak elde edilmektedir. Bazı protein filmlerinin (serum proteini, kazein, soya ve buğday gluteni) hazırlanmasında proteinlerin jelleşmesi için

çözelti önce ısıl işleme tabi tutulmakta ve hemen sonrasında soğutularak katılaştırılmaktadır. Katılaştırmayı takip eden eritme işlemi ise lipit yapısındaki filmlerin oluşturulmasında kullanılmaktadır [11].

Gıdalara Uygulama Yöntemleri

Yenilebilir film ve kaplamaların gıdalara uygulanmasında 5 farklı yöntemden yararlanılmaktadır. Bunlar; daldırma, püskürtme, boyama, dökme ve ekstrüzyon yöntemleridir [13]. Bunlardan en basit olanı, gıdanın 5-30 saniye süreyle doğrudan kaplama çözeltisine daldırıldığı uygulamadır [2, 13]. Daldırma yöntemi olarak bilinen bu uygulamada, gıda çözeltiyi absorbe etmekte ve yüzeyde istenen kalınlıkta film tabakası oluşmaktadır [2]. Bu yöntem düzgün olmayan yüzeylerin homojen bir şekilde kaplanması, kaplama materyalinin fazlasının uzaklaştırılması ve kurutma olanağı sağlaması gibi avantajlara sahip olmakla birlikte, büyük hacimli gıdaların kaplanmasına uygun değildir. Et, balık ve tavuk gibi kaslı gıdalara asetil gliseritlerin uygulanmasında önerilmektedir [14, 15].

Püskürtme yöntemi, ince bir tabaka şeklinde kaplama yapılması ve sadece bir yüzeyin kaplanmasının istendiği durumlarda kullanılmaktadır. Kalsiyum-aljinat gibi ikili kaplama uygulamalarında çapraz bağlanmayı kolaylaştırmak [11] ve kaplanmış gıda yüzeyinde ikinci bir film tabakası oluşturmak amacıyla da bu yöntemden yararlanılmaktadır [14]. Fazla miktarda kaplama materyali kullanılması, yöntemin en önemli dezavantajıdır. Bu nedenle yardımcı süreçler ile gıda üzerindeki kaplamanın tekdüze bir şekilde dağıtılması sağlanmaktadır [15].

Boyama yöntemi, genellikle homojen ve ince bir tabaka elde edilmesi veya gıdanın belli bir bölgesinin kaplanması durumunda kullanılmaktadır. Bu yöntemde, sıvı formdaki kaplama çözeltisi fırça yardımıyla boyama yapılarak gıdanın kaplanması sağlanmaktadır [14, 15]. Yenilebilir kaplama uygulamalarından sonra gıda yüzeyinin ortam sıcaklığında veya ısıtma yardımı ile kurutulması gerekmektedir. Kurutma süresinin kısa olması, ürün yüzeyinde daha homojen bir yapı oluşumunu sağlamaktadır [11].

Dökme yöntemi; düzgün bir yüzey üzerine, film oluşturacak çözeltinin istenilen kalınlıkta dökülmesi, yayılması ve kurutulması ile film oluşturma yöntemidir [14, 15]. Filmin yapısı; çözelti bileşimi, film döküm kalınlığı ve kurutma koşullarına bağlıdır [13]. Bu yöntemle elde edilen filmler, gıdanın gaz geçirgenliğini azalttığından direkt uygulamaları sınırlıdır. Bu nedenle, çoğunlukla püskürtme ve daldırma yöntemlerine yardımcı olarak kullanılmaktadır [14, 15].

Ekstrüzyon yöntemi, nişasta bazlı yenilebilir filmlerin yapımında kullanılmaktadır. Yöntemin esası, polimerlerin termoplastik özelliklerine dayanmaktadır. Bu yöntemde, polimerlere %10-60 oranında polietilen, glikol ve sorbitol gibi plastikleştiriciler eklenmektedir. Kurutma işlemine ihtiyaç duymaması ve çözücü ilavesi gerekmediğinden, dökme yöntemine göre endüstriyel uygulamalara daha uygundur [13].

YENİLEBİLİR FİLM ve KAPLAMALARIN FONKSİYONLARI

Yenilebilir film ve kaplamalar; nem, gaz ve yağ migrasyonuna karşı bariyer özellik gösterebilmekte, gıdanın mekaniksel özelliklerini geliştirebilmekte, uçucu bileşiklerin tutulmasını sağlayabilmekte, gıda katkı maddeleri, antioksidanlar ve antimikrobiyal maddelerin taşınmasına yardımcı olabilmektedir [2, 6]. Ayrıca, yenilebilir film ve kaplamalar ile gıdada mikrobiyal kontaminasyon ve gelişim önlenebilmekte, kızartma işlemi uygulanacak gıdalarda, kızartma işlemi sırasında hayvansal ve bitkisel yağların alımı azaltılabilmektedir [2]. Gıdaların renk, parlaklık, şeffaflık, sertlik veya yapışkanlık gibi duyusal özellikleri de yenilebilir ambalajlar ile geliştirilebilmektedir. Fonksiyonel etkinlik filmi oluşturan polimerlerin yapısına ve filmin kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir [16].

Yenilebilir film ve kaplamalar, genel olarak gıdaların kalite özelliklerini iyileştirerek ve raf ömürlerini artırarak fonksiyon göstermektedirler. Bununla birlikte, kaslı gıdalardaki fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir [4, 11]:

- Taze veya dondurulmuş etlerin depolama süresince nem kaybetmeleri üründe tekstür, aroma ve renk değişikliklerine neden olurken, aynı zamanda satış ağırlığının da azalmasına yol açmaktadır. Bu nedenle nem bariyer özelliği iyi olan yenilebilir ambalajlar et ve ürünlerinde depolama boyunca meydana gelen nem kaybını önlemede kullanılabilir.
- Taze et veya kanatlı et parçalarının plastik tabaklarda satışında, ürünün sahip olduğu su, damlama ile tabağın alt kısmında birikmekte ve tüketiciler açısından istenmeyen bir görüntü ortaya çıkmaktadır. Yenilebilir ambalajlar bu suyu bünyede tutarak damlamayı önleyebilir, ürünün pazarlanabilme kabiliyetini geliştirir ve plastik tabakların altına su tutucuların konulmasını gerektirmeyebilir.
- Etlerde miyoglobin oksidasyonunun neden olduğu kahverengileşmenin ve lipit oksidasyonunun neden olduğu acılaşmanın hızı, düşük oksijen geçirgenliğine sahip yenilebilir ambalajlar kullanılarak azaltılabilir.
- Sıcak olarak uygulanan yenilebilir kaplama çözeltileri kaslı gıdalarda bozulma etkeni ve patojen mikroorganizma yükünü azaltabilir ve ürün yüzeyinde bulunan proteolitik aktiviteye sahip enzimleri kısmen inaktif hale getirebilir.
- Yenilebilir film ve kaplamalar ile kaslı gıdalardan aroma kaybı ve gıdanın başka bir gıdadan koku alması engellenebilir.
- Yenilebilir ambalajlar, antioksidan ve antimikrobiyal maddeleri taşıyıcı ajan olarak kullanılarak, et ve ürünlerinin hem oksidasyon açısından ve hem de mikrobiyal açıdan stabil kalmasını sağlayabilir.
- Et ve ürünlerine uygulanan kaplamalar, kızartma esnasında yağ emilimini azaltacağından son ürünün besleyici değerinde bir iyileşme meydana getirebilir.

Bu önemli fonksiyonları yerine getiren yenilebilir film ve kaplamaların toksik, alerjik ve sindirilemeyen bileşen içermemesi, gıdada meydana gelebilecek mekanik zararları önlemesi, gıdaya iyi bir şekilde tutunarak yüzeye homojen bir görüntü vermesi, arzu edilmeyen duyusal özelliklere yol açmaması, kolay üretilebilir ve uygulanmasının ekonomik olması gerekmektedir [2].

YENİLEBİLİR FİLM ve KAPLAMALARIN KASLI GIDALARDA KULLANIMLARI

Kırmızı Et ve Ürünleri

Yenilebilir film ve kaplamaların oksidatif ve fiziksel strese karşı bariyer oluşturmaları ve antimikrobiyal/antioksidan maddeleri taşıyıcı özellik göstermeleri nedeniyle kırmızı et ve ürünlerinde kullanımları son yıllarda ilgi görmektedir. Yapılan çalışmalar, oksijen ve diğer gazların geçişini daha iyi kontrol ettiklerinden daha çok polisakkarit ve kompozit film ve kaplamalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Ouattara ve ark. [17] işlenmiş et ürünlerinde kitosan bazlı filmlerin kullanımının laktik asit bakterilerinin gelişimini çok fazla etkilemezken, *Enterobacteriaceae* üyelerinin gelişimini geciktirdiğini tespit etmişlerdir. Vargas ve ark. [18] kitosan filmle kaplanan hamburger köftelerin mikroorganizma yükünde depolama süresince azalma belirlemişlerdir. Park ve ark. [19] düşük yoğunluklu polietilen filmlere kitosan ilavesinin taze etlerde *L. monocytogenes, E. coli* ve *S. enteritidis* gelişimini engellediğini ve etin kırmızı rengini koruduğunu saptamışlardır. Kitosan bazlı kaplamaların *L. monocytogenes*'in inhibisyonunda etkili olduğu Beverlya ve ark. [20] tarafından da tespit edilmiştir. Buna karşılık, Mu ve ark. [21] kitosan filmlerin bifteklerde *L. monocytogenes* gelişimini önlemede tek başına yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Son yapılan bir çalışmada da kitosan bazlı kaplamaların, et ve ürünlerinin raf ömrünü artırmak ve mikrobiyal güvenlik parametrelerini geliştirmek için kullanılabilir olduğu vurgulanmıştır [22].

