

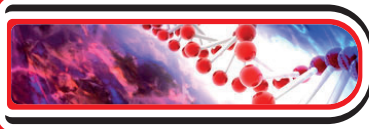
İçerikten / From the content


Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Pasteurized and UHT-Treated Cow Milk Samples Marketed in Turkey

Türkiye'de Satışa Sunulan UHT ve Pastörize İnek Sütü Örneklerinin Toplam Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik Madde İçeriği


Effects of Extraction Solvents on Polyphenol Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Pomegranate Parts

Narın Farklı Bölümlerinin Polifenol İçeriği, Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesi Üzerine Ekstraksiyon Çözümlerinin Etkisi


Effect of Hardaliye on FoxM1 Gene Expression Level of HT-29, DU-145, HeLa Cancer Cells and CF-1 (Mouse Embryonic Fibroblast)

Hardaliyenin HT-29, DU-145, HeLa Kanser Hücreleri ve CF-1 (Fare Embriyonik Fibroblast) Hücreleri FoxM1 Gen Ekspresyon Seviyelerine Etkisi


Grafen Oksit-Polianilin Nanokompozit Temelli Amperometrik Glukoz Biyosensörü Geliştirilmesi

Development of Graphene Oxide-Polyaniline Nanocomposite Based Amperometric Glucose Biosensor


Yaban Mersini İlaveli Muffin Keklerin Bazı Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Özellikleri

Some Chemical, Physical and Sensory Properties of Muffin Cakes with Blueberries (Vaccinium sp.)


Yaban Mersini (Vaccinium corymbosum L.) Suyu Konsantresinin Püskürtmeli Kurutucuda Kurutulması: Tepki Yüzey Yöntemiyle Optimizasyon

Drying Blueberry (Vaccinium corymbosum L.) Juice Concentrate by Spray Dryer: Optimization by Response Surface Methodology


Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması

Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Sourdough


Soğuk Pres Ayçiçeği Yağının Farklı Depolama Koşullarındaki Oksidatif Stabilitesi

Oxidative Stability of Cold Pressed Sunflower Oil under Different Storage Conditions

KANSERDEN KORUNMADA GIDALAR ve BESLENME



SIDAS MEDYA

sidasmedya@gmail.com • www.gidakitaplari.com

SİDAS MEDYA

www.academicfoodjournal.com

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL
AKADEMİK GIDA[®]
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

• Cilt/Volume:15 • Sayı/Number:2 • 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 yayımlandığı 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 Ariseto (State University of Campinas, Brazil)
Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)
Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)
Jurislaw Babić (University of Osijek, Croatia)
Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)
Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)
Noredine 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 Paulo, 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 Anđ Küçükler (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 Prbasankar (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 Veliöğlu (Ankara University, Turkey)
Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)
Aydın Yapar (Pamukkale University, Turkey)
Hasan Yetim (Erciyes University, Turkey)
Atilla Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)
Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)
Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

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. Eurasian Scientific Journal Index
 24. Field Crop Abstracts
 25. Food Science and Technology Abstracts (FSTA)
 26. Forest Science Database
 27. Global Health
 28. Google Scholar
 29. Horticultural Science Abstracts
 30. Horticultural Science Database
 31. Index Copernicus
 32. Impact Factor Services for International Journals (IFSIJ)
 33. International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF)
 34. İdeal Online
 35. Journal Index Net
 36. Maize Abstracts
 37. Nutrition Abstracts and Reviews Series A: Human and Experimental
 38. Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding
 39. Nutrition and Food Sciences Database
 40. Ornamental Horticulture
 41. Parasitology Database
 42. Plant Breeding Abstracts
 43. Plant Genetic Resources Abstracts
 44. Plant Genetics and Breeding Database
 45. Plant Protection Database
 46. Postharvest Abstracts
 47. Potato Abstracts
 48. Poultry Abstracts
 49. Protozoological Abstracts
 50. Review of Agricultural Entomology
 51. Review of Aromatic and Medicinal Plants (RAMP)
 52. Review of Medical and Veterinary Entomology
 53. Review of Medical and Veterinary Mycology
 54. Review of Plant Pathology
 55. Rice Abstracts
 56. Rural Development Abstracts
 57. Science Library Index
 58. Scientific Indexing Services (SIS)
 59. Seed Abstracts
 60. Soil Science Database
 61. Soils and Fertilizers Abstracts
 62. Soybean Abstracts
 63. Sugar Industry Abstracts
 64. Tropical Diseases Bulletin
 65. The Turkish Academic Network and Information Centre Life Sciences Database (TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı)
 66. Veterinary Science Database
 67. VetMed Resource
 68. Weed Abstracts
 69. Wheat, Barley and Triticale Abstracts
 70. World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstracts (WAERSA)
-
-