Kırmızı et ve ürünlerinde araştırılan bir diğer yenilebilir film ve kaplama aljinat bazlı olanlardır. Chidanandaiah ve ark. [23] aljinat kaplamaların köftelerde lipit oksidasyonunu geciktirdiğini ve mikroorganizma gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Wu ve ark. [24] nişasta-alginat-stearik asit bazlı yenilebilir filmlerin sığır eti köftelerinde nem kaybının kontrolünde etkili olduğunu, fakat lipit oksidasyonunun kontrolünde etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Araştırıcılar, tokoferol içeren aljinat filmlerin oksidasyonu önemli derecede geciktirdiğini, ancak aljinat filmlerle kaplanmış köftelerin, polyester torbalarda vakum ambalajlanmış örneklerden daha yüksek oksidasyon ve nem kaybı gösterdiğini belirlemişlerdir. Yu ve ark. [25] da sodyum aljinat filmlerin domuz etlerinin kalitesinin korunmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Tek başına veya antimikrobiyal ve antioksidan maddelerle zenginleştirilmiş pektin ve farklı protein bazlı yenilebilir film ve kaplamalar da kırmızı et ve ürünlerinde araştırılmıştır. Liu ve ark. [26] tarafından yapılan çalışmada, sosis üretiminde pektin bazlı filmlerin jelatin/sodyum aljinat karma filmlerine göre ticari üretime daha uygun olduğu belirlenmiştir. Polilisin içeren serum protein izolatlarından elde edilen yenilebilir filmler, taze etlerin toplam bakteri sayılarını önemli derecede azaltmış ve laktik asit bakterilerinin gelişimini de tamamen durdurmuştur [27]. Taze etin raf ömrünü uzatmada güvey otu esansiyel yağları ile zenginleştirilmiş serum protein izolatları bazlı yenilebilir filmlerin oldukça etkili olduğu Zinoviadou ve ark. [28] tarafından rapor edilmiştir. Lisozim ve Na_2EDTA ile zenginleştirilmiş zein yenilebilir filmler 5 günlük soğuk depolama süresince sığır eti köftelerinde koliform ve toplam bakteri gelişimini inhibe etmiş ve oksidatif stabiliteyi önemli derecede artırmıştır [29].

Kateşinlerle zenginleştirilmiş deniz yosunu (*Gelidium corneum*) yenilebilir filmlerinin buzdolabında depolanan sosislerde antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, kateşin ilavesinin filmlerin gerilme kuvveti ve su buharı geçirgenliğini geliştirdiği bildirilmiştir. *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* türleri ile aşılanan sosis örnekleri daha sonra yenilebilir filmlerle kaplanarak buzdolabında depolanmış ve filmle kaplanan örneklerde bu türler açısından kontrol örneklerine göre önemli bir azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, kateşinle zenginleştirilmiş filmlerle kaplanan sosislerde oksidasyonun daha geç meydana geldiği bildirilmiştir [30]. Herring ve ark. [31] jelatin bazlı filmlerin soğuk depolanmış etlerin TBA sayısı, hem demir, metmiyoglobin ve renk değişikliği gibi kalite parametrelerini koruduğunu bildirmişlerdir. Hong ve ark. [32] tarafından yapılan çalışmada, greyfurt tohumu ve yeşil çay ekstraktı ile zenginleştirilmiş deniz yosunu bazlı filmlerin gerilme kuvveti ve su buharı geçirgenliği kontrol filmlerine oranla daha yüksek bulunmuş ve filme katılan antimikrobiyal madde oranı arttıkça *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gelişimi önemli ölçüde inhibe edilmiştir. Karvakrol ile zenginleştirilmiş deniz yosunu bazlı filmler Lim ve ark. [33] tarafından da çalışılmış ve film çözeltisine karvakrol ilavesi su buharı geçirgenliğini azaltmış, buna karşın gerilme kuvveti ve uzama miktarını artırmıştır. Besiyeri ortamında karvakrol miktarının artırılması *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gelişimini yavaşlatmıştır. Hazırlanan filmlerin sosislere uygulanması ile depolama boyunca mikrobiyal gelişim ve lipit oksidasyonu önemli düzeyde geciktirilmiş ve raf ömrü uzatılmıştır.

Nguyen ve ark. [34] yüksek miktarda (2500 IU/mL) nisin içeren filmlerle kaplanan sosislerin *L. monocytogenes* sayısında 14 günlük depolama sonunda yaklaşık olarak 2 log kob/g düzeyinde bir azalma belirlemişlerdir. Bir başka çalışmada, karvakrol ve sinamaldehit ile zenginleştirilmiş elma, havuç ve ebegümeci gibi kaynaklardan elde edilen pektin bazlı yenilebilir filmler jambon ve Bologna tipi sosislerde çalışılmış ve karvakrol içeren filmlerin sinamaldehit içerenlere ve elmadan elde edilen pektin ile hazırlanan filmlerin, diğer materyallerden elde edilenlere göre daha iyi antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [35]. Soya protein izolatı (SPI) bazlı yenilebilir filmlerin aerobik paketlenmiş ve 4°C'de depolanmış sığır etlerinde kullanıldığı bir çalışmada, SPI filmleri ile kaplanmış örneklerde TBA sayısı ve peroksit değeri artışı yavaşlamış, kontrol örneklerine göre, Hunter *L* ve *a*

değerlerinin düşmesi engellenmiş, ancak depolama boyunca et örneklerindeki toplam mikroorganizma ve *Listeria monocytogenes* sayıları etkilenmemiştir [36].

Kanatlı Etleri ve Ürünleri

Yenilebilir film ve kaplamaların tek başına veya antimikrobiyal ve antioksidan etkili bileşenlerle zenginleştirildikten sonra kanatlı eti ve ürünlerinde kullanımları üzerine de çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Pan ve ark. [37] güvey otu ve karanfil esansiyel yağları ile zenginleştirilmiş serum protein izolatı bazlı yenilebilir filmleri tavuk göğüs etlerine uygulamışlar ve filmlerin antimikrobiyal etkinliklerinin esansiyel yağ miktarı, esansiyel yağ türü ve analiz edilen mikroorganizma grubuna göre değişiklik gösterdiğini bildirilmişlerdir. 20 g/kg düzeyinde güvey otu esansiyel yağı içeren filmlerle kaplanan örneklerin raf ömrünün kontrol grubuna göre iki kat daha uzun olduğunu ve çoğu mikroorganizma grubunun tüketim için kabul edilebilir sınır değerlerin altında kaldığını rapor etmişlerdir. Higueras ve ark. [38] etil-Na-dodekanoil-L-arjinat ile zenginleştirilmiş kitosan bazlı yenilebilir filmlerin tavuk etlerinin, Song ve ark. [39] da, greyfurt çekirdeği özü ile zenginleştirilmiş ayçiçeği tohum proteini/kırmızı alg kompozit filmlerinin ördek etlerinin mikrobiyolojik stabilitesini geliştirmede kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Kitosan bazlı kaplamaların tavuk köftesi ve tavuk kebabı gibi kanatlı eti ürünlerinin raf ömrünü uzattığı Kanatt ve ark. [40] tarafından da bildirilmiştir.

Tavuk göğüs etlerinin kızartılması sırasında kaplama maddelerinin etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, tavuk göğüs etleri değişik konsantrasyonlardaki (%0, %1 ve %2.5) metil selüloz çözeltisine daldırılarak kaplanmış ve daha sonra 190 °C'de kızartma işlemine tabi tutulmuştur. %1 ve %2.5 oranında metil selüloz kullanılarak hazırlanan filmlerle kaplanan örneklerin filme tutunma değerleri kontrol örneklerinden yüksek bulunmuş ve bunun nedeni metil selülozun bağlanma yeteneği ve viskozitesi ile ilişkilendirilmiştir. %2.5 oranında metil selüloz ile hazırlana çözeltiye daldırılan örneklerin daha az kızartma kaybı gösterdiği tespit edilmiştir [41]. Kurt ve Kılıncçeker [42] tavuk etlerinin kaplanmasında, minimum düzeyde kaplama tutma, verim, nem, kızartma kaybı ve yağ içeriği yönünden soya protein izolatı bazlı filmlerin serum proteini bazlı filmlere göre daha iyi bir performans sergilediğini rapor etmişler ve bunun nedenini yüksek pH değeri ile açıklamışlardır. Buna karşın, serum protein bazlı filmlerin tavuk eti ve ürünlerinin yağda kızartılması sırasında yağ emilimini azaltmada etkili olduğu yönünde çalışmalar da mevcuttur [43, 44]. Martelli ve ark. [45] kassava nişastası ve %25 gliserol kullanarak hazırladıkları kaplamaların, tavuk nagıtlarının yağ alımını ve son ürün yağ miktarını önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir.

Yenilebilir filmlerin zenginleştirilmesinde kullanılan önemli antimikrobiyal maddelerden biri de nisindir. Nisinle zenginleştirilmiş zein [46] ve soya proteini [47, 48] bazlı filmlerin kanatlı eti ve ürünlerinde *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe etmede etkili olduğu belirlenmiştir. *Lactobacillus sakei* tarafından üretilen sakacin A bakteriyosininin doğrudan veya film kaplama ile hindi göğüs etlerinde *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir [49]. Nisinle zenginleştirilmiş filmlerin, kanatlı etlerinde *L. monocytogenes*'e ilaveten mezofilik aerobik bakteri ve *Salmonella* gelişimini inhibe ettiği de rapor edilmiştir [50]. Seol ve ark. [51] tavuk göğüs etlerinin muhafazasında ovotransferrin ve EDTA ile zenginleştirilmiş κ-karragenan bazlı yenilebilir filmlerin kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Su Ürünleri

Balık ve diğer su ürünleri protein olmayan azot, su aktivitesi ve pH değerlerinin yüksek olması nedeniyle mikrobiyolojik bozulmaya karşı duyarlı olup, yağ miktarı yüksek olanlarda oksidatif bozulma da görülebilmektedir [52]. Su ürünlerinde bozulmayı önleyebilmek veya yavaşlatmak amacıyla günümüzde farklı uygulamalara başvurulmaktadır. Bu uygulamalar içerisinde yenilebilir film ve kaplamalar önemli yer tutmaktadır. Yapılan birçok araştırma protein, polisakkarit ve lipit kaynaklı yenilebilir film ve kaplama uygulamalarının su ürünlerinin kalitesini koruyarak raf ömrünü artırdığını göstermiştir.

Su ürünlerinde en fazla çalışılan film ve kaplamalardan biri kitosan bazlı olanlardır. Jeon ve ark. [53] kitosan bazlı kaplamaların balıklarda lipit oksidasyonunu ve su kaybını azalttığını ve kitosanın koruyucu etkisinin viskozitesiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Sathivel [54] somon balığını kitosan bazlı filmlerle kaplamanın lipit oksidasyonu ve damlama kaybını minimize ettiğini rapor etmiştir. Morina balığı köftelerinin yenilebilir filmle kaplanması üzerine çalışan Lopez-Caballero ve ark. [55] kitosan içermeyen kontrol grubu, toz kitosan ilave edilen grup ve kitosan-jelatin karışımı ile kaplanan grup olmak üzere 3 farklı örnekle çalışmışlar ve köftelere toz kitosan ilavesinin bakteriyel gelişimi etkilemediğini, kitosan-jelatin kaplamaların duyusal özelliklerinin iyi olduğunu ve bu kaplamaların toplam uçucu bazik azotu ve gram negatif bakteri sayısında azalmaya neden olarak köftelerde bozulmayı geciktirdiğini tespit etmişlerdir. Soğukta muhafaza edilen sazan balığının raf ömrü ve kalitesi üzerine kitosan kaplama işleminin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada %2'lik kitosan ile kaplanarak -3°C de 30 gün depolanan balıklarda, depolama süresince kalite özelliklerinin korunduğu ve raf ömrünün uzadığı bildirilmiştir [56]. Alak ve ark. [57] da, kitosan bazlı filmlerin antimikrobiyal etkisinden dolayı su ürünlerinin raf ömrünün uzatılmasında kullanılabileceğini ve bu etkinin kitosanın bakteriler için gerekli besin maddelerini absorbe etmesi veya negatif yüklü hücre membranı ile etkileşimi sonucu membran geçirgenliğinin artmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Kitosan kaplamaların gökkuşağı alabalık filetolarının muhafaza süresini uzattığı Can ve Patır [52] tarafından da belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada, balık yağı içeren kitosan kaplamaların 2°C'de 3 hafta ve -20°C'de 3 ay depolanan balık filetolarının TBARS değerlerini önemli ölçüde azalttığı, toplam bakteri gelişimini inhibe ettiği, soğukta ve dondurarak depolama sırasında toplam lipit ve omega-3 yağ asitleri miktarını artırdığı ve dondurarak muhafaza edilen örneklerde kaplama yapılmayan örneklere göre damlama kayıplarını azalttığı tespit

edilmiştir [58]. Bu çalışmalara ilave olarak, kitosan bazlı kaplamaların tek başına veya farklı uygulamalarla birlikte su ürünlerinin kalite ve raf ömrünü artırdığı değişik araştırıcılar tarafından da belirlenmiştir [59-61].

Aljinat kaplamalar, yaygın olarak kullanılan bir diğer yenebilir kaplamalardandır. Dumanlanmış somon balıklarında, *L. monocytogenes* ve *Salmonella anatum*'un kontrolü amacıyla nisin, istiridye lizozimi ve tavuk yumurta beyazı lizozimi içeren kalsiyum aljinat kaplamaların kullanımı üzerine yapılan çalışmada, 4°C de 35 gün depolanan balıklarda, lizozim içeren kalsiyum aljinat kaplamaların *L. monocytogenes* ve *Salmonella anatum* gelişimini inhibe ettiği, nisinin, istiridye lizozimi veya tavuk yumurtası beyazı lizozimi içeren kaplamalara ilave edilmesinin antimikrobiyal aktiviteyi artırdığı ve istiridye lizozimi ve tavuk yumurtası beyazı lizoziminin *L. monocytogenes* ve *Salmonella anatum*'a karşı benzer etki gösterdiği bildirilmiştir [62]. Song ve ark. [63] polifenol ve C vitamini içeren aljinat bazlı yenebilir kaplamaların soğukta depolanan çipura balıklarının raf ömrü ve kalitesi üzerine etkisini incelemişler ve inceleme sonunda C vitamini ilavesinin, toplam bakteri gelişimini inhibe etme yönünden diğer uygulamalardan daha etkili olduğunu, kaplama işlemi uygulanmış örneklerde kimyasal bozulmaların azaldığını, su kaybının yavaşladığını ve duyusal kalitenin arttığını tespit etmişlerdir.

Su ürünlerinin depolama kalitesinin artırılmasında kitosan ve aljinat kaplamalar dışında değişik kaynaklardan elde edilen protein ve polisakkarit bazlı film ve kaplamalar da tek başına veya değişik uygulamalarla birlikte çalışılmıştır. Ouattara ve ark. [64] kekik yağı ve sinamaldehit içeren protein bazlı yenilebilir kaplamaların, karideslerde bakteriyel gelişimi yavaşlattığını ve radyasyon ile birlikte uygulanması durumunda raf ömrünü 11 gün kadar uzattığını rapor etmişlerdir. Motalebi ve ark. [65] peyniraltı suyu proteinlerinden üretilen filmlerin balıklarda su ve oksijen bariyeri olarak iyi özellik göstermelerine rağmen, mikrobiyal gelişimin azaltılması için antimikrobiyal ajanlarla birlikte kullanılmalarının gerektiğini bildirilmişlerdir. Tammineni ve ark. [66] patates kabuğu atığı ile hazırladıkları filmleri kekik yağı ile zenginleştirdikten sonra, soğuk dumanlanmış somon balığında kullanmışlar ve yağ konsantrasyonunun artışı ile film kalınlığının ve su buharı geçirgenliğinin azaldığını ve *L. monocytogenes* gelişiminin inhibe edildiğini belirlemişlerdir. %1 karanfil, %1 sarımsak ve %1 kekik yağı ile hazırlanmış gluten kaplamaları soğukta depolanan sıcak dumanlanmış alabalık filetolarında deneyen Akçay [67] gluten ve antimikrobiyal katkılı gluten kaplamaların duyusal ve mikrobiyal bozulmayı geciktirdiğini ve katkılı gluten kaplamalar arasında, kekik yağı içerenlerin lipit oksidasyonunda etkili sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Can ve Çoban [68] alabalık filetolarının soğukta depolanmasında zein bazlı kaplamaların vakum ambalajlamaya alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Dursun Oğur [15] kollojen bazlı yenilebilir filmlerin üstün özelliklere sahip olduğunu ve sıcak dumanlanmış alabalık filetolarının kalite ve raf ömürlerinin uzatılmasında kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

SONUÇ

Yenilebilir film ve kaplamaların kaslı gıdalarda kullanımı uzun yıllardan beri araştırılmakta ve birçok sistem kırmızı et, kanatlı eti ve su ürünlerinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte bu sistemlerin hemen hepsi günümüzde bazı eksiklikler sergilemekte ve ticari olarak uygulanabilir ve kabul edilebilir olarak değerlendirilmemektedir. Bu tür ambalaj materyallerinin ticari olarak kullanılabilirliğini geliştirmek ve sağlamak için uygun film ve kaplama materyalinin seçimi, prosesin optimizasyonu ve sanayiye uygunluğunun sağlanması ve maliyeti düşük uygulamaların geliştirilmesi konularında daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Cutter, C.N., 2006. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science* 74(1): 131-142.

[2] Pavlath, A.E., Orts, W., 2009. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.

[3] Çağrı Mehmetoğlu, A., 2010. Yenilebilir filmlerin ve kaplamaların özelliklerini etkileyen faktörler. *Akademik Gıda* 8(5): 37-43.

[4] Gennadios, A., Milford, A.H., Lyndon, B.K., 1997. Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. *LWT - Food Science and Technology* 30(4): 337-350.

[5] Weller, C.L., Gennaidos, A., Saraiva, R.A., 1998. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. *LWT – Food Science and Technology* 31(3): 279-285.

[6] Robertson, G.L., 2013. Food Packaging: Principle and Practice. Third Edition, CRC Press, Boca Raton, 703p.

[7] McHugh, T.H., 2000. Protein lipid interactions in edible films and coatings. *Nanrung* 44(3): 148-151.

[8] Falgueraa, V., Quinterob, J.P., Jimenezc, A., Munozb, J.A., Ibarza, A., 2011. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology* 22(6): 292-303.

[9] Sallam, K.I., Ishioroshi, M., Samejima, K., 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausages. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 37(8): 849-855.

[10] Turhan, S., Üstün, N.Ş., 2001. Et ve su ürünlerinde lipid oksidasyonu. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 16(1): 89-95.

[11] Üstünol, Z., 2009. Edible Films and Coatings for Meat and Poultry. In Edible Films and Coatings for Food Applications, Edited by Milda E. Embuscado, Kerry C. Huber, Springer Dordrecht Heidelberg London New York, 403p.

[12] Dursun, S., Erkan, N., 2009. Yenilebilir protein filmler ve su ürünlerinde kullanımı. *Journal of Fisheries Science* 3(4): 352-373.

[13] Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha V., Yazhini. G., Banu, M.S., 2012. Edible films from polysaccharides. *Food Science and Quality Management* 3: 1-10.

[14] Polat, H., 2007. İşlenmiş Et Ürünlerinde Yenilebilir Filmlerin ve Kaplamaların Uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Afyon.

[15] Dursun Oğur, S., 2012. Dumanlanmış Balıkların Kalite ve Raf Ömrü Üzerine Yenilebilir Protein Film Kaplamanın Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.

[16] Debeaufort, F., Gallo, J.A.Q., Voilley, A., 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviewers in Food Science* 38(4): 299-313.

[17] Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Begin, A., Holley, R.A., 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology 62*(1–2): 139-148.

[18] Vargas, M., Albors, A.., Chiralt, A., 2011. Application of chitosan-sunflower oil edible films to pork meat hamburgers. *Procedia Food Science* 1(1): 39-43.

[19] Park, S.I., Marsh, K.S., Dawson, P., 2010. Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. *Meat Science* 85(3): 493-499.

[20] Beverlya, R.L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W., No, H.K., 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology* 25(3): 534-537.

[21] Mu, Y., Hudaa, N., Haiqiang, C., 2008. Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. *Food Microbiology* 25(2): 260-268.

[22] Baranenko, D.A., Kolodyaznaya, V.S., Zabelina, N.A., 2013. Effect of composition and properties of chitosan-based edible coatings on microflora of meat and meat products. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 12(2): 149-157.

[23] Chidanandaiah, Keshri, R.C., Sanyal, M.K., 2009. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4 ±1 °C) storage. *Journal of Muscle Foods* 20(3): 275-292.

[24] Wu, Y., Rhim, J.W., Weller, C.L., Hamouz, F., Cuppett, S., Schnepf, M., 2001. Moisture loss and lipid oxidation for precooked ground-beef patties packaged in edible starch-alginate-based composite films. *Sensory and Nutritive Qualities of Foods* 66(3): 486-493.

[25] Yu, X.L., Li, X.B., Xu, X.L., Zhou, G.H., 2008. Coating with sodium alginate and its effects on the functional properties and structure of frozen pork. *Journal of Muscle Foods* 19(4): 333-351.

[26] Lim, G.O., Hong, Y.H., Song, K.B., 2010. Application of *Gelidium corneum* edible films containing carvacrol for ham packages. *Journal of Food Science* 75(1): 90-93.

[27] Zinoviadou, K.G., Koutsoumanis, K.P., Biliaderis, C.G., 2010. Physical and thermo-mechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobials, and their effect against spoilage flora of fresh beef. *Food Hydrocolloids* 24(1): 49-59.

[28] Zinoviadou, K.G., Koutsoumanis, K.P., Biliaderis, C.G., 2009. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science* 82(3): 338-345.

[29] Ünalan, I.U., Korel, F., Yemenicioglu, A., 2011. Active packaging of ground beef patties by edible zein films incorporated with partially purified lysozyme and Na(2)EDTA. *International Journal of Food Science and Technology* 46(6): 1289-1295.