Akademik Gıda 15 (2) (2017)
İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ Editörden / Editorial

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Pasteurized and UHT treated Cow Milk Samples Marketed in Turkey / Türkiye'de Satışa Sunulan UHT ve Pastörize İnek Sütü Örneklerinin Toplam Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik Madde İçeriği / Kubra Ertan, Damla Bayana, Ozge Gokce, Tapani Alatossava, Yusuf Yılmaz, Oguz Gursoy, 103-108

Effects of Extraction Solvents on Polyphenol Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Pomegranate Parts / Narın Farklı Bölümlerinin Polifenol İçeriği, Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesi Üzerine Ekstraksiyon Çözümlerinin Etkisi / Meltem Türkyılmaz, Şeref Tağı, Mehmet Özkan 109-118

Effect of Hardaliye on FoxM1 Gene Expression Level of HT-29, DU-145, HeLa Cancer Cells and CF-1 (Mouse Embryonic Fibroblast) / Hardaliyenin HT-29, DU-145, HeLa Kanser Hücreleri ve CF-1 (Fare Embriyonik Fibroblast) Hücreleri FoxM1 Gen Ekspresyon Seviyelerine Etkisi / Özge Kahraman Ilikkan 119-123

Grafen Oksit-Polianilin Nanokompozit Temelli Amperometrik Glukoz Biyosensörü Geliştirilmesi / Development of Graphene Oxide-Polyaniline Nanocomposite Based Amperometric Glucose Biosensor / Sadık Çoğal 124-129

Yaban Mersini İlaveli Muffin Keklerin Bazı Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Özellikleri / Some Chemical, Physical and Sensory Properties of Muffin Cakes with Blueberries (*Vaccinium sp.*) / Fatma Işık, Ünkan Urgancı, Figen Turan 130-138

Yaban Mersini (*Vaccinium corymbosum L.*) Suyu Konsantresinin Püskürtmeli Kurutucuda Kurutulması: Tepki Yüzey Yöntemiyle Optimizasyon / Drying Blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) Juice Concentrate by Spray Dryer: Optimization by Response Surface Methodology / Kübra Atacan, Derya Koçak Yanık 139-148

Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması / Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Sourdough / Fatih Bakırcı, Ergun Köse 149-154

Soğuk Pres Ayçiçeği Yağının Farklı Depolama Koşullarındaki Oksidatif Stabilitesi / Oxidative Stability of Cold Pressed Sunflower Oil under Different Storage Conditions / S. Sezer Kırılan, Mustafa Kırılan 155-162

■ Derleme Makaleler / Review Papers

Vakumlu Emdirim (İmpregnasyon) Teknolojisinin Fonksiyonel Meyve ve Sebze Ürünlerinin Geliştirilmesinde Kullanımı / Use of Vacuum Impregnation Technology for Development of Functional Fruit and Vegetable Products / Fatih Mehmet Yılmaz, Seda Ersus Bilek 163-171

Bakteriyofajların Antibakteriyel Ajan Olarak Kullanımı / Use of Bacteriophages as Antimicrobial Agents / Firuze Ergin, Gizem Yıldız, Emine Mine Çomak Göçer, Ahmet Küçükçetin 172-181

Meyve ve Sebzelerde Etilen Tutucu İçeren Aktif Ambalajlama Sistemlerinin Uygulanması ve Raf Ömrüne Etkisi / Application of Ethylene Scavenging Systems on Fruits and Vegetables and Their Effect on Shelf Life / Elif Sezer, Zehra Ayhan 182-191

Siğir Karkaslarının Kalite Değerlendirmesinde Amerika Birleşik Devletleri'nde Kullanılan USDA Karkas Derecelendirme Sistemi / USDA Carcass Grading System for Beef Carcass Quality Evaluation / İbrahim Şeker, Abdurrahman Köseman, Pınar Şeker, Yasin Baykalır 192-203

Deve Sütü ve Diyabet Tedavisindeki Önemi / Camel Milk and Its Importance in Diabetes Treatment / Derya Saygılı, Cem Karagözlü 204-210

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors



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: 76

Nisan - Haziran 2017

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİME-DYAR** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 15. yayın yılının ikinci sayısında sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 8 araştırma ve 5 derleme çalışması olmak üzere toplam 13 makale yer almaktadır.

TÜBİTAK-ULAKBİM'in Haziran ayında tarafımıza gönderdiği bir yazıda, yazar adından yapılan yayın/atıf taramalarında isim benzerlikleri, soyadı değişikliği, Türkçe harf içeren isimler, farklı yazımlar, kurum değişiklikleri gibi durumların sorun oluşturabildiği ve bu nedenle araştırmacıların tanımlayıcı kimlik/numara (ID) edinmelerinin önemli olduğu vurgulanmıştır. ULAKBİM TR Dizin sistemlerinde tanımlayıcı ID bilgilerine yer vereceğinden ve standardizasyonun sağlanabilmesi ve YÖK ile birlikte yürütülecek ortak çalışmalarda ORCID® kullanılacağı için, TR Dizin'de yer alan veya yer almak üzere başvuran dergilerin, yazarlardan ORCID® bilgilerini talep etmeleri ve dergide/makalelerde bu bilgiye yer vermeleri tavsiye edilmiştir. ORCID®, Open Researcher ve Contributor ID'nin kısaltmasıdır. ORCID®, Uluslararası Standart Ad Tanımlayıcı (ISNI) olarak da bilinen ISO Standardı (ISO 27729) ile uyumlu 16 haneli numaralı bir URI'dir. ORCID® numarası olmayan araştırmacılar <http://orcid.org> adresinden bireysel ORCID® numarası için ücretsiz kayıt oluşturabilmektedir. Dergimizde makale yazarlarının ORCID® numaralarının verilmesi uygulaması bu sayımızla birlikte başlamıştır. Dergimize yeni makale gönderecek olan araştırmacıların makalelerine tüm yazarların ORCID® numaralarını eklemeleri gerekmektedir. Tüm yazarların ORCID® numara bilgisi sağlanmayan makaleler dergimizde yayımlanmayacaktır.

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 Kinik
Ramazan Gökçe
Yusuf Yılmaz
Yardımcı Editörler

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

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 Teknoloji 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.gidamuhendisligikongresi.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.








International Honey Commission Congress 2017

Uluslararası Bal Komisyonu tarafından 25-28 Eylül 2017 tarihlerinde Maritim Pine Beach Hotel'de (Belek, Antalya) gerçekleştirilecek olan Uluslararası Bal Komisyonu Kongresi 2017 ile ilgili detaylı bilgilere <http://ihc2017antalya.com/> adresinden ulaşılabilir.

İç Anadolu Bölgesi 3. Tarım ve Gıda Kongresi

Tarım ve gıda alanındaki gelişmeleri gündeme getirmek ve yeni işbirliklerine olanak sağlamak amacıyla düzenlenen İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi'nin (TARGID) 3.sü 26-28 Ekim 2017 tarihlerinde uluslararası katılımlı olarak Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünün ev sahipliğinde Sivas'ta gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://www.targid.org/> adresinden ulaşılabilir.

Total Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Pasteurized and UHT-Treated Cow Milk Samples Marketed in Turkey

Kubra Ertan¹ , Damla Bayana² , Ozge Gokce³ , Tapani Alatossava⁴ , Yusuf Yilmaz¹ ,
Oguz Gursoy¹  

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey

²Department of Food Engineering, Institute of Natural and Applied Sciences, Ege University, İzmir, Turkey

³Scientific and Technological Application and Research Centre, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey

⁴Department of Food and Environmental Sciences, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Received (Geliş Tarihi): 30.05.2017, Accepted (Kabul Tarihi): 12.07.2017