[30] Ku, K.J., Hong, Y.H., Song, K.B., 2008. Mechanical properties of a *Gelidium corneum* edible film containing catechin and its application in sausages. *Journal of Food Science* 73(3): 217-221.

[31] Herring, J.L., Jonnalongadda, S.C., Narayanan, V.C., Coleman, S.M., 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage. *Meat Science* 85(4): 651-656.

[32] Hong, Y.H., Lim, G.O., Song, K.B., 2009. Physical properties of *Gelidium corneum*-gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. *Journal of Food Science* 74(1): 6-10.

[33] Lim, G.O., Hong, Y.H., Song, K.B., 2010. Application of *Gelidium corneum* edible films containing carvacrol for ham packages. *Journal of Food Science* 75(1): 90-93.

[34] Nguyen, V.T., Gidley, M.J., Dykes, G.A., 2008. Potential of a nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit *Listeria monocytogenes* on processed meats. *Food Microbiology* 25(3): 471-478.

[35] Ravishankar, S., Jaroni, D., Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T., Friedman, M., 2012. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectin-based apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde. *Journal of Food Science* 77(7): 377-382.

[36] Shon, J., Eo, J.H., Eun, J.B., 2010. Effect of soy protein isolate coating on quality attributes of cut raw han-woo (Korean cow) beef, aerobically packaged and held refrigerated. *Journal of Food Quality* 33(Supp. s1): 42-60.

[37] Pan, I.F., Granda, X.C., Mate, J.I., 2014. Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. *Food Control* 36(1): 69-75.

[38] Higueras, L., Lopez-Carballo, G., Hernandez-Munoz, P., Gavara, R., Rollini, M., 2013. Development of a novel antimicrobial film based on chitosan with LAE (ethyl-N(α)-dodecanoyl-l-arginate) and its application to fresh chicken. *International Journal of Food Microbiology* 165(3): 339-345.

[39] Song, N.B., Song, H.Y., Jo, W.S., Song, K.B., 2013. Physical properties of a composite film containing sunflower seed meal protein and its application in packaging smoked duck meat. *Journal of Food Engineering* 116(4): 789-795.

[40] Kanatt, S.R., Rao, M.S., Chawla, S.P., Arun, S., 2013. Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. *LWT - Food Science and Technology* 53(1): 321-326.

[41] Maskat, M.Y., Yip, H.H., Mahali, H.M., 2005. The performance of a methyl cellulose-treated coating during the frying of a poultry product. *International Journal of Food Science ve Technology* 40(8): 811-816.

[42] Kurt, S., Kilincceker, O., 2011. Performance optimization of soy and whey protein isolates as coating materials on chicken meat. *Poultry Science* 90(1): 195-200.

[43] Dragich, A.M., Krochta, J.M., 2010. Whey protein solution coating for fat-uptake reduction in deep-fried chicken breast strips. *Journal of Food Science* 75(1): 43-47.

[44] Al-Abdullah, B.M., Angor, M.M., Al-Ismail, K.M., Ajo, R.Y., 2011. Reducing fat uptake during deep-frying of minced chicken meat-balls by coating them with different materials, either alone or in combination. *Italian Journal of Food Science* 23(3): 331-337.

[45] Martelli, M.R., Carvalho, R.A., Sobral, P.J.A.., Santos, J.S., 2008. Reduction of oil uptake in deep fat fried chicken nuggests using edible coatings based on cassava starch and methylcellulose. *Italian Journal of Food Science* 20(1): 111-118.

[46] Janes, M.E., Kooshesh, S., Johnson, M.G., 2002. Control of *Listeria monocytogenes* on the surface of refrigerated, ready-to-eat chicken coated with edible zein film coatings containing nisin. *Food Microbiology and Safety* 67(2): 2754-2757.

[47] Dawson, P.L., Carl, G.D., Acton, J.C., Han, I.Y., 2002. Effect of lauric acid and nisin-impregnated soy-based films on the growth of *Listeria monocytogenes* on turkey bologna. *Poultry Science* 81(5): 721-726.

[48] Theivendran, S., Hettiarachchy, N.S., Johnson, M.G., 2006. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin combined with grape seed extract or green tea extract in soy protein film coated on turkey frankfurters. *Journal of Food Science* 71(2): 39-44.

[49] Trinetta, V., Floros, J.D., Cutter, C.N., 2010. Sakacin A-containing pullulan film: an active packaging system to control epidemic clones of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Journal of Food Safety* 30(2): 366-381.

[50] Göğüş, U., Bozoğlu, F., Yurdugul, S., 2004. The effects of nisin, oil-wax coating and yogurt on the quality of refrigerated chicken meat. *Food Control* 15(7): 537-542.

[51] Seol, K.H., Lim, D.G., Jang, A., Jo, C., Lee, M., 2009. Antimicrobial effect of κ-carrageenan-based edible film containing ovotransferrin in fresh chicken breast stored at 5 °C. *Meat Science* 83(3): 479-483.

[52] Can, Ö.P., Patır, B., 2012. Kitosan kaplamanın gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss,* W. 1792) filetolarının raf ömrü üzerine etkisi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 42(4):148-154.

[53] Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A., Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(18): 5167–5178.

[54] Sathivel, S., 2005. Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Science* 70(8): 455-459.

[55] Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guille, N.M.C., Perez-Mateos, M., Montero, P., 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids* 19(2): 303–311.

[56] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry* 115(1): 66 – 70.

[57] Alak, G., Aras Hisar, S., Hisar, O., Kaban, G., Kaya, M., 2010. Microbiological and chemical properties of bonito fish (*Sarda sarda*) fillets packaged with chitosan film, modified atmosphere and vacuum. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergis*i 16(Suppl-A): 73-80.

[58] Duan, J., Cherian, G., Zhao, Y., 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. *Food Chemistry* 119(2): 524–532.

[59] Chamanara, V., Shabanpour, B., Khomeiri M., Gorgin, S., 2013. Shelf-life extension of fish samples by using enriched chitosan coating with thyme essential oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 22(1): 3–10.

[60] Günlü, A., Koyun, E., 2013. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4°C). *Food and Bioprocess Technology* 6(7): 1713–1719.

[61] Sipahioğlu, S., 2013. Kitosan Esaslı Yenilebilir Filmle Kaplanmış Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) Filetolarının Raf Ömrü ve Kalitesi Üzerine Yüksek Hidrostatik Basınç İşleminin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Isparta.

[62] Datta, S., Janes, M.E., Xue, Q.G., La Peyre, J.F., 2008. Control of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella annatum* on the surface of smoked salmon coated with calcium alginate coating containing oyster lysozyme and nisin. *Journal of Food Science* 73(2): 67-71.

[63] 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(3-4): 608-615.

[64] Ouattara, B., Sabato, S.F., Lacroix, M., 2001, Combined effect of antimicrobial coating and gamma ırradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus spp*.). *International Journal of Food Microbiology* 68(1-2): 1-9.

[65] Motalebi A.A., Hasanzati Rostami A., Khanipour A.A., Soltani, M., 2010. Impacts of whey protein edible coating on chemical and microbial factors of gutted kilka during frozen storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 9(2): 255-264.

[66] Tammineni, N., Ünlü, G., Min S.C., 2013. Development of antimicrobial potato peel waste-based edible films with oregano essential oil to inhibit *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Science and Technology* 48(1): 211-214.

[67] Akçay, S., 2012. Antimikrobiyal Madde İçeren Yenilebilir Filmlerin Dumanlanmış Balığın Kalitesine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.

[68] Can, Ö.P., Çoban, Ö.E., 2012. Vakum paketlemenin ve zein ile kaplamanın balık filetolarının kalite kriterleri üzerine etkilerinin karşılaştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 5(1): 87-91.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda®
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda 15(1) (2017) 95-102, DOI: 10.24323/akademik-gida.306079

Derleme Makale / Review Paper

Et Ürünleri Formülasyonlarında Emülsifiye Edilmiş Yağların Kullanımı

Merve Karabıyıkoğlu, Meltem Serdaroğlu ✉

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 18.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 31.03.2017
✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): meltem.serdaroglu@ege.edu.tr (M. Serdaroğlu)*
0 232 311 13 14 0 232 342 75 92

ÖZ

Daha sağlıklı et ürünleri formülasyonları geliştirilmesi son yıllarda tüketici talepleri doğrultusunda ilgi görmektedir. Az yağlı, yağ asidi profili değiştirilmiş fonksiyonel katkılar içeren et ürünlerinin geliştirilmesinde reformülasyon stratejileri en önemli uygulamalardandır. Yağın emülsiye edilerek kullanılmasıyla uygulanan reformülasyon stratetejileri, yağ ve kolesterol miktarının azaltılması, yağ asidi profilininin geliştirmesi gibi üç temel hedefe yöneliktir. Basit emülsiyonlar et ürünlerinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen yenilikçi yaklaşımlar olarak jel ve çok katlı emülsiyonlar birçok avantaj sağlamaktadır. Jel emülsiyonlarda emülsiyonun hidrojel yapı içerisinde tutulması ile teknolojik kalite açısından da daha stabil ürün eldesi mümkün olabilmektedir. Çoklu emülsiyonlar karmaşık yapıları sebebiyle jel emülsiyonlara oranla daha düşük stabilite göstermesine rağmen, yağın azaltılmasına daha fazla olanak sağlaması ve biyoaktif katkıların enkapsülayonu, formülasyona eklenebilecek antioksidanın et matriksinde daha iyi tutulması gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Jel ve çok katlı emülsiyonlar gıda endüstrisi açısından yenilikçi yaklaşımlar olmakla birlikte, et ürünlerinde kullanımı konusunda kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Bu derlemede et ürünlerinde kullanılan emülsiyon türleri ve et endüstrisinde uygulanabilirliği hakkında bilgiler sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Emülsiyon, Jel emülsiyon, Çoklu emülsiyon, Et ürünleri

Uses of Emulsified Lipid Phases in Meat Product Formulations

ABSTRACT

In recent years there has been growing consumer interest towards healthier meat products. Reformulation is one of the most important approaches for the development of meat products containing functional and low-fat additives with modified fatty acid profile. Three main goals related to the improvement of fat content using meat reformulation strategies by structured emulsions (simple, gelled and double emulsions) are reduction of total fat, cholesterol and modification of fatty acid profiles. Gel emulsions, a recent technique in formulation of healthier meat products, are systems created through stabilizing of an emulsion in a hydrogel structure. Multiple emulsions present novel approaches in carrying of bioactive compounds and/or reduction of fat in food industry. O/W gel and $W_1/O/W_2$ multiple emulsions are brand new delivery systems for food industry and so, except a very few research, their utilization in industrial meat products has not been studied extensively. This review provides information on the types of lipid emulsions used in meat products and their applicability in meat industry.

Keywords: Emulsion, Gelled emulsion, Double emulsion, Meat products

GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin gıdaları besleyici özelliklerinin yanı sıra sağlık üzerine olan etkilerini de göz önüne alarak değerlendirmeleri gıda endüstrisinde alternatif fonksiyonel gıda formülasyonları geliştirme konusundaki çalışmaların hız kazanmasına yol açmaktadır. Et endüstrisinde daha sağlıklı formülasyonların

geliştirilmesi konusundaki çalışmalar; yağ, kolesterol ve tuz miktarının azaltılması, yağ asidi profilinin değiştirilmesi, biyoyararlılığın arttırılması, prebiyotik ve probiyotikler, vitaminler, mineraller ve doğal antioksidanlar gibi katkıların kullanılması konularında yoğunlaşmıştır [1]. Toplam yağ miktarının azaltılması, doymuş yağ asitleri ve kolesterol miktarının azaltılması yağ modifikasyon teknikleri ile mümkün olabilmektedir [2-4].

Yağ et ürünlerinde görünüm, lezzet, tekstür, ağız hissi, sululuk ve ısı transferi gibi birçok parametre üzerinde etkili olmaktadır [2, 4, 5]. Yağın miktarının azaltılması, ürünün kabul edilebilirliğini yüksek oranda etkilemektedir [6, 7]. Et ürünlerinde toplam kaliteyi etkilemeksizin yağ miktarını azaltmak amacıyla çeşitli yaklaşımlar ortaya konulmaktadır. Bunlar içerisinde nispeten yağsız hammadde kullanılması, eklenen su miktarının arttırılması, yağ ikamesi olarak ve formülasyondaki fazla suyu absorbe edebilmek amacıyla bitkisel ve hayvansal kaynaklı çeşitli protein ve polisakkaritlerin kullanılması, yağın emülsifiye edilerek kullanılmasıyla formülasyonda yağ miktarının seyreltilerek azaltılmasıdır örnek olarak verilebilir [4]. Et ürünlerinde yağ kaynağı olarak, bitkisel ve/veya hayvansal yağlar ile hazırlanan emülsiyonların kullanılması yağ miktarının azaltılması ve yağ asitleri modifikasyonuna olanak sağlamaktadır [4].

Genel anlamda "emülsiyon", birbiriyle karışmayan iki sıvıdan (genellikle yağ ve su) birinin diğeri içerisinde küçük damlacıklar halinde dağılmasıyla oluşan yapı olarak tanımlanmaktadır. Gıda emülsiyonlarının çoğu emülsiyon içerisinde damlacık oluşturan faz (kesikli faz), damlacıkları çevreleyen faz (sürekli faz) ve ara yüzey olmak üzere farklı fizikokimyasal özelliklere sahip üç bölgeden oluşmaktadır [8]. Emülsiyonlar sürekli ve kesikli fazlarına göre yağ içinde-su emülsiyonları (W/O) ve su içinde-yağ emülsiyonları (O/W) olmak üzere basit emülsiyonlar ve su içinde-yağ içinde-su ($W_1/O/W_2$) ve yağ içinde-su içinde -yağ ($O_1/W/O_2$) çoklu emülsiyonları olmak üzere iki ana grupta toplanmaktadır [8]. Bu derlemede et ürünlerinde kullanılan emülsiyon türleri ve et endüstrisinde uygulanabilirliği hakkında genel bir bakış açısı sunulmaktadır.

ET ÜRÜNLERİNDE EMÜLSİFİYE YAĞLARIN KULLANILMASI

Daha sağlıklı et ürünleri üretiminde yağ ve kolesterol miktarının azaltılması ile yağ asidi profilinin değiştirilmesi temel stratejilerdendir. Yağın ürün formülasyonundaki oranının azaltılması ve yağ asidi profilinin değiştirilmesi doymamış yağ asitlerince zengin bitkisel yağların emülsifiye edilerek kullanımıyla mümkün olabilmektedir [3]. Emülsifiye edilmiş yağ kaynaklarının kullanımıyla bitkisel yağların doğrudan formülasyona eklenmesiyle üretim sırasında oluşabilecek teknolojik kalite problemlerinin önlenebilmesinin yanı sıra et ürünlerinin oksidatif kararlılığının da arttırılabilmesi sağlanabilmektedir. Hayvansal ya da bitkisel yağların protein ve/veya karbonhidrat bazlı emülgatörler varlığında emülsifiye edilerek kullanılması ile et matriksinin su ve yağ bağlama kapasitesi arttırılarak su ve yağın sistemde tutulması sağlanabilmekte, Emülsiyonlara antioksidan katkıların eklenmesi ile doymamışlık oranı yüksek olan bitkisel yağlar kullanıldığında lipid oksidasyonu da yavaşlatılabilmektedir. Et ürünlerinde emülsifiye edilmiş yağların kullanımıyla az yağlı, yağ asidi kompozisyonu değiştirilmiş, daha sağlıklı et ürünlerinin üretimi gerçekleştirilebilmektedir [2]. Yapılan çeşitli çalışmalarda emülsifiye et ürünleri formülasyonlarında yağ miktarının azaltılması amacıyla hayvansal ya da bitkisel yağlarla (fındık, mısır, ayçiçek, soya ve zeytinyağı vb.) hazırlanan emülsiyonların kullanılabileceği öngörülmüştür [9-11]. Et ürünlerinde hayvansal yağın emülsifiye yağlar ile ikamesinde basit (O/W) emülsiyonlar [10, 12, 13], jel emülsiyonlar [11, 14] ve çok katlı ($W_1/O/W_2$) emülsiyonlar [9, 15, 16] konusunda yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.

Et Ürünlerinde Basit Emülsiyonların Kullanılması

Yapılan çeşitli çalışmalarda emülsifiye et ürünleri formülasyonlarında yağ miktarı ve doymuş yağ asitleri oranının azaltılması amacıyla bitkisel yağlar (fındık, mısır, ayçiçek, soya ve zeytinyağı vb.) ile hazırlanan emülsiyonların kullanılabileceği, bu sayede yağ miktarının azaltılmasıyla ortaya çıkan kalite problemlerinin önlenerek duyusal kalitenin geliştirilmesinin mümkün olabileceği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur [17-21].

Basit emülsiyonların kullanımıyla et ürünlerinde doymamış yağ asitleri oranının artırılması sağlanırken, beslenme otoritelerince önerilen *n-6/n-3* oranının azaltılması mümkün olabilmektedir. Kuru fermente sosislerde keten tohumu yağı ve soya protein izolatı ile hazırlanan O/W emülsiyonu kullanılarak üründeki doymamış yağ asitleri miktarı arttırılırken; soya proteini ve balık yağı ile hazırlanan O/W emülsiyonların kullanımıyla n-6/n-3 oranının 2.97'ye düşürülmesi sağlanmıştır [22, 23]. Fermente sosislerde keten tohumu/kanola yağı ve sodyum kazeinat içeren O/W emülsiyonu kullanılarak *n-6/n-3* oranında azalma sağlanırken, keten tohumu yağı içeren örneklerde 45 günlük depolama sonrasında TBA değerinde belirgin artış gözlenmiştir [24]. Kuru fermente sosislerde keten tohumu ve alg yağının soya protein izolatı ile hazırlanan emülsiyonun domuz yağı ile %25 oranında ikamesinin *n-6/n-3* oranının 15.7'den 1.96'ya düşürdüğü, yapılan çalışmada emülsiyon formülasyonuna antioksidan eklenmesinin lipid oksidasyonunun yavaşlatılmasında etkili olduğu bulgulanmıştır [25].

Et ürünlerinde yağın doğrudan azaltılması ve bitkisel kaynaklı yağ kullanımı sonucu oluşabilecek teknolojik ve duyusal kalite problemleri önceden emülsifiye edilmiş O/W emülsiyonların kullanımıyla kısmen önlenebilmekte olup; yapılan bir çalışmada frankfurter tipi sosislerde zeytinyağı, sodyum kazeinat, soya proteini izolatı ve mikrobiyal transglutaminaz ile hazırlanan O/W emülsiyonların hayvansal yağ ile ikame edilmesi sonucu duyusal parametreler etkilenmeden yağ ve su bağlama kapasitesi daha yüksek olan ürünler geliştirilmiştir [26]. Model sistem et emülsiyonlarına üzüm çekirdeği ve soya yağı ile hazırlanan O/W emülsiyonun hayvansal yağ ile %30 oranında ikame edilmesiyle pişme kaybı artarken,

emülsiyon stabilitesinin azaltıldığı bildirilmiştir [27]. Yapılan bir çalışmada üzüm çekirdeği/ayçiçeği yağı ile hazırlanan O/W emülsiyonların %20'ye kadar hayvansal yağ ile ikame edildiğinde duyusal parametrelerde olumsuz etki görülmediği vurgulanmıştır [28]. Dana sosislerinde hayvansal yağ yerine fındık yağı ve kazeinat içeren O/W emülsiyonların kullanımıyla dokuda yumuşama saptanmıştır [13]. Tavuk ciğer ezmesinde ayçiçek/kanola yağı ve sodyum kazeinat ile hazırlanan O/W emülsiyonların kullanımıyla mikroyapının iyileştirilerek sürülebilirliğin arttırıldığı ve pişirme kayıplarının azaltılabileceği bildirilmiştir [10]. Et ürünlerinde O/W emülsiyonların kullanıldığı çalışmalar Tablo.1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Et ürünlerinde O/W emülsiyonların kullanıldığı çalışmalar