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

☎ 0 248 213 27 23 📠 0 248 213 27 04

ABSTRACT

In this study, UHT-treated (a total of 39 samples with 17 full-fat, 17 semi-fat and 5 skim milk) and pasteurized (5 full-fat) milk samples from different trademarks were obtained from national market chains, which constitute the majority of the Turkey's pasteurized and UHT milk market. Total antioxidant capacities and phenolic contents of milk samples were determined by the 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) and Folin-Ciocalteu (FC) methods, respectively. Mean total phenolic contents of milk samples ranged from 505.46±16.66 to 982.14±168.42 mg gallic acid equivalents (GAE)/L. Statistical results of the ABTS assay indicated that total antioxidant capacities in decreasing order were pasteurized [280.25±7.71 µM Trolox® Equivalent (TE)] > full-fat (240.30±15.71 µM TE) > skim (216.78±4.90 µM TE) > semi-fat (209.81±7.03 µM TE) milk samples. In general, total antioxidant capacity of milk samples determined by the Folin-Ciocalteu method increased with an increase in milk fat content. Antioxidant capacity of pasteurized milks determined by both methods was higher than UHT processed milks.

Keywords: Milk, Antioxidant, Phenolic compounds, Nutrition

Türkiye'de Satışa Sunulan UHT ve Pastörize İnek Sütü Örneklerinin Toplam Antioksidan Kapasitesi ve Fenolik Madde İçeriği

ÖZ

Bu çalışmada, Türkiye'deki pastörizasyon veya ultra yüksek sıcaklık (UHT) işlemi uygulanmış süt pazarının önemli bir bölümünü oluşturan farklı ticari markalardan UHT (17 tam yağlı, 17 yarı yağlı ve 5 yağsız olmak üzere toplam 39 numune) ve pastörize süt (5 tam yağlı) örnekleri ulusal market zincirlerinden toplanmıştır. Süt örneklerinin toplam antioksidan kapasiteleri ve fenolik içerikleri, sırasıyla 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazol-6-sülfonik asit (ABTS) ve Folin-Ciocalteu (FC) yöntemleriyle belirlenmiştir. Süt örneklerinin toplam fenolik içeriği 505.46±16.66 ile 982.14±168.42 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L arasında değişmiştir. ABTS yöntemiyle elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucunda örneklerin toplam antioksidan kapasitelerinin azalan sırayla pastörize (280.25±7.71 µM Trolox® eşdeğeri, TE) > tam yağlı (240.30±15.71 µM TE) > yağsız (216.78±4.90 µM TE) > yarı yağlı (209.81±7.03 µM TE) süt örnekleri şeklinde olduğu belirlenmiştir. Genel olarak, süt yağı içeriğinin artışı Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam antioksidan kapasite değerinin de artmasıyla sonuçlanmıştır. Her iki yöntemle belirlenen sütlerin antioksidan kapasite değerleri pastörize sütlerde UHT ile işlenmiş sütlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Süt, Antioksidan, Fenolik bileşikler, Beslenme

INTRODUCTION

An adequate daily intake of antioxidant compounds including phenolics is considered to be of great significance for controlling oxidative stress [1,2] and may be useful in the prevention of health problems like cardiovascular diseases and cancer and/or in the reduction of diseases like diabetes and neurodegenerative diseases (Parkinson's and Alzheimer's disease) [3]. Milk and dairy products are good sources of antioxidant compounds including proteins, enzymes, vitamins (vitamin E and C), phenolic compounds, carotenoids and organic acids [1, 2, 4-6]. Milk contains considerable amounts of phenolic compounds including a variety of compounds such as phenol, cresol, tyamol and carvacrol [7] and antioxidant activity of dairy products could be also increased by the incorporation of phenolic constituents to these products [8]. Phenolic compounds may play a significant role in microbiological and organoleptic properties of milk and are both functional and nutritive ingredients for human health [9]. Concentrations of antioxidant compounds in milk are usually affected by dairy cattle feeding and milk storage conditions [5]. Since there are a variety of antioxidant components in milk and dairy products, measurement of total antioxidant capacity may be a useful method for detecting the cumulative role of antioxidant components in milk [10].