Ürün	Uygulama	Bulgular	Kaynak
Kuru fermente sosis (chorizo)	Keten tohumu yağı + soya protein izolatı	• Yağ asidi profilinde değişim sağlamıştır. • Emülsiyon kullanılan örneklerde depolama periyodu boyunca yağ oksidasyonu kontrol örneklerine yakın bulunmuştur.	[22]
Kuru fermente sosis (chorizo)	Balık yağı + soya proteini	• Emülsiyon kullanılan örneklerde n-6/n-3 oranı azaltılmıştır. • Emülsiyon kullanılan örneklerde BHA ve BHT kullanımıyla oksidasyon yavaşlatılmıştır.	[23]
Fermente sosis	Keten tohumu yağı/kanola yağı + sodyum kazeinat	• Keten tohumu yağı kullanılan örneklerde n-6/n-3 oranında azalma gözlenmiştir. • 45. günden itibaren keten tohumu yağı ön emülsiyonu kullanılan gruplarda TBARS, peroksit ve n-hegzanal değerlerinde belirgin artış saptanmıştır.	[24]
Kuru fermente sosis (Chorizo)	Keten tohumu veya alg yağı + soya protein izolatı	• Emülsiyon kullanılan gruplarda n-6/n-3 oranı azaltılmıştır. • Emülsiyonlarda doğal antioksidan kullanımı lipid oksidasyonunun engellenmesinde etkili olmuştur.	[25]
Et emülsiyonu	Üzüm çekirdeği yağı + soya protein izolatı	• Emülsiyon kullanımı örneklerde nem, pH ve protein çözünürlüğünü arttırmıştır. Artan emülsiyon miktarı, pişirme verimi ve emülsiyon stabilitesini düşürmüştür.	[27]
Dana sosis	Fındık yağı + kazeinat	• Emülsiyon kullanımı ile doymamış yağ asidi oranı arttırılmıştır. • Sosislerde emülsiyon stabilitesi ve su tutma kapasitesi yükselmiştir. • Emülsiyon kullanımının dokuda yumuşamaya neden olduğu belirlenmiştir.	[13]
Tavuk ciğeri ezmesi	Ayçiçek ve kanola yağı +sodyum kazeinat	• Emülsiyon kullanımı ile MUFA ve PUFA miktarı arttırılmıştır. • Mikro-yapının iyileşmesini sağlayarak sürülebilir özelliği arttırmış, pişirme kayıplarını azaltmıştır.	[10]

Et Ürünlerinde Jel Emülsiyonların Kullanılması

Jel emülsiyon sistemleri et ürünlerini de kapsayan sağlıklı gıda formülasyonlarının oluşturulmasında yenilikçi bir yaklaşımdır [29]. Jel emülsiyonlar; emülsiyon ve jel yapılarını bir arada bulunduran kolloidal özellikte olmaları nedeniyle karmaşık bir yapıya sahip, ağ yapısı ile jel, mekanik özellikleri ile katı davranış gösteren sistemlerdir. Emülsiyon jel üretimi proteinlerle stabilize edilen emülsiyon oluşumu esasına dayanır. Sıvı halde bulunan emülsiyonun jel hale gelebilmesi emülsiyon damlacıklarının kümelenmesi ya da sürekli fazının jelleştirilmesi ile mümkün olmaktadır [30]. Jel emülsiyonlar iki basamaklı üretim prosesiyle elde edilirler. Jel emülsiyon üretiminde başlangıç aşaması tipik olarak iç fazda proteinle stabilize edilen likit emülsiyon üretimini içerir. İkinci aşamada gerçekleştirilen jelleşme işlemi ise enzim uygulaması (transglutaminaz), asidifikasyon (soğuk jelleşme) ve sıcaklık uygulaması (sıcak jelleşme) gibi farklı yöntemlerle sağlanabilmektedir. Sıcak jelleşme için bazı polisakkaritler ve proteinler, soğuk jelleşme için ise polisakkaritler, proteinler ve enzimler kullanılabilir [30]. Jel emülsiyonlar; ısıtma, enzim aktivasyonu ve asidifikasyon gibi prosesler ile yumuşak-katı bir materyale dönüşebilen protein bazlı O/W veya W/O emülsiyonlar olup; emülsiyonların fonksiyonel performansı O/W veya W/O emülsiyonlarının sürekli hidrojel faz içine yerleştirilmesiyle kontrol edilebilmekte ve bu yapı hidrojel emülsiyon matriksinin oluşumu ile sonlanmaktadır [31]. Isıl işlem, enzim uygulaması ve asitlendirme gibi yöntemlerle proteinler ile stabilize edilen jel emülsiyonların hazırlanmasında süt, soya ve yumurta kaynaklı proteinler kullanılabilirken; polisakkaritlerle stabilize edilen jel emülsiyonların hazırlanmasında, aljinat (kalsiyum iyonları ilavesiyle), karragenan ve inülin gibi katkılar kullanılabilmektedir [30, 32]. Et ürünlerinde O/W jel emülsiyonların kullanıldığı çalışmalar Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Et ürünlerinde O/W jel emülsiyonların kullanıldığı çalışmalar

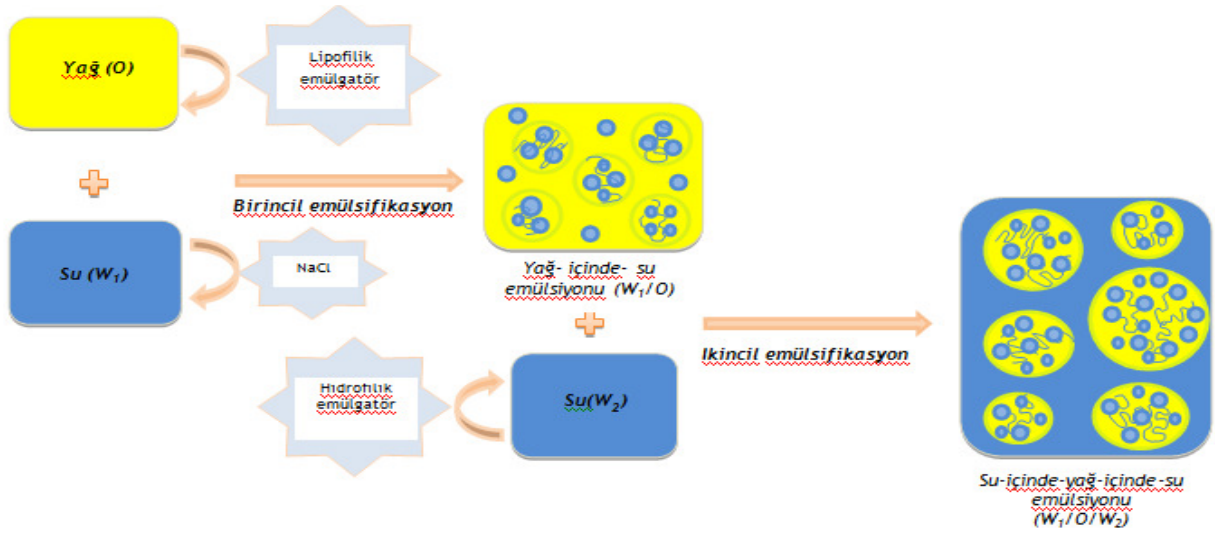
Ürün	Uygulama	Bulgular	Kaynak
Frankfurter sosis	Zeytinyağı, keten tohumu yağı ve balık yağı; soya protein izolatı, sodyum kazeinat ve mikrobiyal transglutaminaz (MTG) kullanılarak farklı formülasyonlardan oluşan O/W jel emülsiyonların domuz yağı yerine kullanılması	• Farklı oranlarda bitkisel ve hayvansal yağlar kullanılarak hazırlanan O/W jel emülsiyonlarının hayvansal yağ ile ikame edilmesinin raf ömrünü ve kaliteyi olumsuz etkilemediği tespit edilmiştir.	[33]
Bologna salam	Keten tohumu yağının karragenan kullanılarak O/W jel emülsiyon halinde kullanılması	• Domuz yağının O/W jel emülsiyonla yer değiştirilmesi ile duyusal özellikleri kontrol örnekleriyle eşdeğer, doymamış yağ asitlerince zengin ürün elde edilmiştir.	[34]
Köfte	Ayçiçek yağı ve karragenan kullanılarak hazırlanan jel emülsiyonların %25, 50, 75 ve 100 oranında domuz yağı ikamesi olarak kullanımı	• Jel emülsiyon kullanılan örneklerde toplam yağ miktarı, kolesterol ve doymuş yağ asitleri miktarı azaltılmıştır. • Jel emülsiyon içeren örneklerde, kontrol grubuna kıyasla lipid ve kolesterol oksidasyon ürünleri daha düşük bulunmuştur. • Duyusal özelliklerin kontrol örnekleri aynı olduğu tespit edilmiştir.	[35]
Sosis	Balık yağının, MTG, sodyum kazeinat ve pektin kullanılarak O/W jel emülsiyon halinde domuz yağı ikamesi olarak kullanımı.	• Örneklerde yağ miktarının azaltıldığı saptanmıştır. • Jel emülsiyon içeren örneklerde TBA değerleri, O/W emülsiyon içeren örneklere kıyasla daha düşük bulunmuştur.	[11]
Frankfurter sosis	Domuz yağı yerine, zeytinyağı; chia tohum/unu, MTG, aljinat veya jelatin ile hazırlanan O/W jel emülsiyonların kullanımı.	• O/W jel emülsiyonlar kullanılarak ürünün yağ miktarı %40 oranında azaltılmış, yağ asitleri kompozisyonu modifikasyonu gerçekleşmiştir. • Jelatin içeren jel emülsiyon gruplarında örneklerin TBA değeri daha düşük bulunmuştur.	[36]
Frankfurter sosis	Domuz yağı yerine, zeytinyağı; chia tohum/unu, MTG, aljinat veya jelatin ile hazırlanan O/W jel emülsiyonların kullanımı	• O/W jel emülsiyonlarla hazırlanan ürünlerin oksidatif stabiliteleri yüksek bulunmuştur. • Daha sağlıklı ve duyusal özellikleri geliştirilmiş ürünler elde edilmiştir.	[37]
Kuru Fermente Sosis	Keten tohumu yağı, karrageenan ile hazırlanan O/W jel emülsiyonun domuz yağı ikamesi olarak kullanımı	• %39.5 O/W jel ikamesi ile α-linolenik asit miktarı arttırılmıştır. • O/W jel emülsiyon içeren örnekler oksidatif stabilite ve duyusal özellikler bakımından kontrol örnekleri ile benzer bulunmuştur.	[38]
Model Sistem et emülsiyonu	Zeytinyağı, inülin ve jelatin ile hazırlanan O/W jel emülsiyonun sığır yağı ikamesi olarak kullanımı	• O/W jel emülsiyonun %50 oranına kadar sığır yağı ikamesi olarak kullanımıyla pişme veriminde artış gözlenirken, su tutma kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi değerleri kontrol örneklerinden farklılık göstermemiştir.	[39]
Tavuk köfte	Zeytinyağı, inülin ve jelatin ile hazırlanan O/W jel emülsiyonun sığır yağı ikamesi olarak kullanımı	• Jel emülsiyon içeren örneklerde, O/W jel emülsiyonun %50 oranında sığır yağı ikamesi olarak kullanımıyla pişme verimi, su tutma kapasitesinde artış gözlenmiştir.	[40]

Tabloda özetlendiği gibi jel emülsiyonların et ürünlerinde kullanımıyla ilgili az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, bu çalışmalarda jelleştirici ajan olarak karragenan, jelatin, soya proteini izolatı ve sodyum kazeinat kullanımı konusunda yoğunlaşılmıştır. Yağ kaynağı olarak jel emülsiyon kullanılarak yağ miktarının azaltılması ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin yağların kullanımıyla yağ asidi profilinin geliştirilmesinin yanı sıra [11, 36], oksidatif stabilite açısından yağ miktarının azaltılması ve jel emülsiyon kullanımıyla ilişkili olarak O/W emülsiyonlara ve kontrole kıyasla TBA değeri daha düşük [11, 34], %50 oranında ikamesiyle teknolojik kalite açısından kontrole eşdeğer ürün eldesinin [34, 37] mümkün olduğu bulunmuştur.

Et Ürünlerinde Çok Katlı Emülsiyonların Kullanımı

Çoklu emülsiyonlar düşük termodinamik stabilite ile karakterize edilen, karmaşık dağılım gösteren sistemlerdir. Genel anlamda çoklu emülsiyon,

''emülsiyonun emülsiyonu'' olarak tanımlanmakta olup; yağ içinde su (W/O) ve su içinde yağ (O/W) morfolojilerinin bir arada bulunduğu emülsiyonlardır. İki ana tipi bulunmakta olup; $W_1/O/W_2$ (su içinde- yağ içinde- su) ya da $O_1/W/O_2$ (yağ içinde-su içinde- yağ) olarak ayrılabilir [41-43]. Tek katlı bir emülsiyonda yalnızca iki adet kütle fazı ve tek bir yağ-su ara yüzeyi vardır. Çoklu bir emülsiyonda ise üç ayrı kütle fazı ve iki adet yağ-su ara yüzeyi bulunmaktadır. $W_1/O/W_2$ tipi bir emülsiyonda W_1 iç su fazı ve W_2 dış su fazını oluşturmaktadır. W_1-O tabakası iç su damlacıklarını çevrelemekte, O-W_2 tabakası ise yağ damlacıklarını çevrelemektedir [8]. Çoklu emülsiyonlarda iki çeşit ara yüzey bulunduğu için, formülasyonda tipik olarak iki ayrı emülgatör kullanılması gerekmektedir. Bunlardan bir tanesi iç damlacıkları (birincil emülsiyon), diğeri dış damlacıkları (ikincil emülsiyon) stabilize etmek için kullanılmaktadır [43, 44]. İçteki su damlacıklarını stabilize etmek için yağda çözünür özellikte bir emülgatör, yağ damlacıklarını stabilize etmek için ise suda çözünür özellikte bir emülgatöre ihtiyaç duyulmaktadır [8]. Çok katlı emülsiyonların iki basamaklı emülsifikasyon yöntemi ile oluşturulması Şekil 1'de gösterilmektedir [9].



Şekil 1. Çok katlı emülsiyonların iki basamaklı emülsifikasyon yöntemiyle hazırlanması [8]

Emülgatörler kullanılarak hazırlanan çok katlı emülsiyonlarda görülen asıl problem uzun süreli stabilite ve su salınımıdır. Çoklu emülsiyonların davranışları [45-47] ve gıdalarda kullanımı üzerine araştırmalar bulunmakta olup [48, 49]; $W_1/O/W_2$ emülsiyonların gıdalarda kullanımı; çeşitli aromaları, biyoaktif bileşikleri veya hassas gıda bileşenlerini enkapsüle etmek ve daha sağlıklı, yağı azaltılmış ürünlerin üretimine olanak sağlanması olmak üzere iki temel stratejiye dayanmaktadır [43, 44].Yağı azaltılmış ürünlerde yağ yerine $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonları kullanılarak, standart yöntemlerle üretilmiş emülsifiye gıda ürünlerine eşdeğer duyusal kalitede ürünlerin elde edilebileceği öngörülmektedir [43]. $W_1/O/W_2$ emülsiyonlarının aynı zamanda, dış fazda (sürekli faz) su içermesi nedeniyle ürünlerde lezzet hissini geliştirmesi [44] ve yağ oksidasyonunu önlemesi [50-52] gibi etkileri de belirtilmiştir. Et ürünlerinde çoklu emülsiyonların kullanımı sınırlı sayıda olup tablo 3'de özetlenmiştir.

Çoklu emülsiyonların et ürünlerinde kullanımıyla ilgili yapılan kapsamlı literatür taraması sonucunda kısıtlı sayıda çalışma olduğu görülmekte olup bu çalışmaların model sistem üzerine yoğunlaştığı, fermente et ürünlerinde çoklu emülsiyon kullanılan çalışma bulunmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmalarda çoklu emülsiyon oluşturulma aşamasında emülsifiye edici ajan olarak sodyum kazeinat ve peynir altı suyu proteini üzerine yoğunlaşıldığı, antioksidan olarak HXT kullanımının ise et matriksindeki proteinleriyle etkileşimi sonucunda iç su yerine dış su fazında daha etkin olduğu belirtilmiştir. Et ürünlerinde çoklu emülsiyonların kullanımı yaklaşımı sonucunda %60'a kadar yağ azaltımının ve yağ asidi profilinin geliştirilmesi sağlanabilmektedir [9, 15]. Oksidatif kararlılık gözlendiğinde [9] çoklu emülsiyon kullanımıyla emülsiyon stabilitesi ve oksidatif kararlılığın yüksek daha sağlıklı, yağ asidi profili geliştirilmiş ürün eldesinin mümkün olduğunu bildirmiştir.

SONUÇ

Son yıllarda tüketicilerin bilinç düzeyi ve beklentilerindeki değişimlerle birlikte, gıda endüstrisinde yağı azaltılmış ve fonksiyonel bileşenlerce zenginleştirilmiş, daha sağlıklı et ürünlerinin formüle edilmesi konusundaki Ar-Ge çalışmaları hız kazanmıştır. Et ürünlerinde yağ; görünüm, sululuk, lezzet ve tekstür gibi kalite kriterlerini önemli derecede etkileyen bir bileşen olup, formülasyonda yağ oranının azaltılması ve/veya yağ asitleri kompozisyonunun modifikasyonunu sağlayan bitkisel yağların doğrudan kullanımı, belirtilen bu kriterlerde olumsuz değişikliklere neden olmaktadır. Bu nedenle yenilikçi yağ azaltma ve yağ asitleri profilinin modifikasyonu ile ilgili stratejiler konusunda kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çeşitli teknikler ile hazırlanan yağ emülsiyonlarının farklı karakteristiklere sahip olması, ürün içindeki davranışlarını da

etkilemektedir. Hayvansal yağın bitkisel yağlarla hazırlanan basit emülsiyonlara kıyasla daha kompleks yapıdaki farklı türde emülsiyonlar (jel ve çoklu emülsiyonlar) ile ikame edilmesinin, daha sağlıklı et ürünleri geliştirilmesi amacı doğrultusunda çözümsel bir yaklaşım sunabileceği gözlemlenmiştir.

Tablo 3. Et ürünlerinde W/O/W çoklu emülsiyonların kullanıldığı çalışmalar

Ürün	Uygulama	Bulgular	Kaynak
Jel/emülsiyon et sistemi	Domuz yağı ikamesi olarak zeytinyağı, sodyum kazeinat veya peynir suyu proteini ile hazırlanan $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonların kullanımı	• $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonlarının kullanıldığı örneklerin yüksek oranda termal ve kremleşme stabilitesine sahip olduğu saptanmıştır. • $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonlarının et sistemlerine ilavesiyle su ve bağlama özellikleri geliştirilmiştir.	[53]
Model sistem et emülsiyonu	Chia yağı, sodyum kazeinat ve hidroksitirosol (HXT) ile hazırlanan $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonların domuz et yağı yerine kullanımı	• Chia yağı ile hazırlanan $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonlar yüksek stabilite göstermiştir. • Chia yağı kullanılan örneklerde oksidatif değişiklikleri daha yüksek oranda bulunmuştur. • HXT'in çoklu emülsiyonun iç su fazı yerine, eklenen su fazında kullanımı ile et proteinleriyle etkileşimine bağlı olarak antioksidatif etki daha yüksek bulunmuştur. • Chia yağı ilavesiyle doymamışlık oranının artmasına bağlı olarak oksidasyonunun ilerlediği saptanmıştır.	[16]
Sosis	Perilla yağı veya domuz sırt yağının sodyum kazeinat ile $W_1/O/W_2$ emülsiyon hazırlanarak uygulanması	• $W_1/O/W_2$ çoklu emülsiyonların ilavesiyle yağ asitleri kompozisyonu geliştirilirken, %60 oranında yağın azaltılması sağlanmıştır. • Bitkisel yağın doğrudan kullanıldığı örneklerde TBA değeri daha yüksek bulunmuştur.	[15]
Model sistem et emülsiyonu	Zeytinyağının sodyum kazeinat ile $W_1/O/W_2$hazırlanarak uygulanması	• Çoklu emülsiyonlar, yağ miktarının azaltılması ve yağ asidi kompozisyonunu modifikasyonunu sağlamıştır. • Emülsiyon stabilitesi ve oksidatif kararlılık çoklu emülsiyon kullanımı ile yükseltilmiştir.	[9]

KAYNAKLAR

[1] Jiménez Colmenero, F., Herrero, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., 2012. Meat and functional foods. In Y. H. Hui (Ed.), Handbook of meat and meat processing (2nd Edition). Boca Raton: CRC Press. Taylor & Francis Group, pp. 225–248.

[2] Jiménez-Colmenero, F., 2007. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology* 18: 567-578.

[3] Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F., Sánchez-Muniz, F.J., 2013. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science* 95: 919-930.

[4] Jiménez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., 2015. Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends in Food Science & Technology* 44: 177-188.

[5] Keenan, D.F., Resconi, V.C., Kerry, J.P., Hamill, R.M., 2014. Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. *Meat Science* 96: 1384-1394.

[6] Huffman, D.L., Egbert, W. R., 1990. Chemical analysis and sensory evaluation of the developed lean ground beef products. In Advances in Lean Ground Beef Production. Alabama Agric. Ex. Sta. Bull. No 606. Auburn University, Alabama, USA.

[7] Giese, J., 1996. Fats, oils and fat replacers. *Food Technology* 50(4): 78-83.

[8] Mcclements, D.J., Decker, E.A., Weiss, J., 2007. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science* 72: 109-124.

[9] Serdaroğlu, M., Öztürk, B., Urgu, M., 2016. Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science* 117: 187-195.

[10] Xiong, G., Wang, P., Zheng, H., Xu, X., Zhu, Y., Zhou, G., 2016. Effects of plant oil combinations substituting pork back-fat combined with pre-emulsification on physicochemical, textural, microstructural and sensory properties of spreadable chicken liver pate. *Journal of Food Quality* 39(4):331-341.