Limited studies have been reported in the literature on antioxidant activity of milk and dairy products consumed and/or marketed in Turkey [11, 12]. Therefore, a comprehensive survey representing a major share of all commercial brands should be more helpful to present current status of the TAC and phenolic content of UHT-treated and pasteurized milk samples marketed in Turkey. The objective of this study is to determine the TAC and phenolic content of commercial UHT-treated and pasteurized milk samples in Turkey.

MATERIALS and METHODS

Materials

Commercial pasteurized (5 samples) and UHT milk samples (17 full-fat milk, 17 low-fat milk and 5 skim milk) produced by seventeen different companies in Turkey were purchased from national supermarkets. Selected trademarks of milk samples constitute a significant proportion of the Turkish pasteurized and UHT milk market.

Methods

Chemical Composition of Milk Samples

Total solids, milk fat, protein and lactose contents of milk samples were determined by the infrared spectrometric method [13], using a Bentley 150 instrument (Bentley Instruments Inc., Chaska, MN, USA).

ABTS Radical Scavenging Assay

Total antioxidant capacity of pasteurized and UHT milk samples was determined by ABTS method described by Re et al. [14] with slight modifications. Potassium persulfate (Merck, Darmstadt, Germany) (2.6 mM) was added into aqueous solution of ABTS (7 mM) (Merck, Darmstadt, Germany) to prepare the stock solution of ABTS radicals, and this mixture was stored at room temperature for 12–16 h in dark. Stock solution was diluted with chromatographic grade methanol (Sigma, St. Louis, MO, USA) to a final absorbance of about 1.1 ± 0.02 at 734 nm in order to prepare the working solution. Then, milk samples (0.3 mL) were mixed with working solution (2.7 mL). Mixtures were incubated at room temperature for 30 min, and then they were centrifuged at 12,000g for 2 min at room temperature. Decreases in absorbance values were measured at 734 nm against methanol as a blank by using a spectrophotometer (Optizen Pop, Mecasys Co., Ltd., Korea). Results were expressed as 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox[®]) (Fluka, St. Louis, MO, USA) equivalent (TE) antioxidant capacity (TEAC).

Total Phenolic Content Analysis

Total phenolic contents of milk samples were spectrophotometrically measured by Folin-Ciocalteu method according to Singleton and Rossi [15] using gallic acid (Fluka, St. Louis, MO, USA) as a standard. Folin-Ciocalteu reagent (Merck, Darmstadt, Germany) was diluted with pure water (1:10) to prepare working solution. Sample or standard (1 mL) was mixed with FC working solution (5 mL) and incubated for 3 min, then 4 mL of sodium carbonate (Sigma, St. Louis, MO, USA) (75 g/L) was added into this mixture. After incubation for 2 hours at room temperature in dark, samples were centrifuged for 2 min at 12.000 g. Absorbance values of samples were measured at 760 nm against to distilled water by using a spectrophotometer. Results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) per liter of milk samples.

Statistical Analyses

Analysis of variance (ANOVA) was used to determine statistically significant differences by means of the SAS software program (The SAS System for Windows 9.0, Chicago, USA). Separation of means for significant differences was conducted using the Duncan's multiple-range test at $\alpha=0.05$ level. PROC CORR procedure of SAS was used to determine the Pearson's correlation coefficients among parameters.

RESULTS and DISCUSSION

Approximate composition of UHT and pasteurized milk samples are presented in Table 1 while total antioxidant capacity of UHT-treated full-fat, low-fat and skim milk samples is given in Tables 2 and 3. Mean TEAC values of heat-treated commercial milk samples with different fat contents are given Figure 1. Differences in TEAC values among UHT-treated milk samples with different

fat contents were statistically significant ($p < 0.05$). TAC values of skim milk samples were higher than low-fat milk samples ($p < 0.05$). Similar results were also

obtained for total phenolic contents of milk samples (Tables 2 and 3).