[11] Salcedo-Sandoval, L., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Matalanis, A., McClements, J., Decker, E. A., 2015.Oxidative stability of n-3 fatty acids encapsulated in filled hydrogel particles and of pork meat systems containing them. *Food Chemistry* 184: 207-213.

[12] Serdaroğlu, M., Öztürk, B., Kara, A. 2015. An overview of food emulsions: description, classification and recent potential applications. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* 3(6):430-438.
[13] Urgu, M., 2013. Yağı Azaltılmış Sosislerde Su Içinde Fındık Yağı Emülsiyonu Ve Fındık Tozu Kullanımının Araştırılması Tasarımı. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir.
[14] Pintado, T., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., Jimenez-Colmenero, F., 2016a.Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological and structural properties of frankfurters. Food Science and Technology International 22: 132-145.
[15] Freire, M., Bou, R., Cofrades, S., Solas, M. T., Jimenez-Colmenero, F., 2016. Double emulsions to improve frankfurter lipid content: impact of perilla oil and pork backfat. Journal of Science of Food and Agriculture DOI:10.1002/jsfa.7163.
[16] Cofrades, S., Santos-Lopez, J.A., Freire, M., Benedi, J., Sanchez-Muniz, Jimenez-Colmenero, F., 2014. Oxidative stability of meat systems made with W1/O/W2 emulsions prepared with hydroxytyrosol and chia oil as lipid phase. *LWT - Food Science and Technology* 59: 941-947.
[17] Ertaş, A.H., Karabaş, G., 1998. Ayçiçek yagı ile frankfurter tipi sosis üretimi üzerinde araştırma. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 22: 235-240.
[18] Pappa, I.C., Bloukas, J.G., Arvanitoyannis, I.S., 2000. Optimization of salt, olive oil and pectin level for low-fat frankfurters produced by replacing pork backfat with olive oil. *Meat Science* 56: 81-88.
[19] Vural, H., Javidipour, I., Ozbas, O.O., 2004. Effects of interesterified vegetable oils and sugar beet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Science* 67: 65-72.
[20] Özvural, E.B., Vural, H., 2008. Utilization of interesterified oil blends in the production of frankfurters. *Meat Science* 78: 211-216.
[21] Zorba, Ö., Kurt, Ş., Gençcelep, H., 2005. The effects of different levels of skim milk powder and whey powder on apparent yield stress and density of different meat emulsions. *Food Hydrocolloids* 19: 149–155.
[22] Valencia, I., Ansorena, D., Astiasaran, I., 2006a. Stability of linseed oil and antioxidants containing dry fermented sausages: A study of the lipid fraction during different storage conditions. *Meat Science* 73: 269-277.
[23] Valencia, I., Ansorena, D., Astiasaran, I., 2006b. Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with n– 3 PUFAs. *Meat Science* 72: 727-733.
[24] Pelser, M.W., Linssen, C.P.H., Legger, A., Houben, J.H., 2007. Lipid oxidation in n–3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Science* 75: 1–11.
[25] de Ciriano, G.I.M., Rehecho, S., Calvo, M.I., Cavero, R.Y., Navarro, I., Astiasaran, I., Ansorena, D., 2010. Effect of lyophilized water extracts of Melissa officinalis on the stability of algae and linseed oil-in-water emulsion to be used as a functional ingredient in meat products. *Meat Science* 85: 373–377.
[26] Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A., Pintado, T., Solas, M.T., Ruiz-Capillas, C., 2010. Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International* 43: 2068-2076.
[27] Choi, Y.S., Choi, J.H., Han, D.J., Kim, H.Y., Lee, M.A., Kim, H.W., Lee, J.W., Chung, H.J., Kim, C.J., 2010. Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. *Meat Science* 84: 212-218.
[28] Asuming-Bediako, N., Jaspal, M.H., Hallett, K., Bayntun, J., Baker, A., Sheard, P.R., 2014. Effects of replacing pork backfat with emulsified vegetable oil on fatty acid composition and quality of UK-style sausages. *Meat Science* 96: 187-194.
[29] Lam, R.S.H., Nickerson, M.T., 2013. Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry* 141: 975–984.
[30] Dickinson, E., 2012. Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids* 28: 224-241.
[31] Sato, A.C.K., Moraes, K.E.F.P., Cunha, R.L., 2014. Development of gelled emulsions with improved oxidative and pH stability. *Food Hydrocolloids* 34: 184-192.
[32] Paradiso, V. M., Giarnetti, M., Summo, C., Pasqualone, A., Minervini, F., Caponio, F., 2015. Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil. *Food Hydrocolloids* 45: 30-40.
[33] Delgado- Pando, G., Cofrades, S., Ruiz –Capillaz, C., Solas, M. T., Triki, M., Jimenez- Colmenero, F., 2011. Low-fat frankfurters formulated with a healthier lipid combination as functional ingredient: Microstructure, lipid oxidation, nitrite content, microbiological changes and biogenic amine formation. *Meat Science* 89: 65- 71.
[34] Poyato, C., Ansorena, D., Berasategi, I., Navarro-Blascol, Astiasaran, I., 2014. Optimization of a gelled emulsion intended to supply u-3 fatty acids into meat products by means of response surface methodology. *Meat Science* 98: 615-621.
[35] Poyato, C., Astiasaran, I., Barriuso, B., Ansorena, D., 2015. A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. *LWT - Food Science and Technology* 62: 1069-1075.
[36] Pintado, T., Herrero, A.M., Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Carmona, P., Jimenez-Colmenero, F., 2016a. Effects of emulsion gels containing bioactive compounds on sensorial, technological and structural properties of frankfurters. *Food Science and Technology International* 22: 132-145.
[37] Pintado, T., Ruiz-Capillas, C., Jimenez-Colmenero, F., Carmona, P., Herrero, A.M., 2016b. Oil-in-water emulsion gels stabilized with chia (*Salvia hispanica* L) and cold gelling agents: technological and

infrared spectroscopic characterization. *Food Chemistry* 185: 470-478.

[38] [38] Alejandre, M., Poyato, C., Ansorena, D., Astiasaran, I., 2016. Linseed oil gelled emulsion: A successful fat replacer in dry fermented sausages. *Meat Science* 121:107-113.

[39] Serdaroğlu, M., Nacak, B., Karabıyıkoğlu, M., Keser, G., 2016. Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on functional and quality properties of model system meat emulsions. *Korean Journal for Food Science of Animal Resource* 36(6): 744-751.

[40] Karabıyıkoğlu, M., Keser, G., Nacak, B., Serdaroğlu, M., 2016. Effects of partial beef fat replacement with gelled emulsion on functional and quality properties of chicken patties, 2nd Food Structure Design Congress (FSD), 26-28 October, Antalya, Turkey.

[41] Benichou, A., Aserin, A., Garti, N., 2004. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science* 20*:* 108-109: 29-41.

[42] Benichou, A., Aserin, A., Garti, N., 2007. O/W/O double emulsions stabilized with wpi–polysaccharide conjugates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 297(1-3): 211–220.

[43] Dickinson, E., 2011. Double Emulsions Stabilized By Food Biopolymers. *Food Biophysics* 6(1): 1-11.

[44] De Cindio, B., Grasso, G., Cacace, D., 1991. Water-in-oil-in-water double emulsions for food applications: yield analysis and rheological properties. *Food Hydrocolloids* 4(5): 339–353.

[45] Florence, A.T, Whitehill D., 1982. The formulation and stability of multiple emulsions. *Int J Pharm* 1982(11): 277-308.

[46] Garti, N, Bisperink, C., 1998. Double emulsions: progress and applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* (3): 657–67.

[47] Dickinson E., McClements D.J., 1996. Water–in-oil-in-water multiple emulsions. Advances in food colloids. London: Blackie Academic and Professional; 280–300p.

[48] Garti, N., Benichou, A., 2004. Recent developments in double emulsions for food applications. In: Friberg E, Larsson K, Sjöblom J, editors. Food emulsions. New York: Marcel Decker; 353–412p.

[49] Muschiolik, G., 2007. Multiple emulsions for food use. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 12: 213–220.

[50] Choi, S.J., Decker, E.A., McClements D.J., 2009. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. *Food Chemistry* 116: 271–276.

[51] O'regan, J., Mulvihill, D.M., 2010. Sodium caseinate-maltodextrin conjugate stabilized double emulsions: encapsulation and stability. *Food Research International* 43: 224-231.

[52] Flaiz, L., Freire, M., Cofrades, S., Mateos, R., Weiss, J., Jiménez-Colmenero, F., Bou, R., 2016. Comparison of simple, double and gelled double emulsions as hydroxytyrosol and n-3 fatty acid delivery systems. *Food Chemistry* 213: 49–57.

[53] Cofrades, S., Antoniou, I., Solas, M.T., Herrero, A.M., Jimenez- Colmenero. F., 2013. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chemistry* 141: 338–346.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda® / Academic Food Journal
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

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

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin www.academicfoodjournal.com web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için ogursoy@yahoo.com e-posta adresinden editörle irtibata geçebilirsiniz.

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

Makalelerin Değerlendirilmesi

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

Hızlandırılmış Makale Basımı

Dergide "yayımlanmak üzere kabul edilen makalelerin", derginin takip eden ilk sayısında yayımlanmasını talep eden yazar(lar)ın yayıncı kuruluşa makale başına 750 TL ücret ödemesi gerekmektedir. Bu durum hızlandırılmış basım talebi olmayan makaleler için geçerli olmayıp, Akademik Gıda dergisinde makale basımı için yazar(lar)dan herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Çalışmaların Hazırlanması

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

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

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

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz, Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekiyorsa), Kısaltmalar (gerekiyorsa), Kaynaklar.

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

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

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

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

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

11. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayınlandığı dergi isimleri italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağında (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

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

Kitap

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

Kitap Bölümü

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

Kongre-Sempozyum Bildirisi

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

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak en geç bir ay içerisinde yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Bu süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar “ilk defa gönderilmiş çalışma” olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

SİDAS MEDYA
Akademik Gıda® / Academic Food Journal
ISSN Online: 2148-015X
http://www.academicfoodjournal.com

Guidelines to Authors

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

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

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

Peer review policy

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

Publication fee

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

Accelerated publication of an article

Articles accepted for publication can be published in the first coming issue of the journal at the charge of €200 per manuscript if the authors request accelerated publication.

Preparation of a manuscript

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

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

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

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

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

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

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

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

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

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

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

Article

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D., 2011. Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gida* 9(2): 6-12.

Book

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

Book Chapter

[3] Gibson, GR, Saavedra, JM, MacFarlane, S., MacFarlane, GT, 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

Proceedings of the Congress-Symposium

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

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office via e-mail within a month.

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