Table 1. Approximate composition of UHT and pasteurized milk samples

Milk Samples*	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total Solids (%)	pH
FF1	3.11±0.00	3.22±0.01	4.51±0.02	11.59±0.04	6.68±0.00
FF2	3.32±0.00	3.00±0.01	4.50±0.01	11.63±0.00	6.73±0.00
FF3	3.28±0.01	2.90±0.01	4.51±0.01	11.52±0.00	6.75±0.00
FF4	3.29±0.00	2.97±0.00	4.61±0.01	11.66±0.01	6.68±0.00
FF5	3.15±0.00	3.20±0.00	4.55±0.01	11.72±0.01	6.72±0.00
FF6	3.30±0.00	3.02±0.01	4.58±0.01	11.71±0.01	6.77±0.00
FF7	3.61±0.01	3.16±0.00	4.66±0.01	12.25±0.00	6.74±0.00
FF8	3.14±0.00	3.16±0.00	4.58±0.00	11.69±0.01	6.68±0.00
FF9	3.25±0.01	3.07±0.01	4.52±0.01	11.62±0.01	6.73±0.00
FF10	3.70±0.01	3.23±0.00	4.63±0.01	12.33±0.01	6.69±0.00
FF11	3.19±0.00	2.99±0.01	4.55±0.01	11.54±0.01	6.72±0.00
FF12	3.39±0.01	3.25±0.01	4.77±0.01	12.22±0.00	6.74±0.00
FF13	3.23±0.00	3.10±0.00	4.73±0.01	11.88±0.03	6.81±0.00
FF14	3.17±0.01	2.94±0.01	4.03±0.00	10.94±0.02	6.57±0.00
FF15	3.77±0.01	3.06±0.01	4.55±0.01	12.17±0.01	6.50±0.00
FF16	3.56±0.00	2.76±0.00	4.09±0.01	11.18±0.02	6.46±0.00
FF17	3.49±0.01	3.20±0.01	4.85±0.00	12.37±0.02	6.41±0.01
LF1	1.47±0.02	2.61±0.04	4.27±0.06	9.22±0.12	6.41±0.01
LF2	1.95±0.01	2.98±0.00	4.59±0.00	10.36±0.02	6.44±0.00
LF3	1.79±0.00	3.16±0.01	4.69±0.01	10.48±0.00	6.38±0.00
LF4	1.59±0.00	3.02±0.01	4.64±0.01	10.12±0.02	6.42±0.00
LF5	1.77±0.01	3.01±0.01	4.58±0.01	10.21±0.00	6.44±0.01
LF6	1.94±0.00	2.90±0.00	4.36±0.01	10.04±0.01	6.48±0.01
LF7	1.79±0.00	2.81±0.01	4.49±0.01	9.94±0.01	6.47±0.00
LF8	1.79±0.00	2.79±0.00	4.50±0.01	9.94±0.01	6.46±0.00
LF9	1.88±0.01	2.93±0.01	4.42±0.01	10.07±0.00	6.48±0.00
LF10	1.95±0.00	2.78±0.01	5.67±0.01	11.48±0.01	6.49±0.00
LF11	1.82±0.01	2.72±0.01	4.62±0.01	10.03±0.02	6.45±0.00
LF12	1.74±0.01	3.23±0.01	4.89±0.00	10.76±0.01	6.49±0.00
LF13	2.18±0.02	3.06±0.01	4.66±0.01	10.73±0.01	6.45±0.00
LF14	1.74±0.01	3.39±0.01	5.03±0.00	11.04±0.02	6.43±0.01
LF15	1.74±0.01	3.04±0.01	4.70±0.01	10.33±0.01	6.44±0.00
LF16	1.57±0.00	3.30±0.01	4.85±0.01	10.57±0.02	6.48±0.00
LF17	1.63±0.00	3.11±0.01	4.81±0.00	10.42±0.02	6.47±0.00
SM1	0.29±0.00	3.11±0.01	4.69±0.01	8.93±0.01	6.42±0.01
SM2	0.12±0.00	3.25±0.01	4.86±0.01	9.11±0.01	6.46±0.01
SM3	0.12±0.01	3.10±0.01	4.64±0.01	8.70±0.01	6.40±0.00
SM4	0.15±0.00	3.09±0.01	4.96±0.01	9.10±0.01	6.50±0.00
SM5	0.12±0.00	3.17±0.00	4.91±0.01	9.08±0.01	6.46±0.00
PM1	3.23±0.01	3.01±0.01	4.65±0.04	11.74±0.06	6.67±0.00
PM2	3.45±0.01	3.15±0.00	4.76±0.02	12.19±0.01	6.61±0.00
PM3	3.29±0.00	3.01±0.01	4.86±0.01	12.00±0.01	6.62±0.00
PM4	3.24±0.01	3.25±0.01	4.84±0.00	12.13±0.01	6.58±0.00
PM5	3.17±0.01	3.08±0.01	4.73±0.00	11.86±0.01	6.59±0.00

*: FF: UHT-treated full-fat milk, LF: UHT-treated low-fat milk, SM: UHT-treated skim milk, PM: full-fat pasteurized (HTST) milk samples.

TAC values of commercial full-fat pasteurized milk samples are given Table 3. Differences in TEAC values among pasteurized and UHT-treated milk samples with different fat contents were statistically significant ($p < 0.05$). Commercial full-fat pasteurized milk samples had higher mean TEAC values than UHT-treated milk samples (Figure 1).

For UHT-treated milk samples, TEAC values and total phenolic contents were highly correlated with total solid

content of commercial milk samples with a Pearson's correlation coefficient (R) of 0.584 and 0.761, respectively ($p < 0.0001$) (Table 4). Moreover, correlation of TEAC values with total phenolic contents of these milk samples with a coefficient of 0.936 was also significant ($p < 0.0001$). On the other hand, correlation of TAC values or total phenolic contents with fat, protein or lactose contents of commercial UHT-treated milk samples was insignificant ($p > 0.01$).

Table 2. Total antioxidant capacity of full-fat (FF) and low-fat (LF) UHT-treated milk samples (\pm standard deviation, SD)

Sample Code*	Assay		Sample Code	Assay	
	ABTS (μ M TEAC)	FC (mg GAE/L)		ABTS (μ M TEAC)	FC (mg GAE/L)
FF1	236.60 \pm 1.83	983.61 \pm 3.16	LF1	199.27 \pm 1.99	446.79 \pm 59.56
FF2	245.21 \pm 0.49	1021.40 \pm 4.22	LF2	205.38 \pm 0.59	534.41 \pm 16.22
FF3	242.48 \pm 2.00	1035.33 \pm 7.68	LF3	212.92 \pm 1.69	516.24 \pm 55.00
FF4	249.51 \pm 0.19	1064.06 \pm 38.68	LF4	215.44 \pm 1.72	492.83 \pm 31.90
FF5	245.18 \pm 0.33	1072.47 \pm 19.87	LF5	212.44 \pm 4.75	552.71 \pm 22.76
FF6	249.26 \pm 0.25	1155.26 \pm 7.83	LF6	210.68 \pm 2.12	529.37 \pm 14.73
FF7	248.10 \pm 0.40	990.43 \pm 1.35	LF7	211.90 \pm 0.67	522.10 \pm 14.31
FF8	243.97 \pm 1.68	1035.33 \pm 24.84	LF8	209.48 \pm 1.16	488.57 \pm 28.27
FF9	247.73 \pm 1.20	1062.25 \pm 16.26	LF9	208.20 \pm 1.59	467.06 \pm 28.33
FF10	246.31 \pm 0.09	1037.88 \pm 29.34	LF10	205.04 \pm 4.90	510.15 \pm 32.25
FF11	243.64 \pm 1.93	1088.10 \pm 32.36	LF11	200.12 \pm 1.11	452.84 \pm 4.31
FF12	242.71 \pm 0.40	1037.67 \pm 20.91	LF12	220.37 \pm 1.72	537.10 \pm 11.37
FF13	248.76 \pm 0.25	1031.72 \pm 0.76	LF13	206.27 \pm 4.17	514.99 \pm 18.99
FF14	266.86 \pm 0.43	1146.21 \pm 24.17	LF14	212.10 \pm 3.00	589.47 \pm 24.17
FF15	211.28 \pm 5.08	624.87 \pm 46.62	LF15	199.33 \pm 1.84	538.19 \pm 13.81
FF16	205.56 \pm 0.22	574.81 \pm 6.91	LF16	213.79 \pm 1.97	528.42 \pm 0.00
FF17	211.85 \pm 1.25	734.76 \pm 88.06	LF17	224.04 \pm 1.74	536.97 \pm 29.35
Mean \pm SD	240.30 \pm 1.06	982.14 \pm 21.94	Mean \pm SD	209.81 \pm 2.16	515.19 \pm 23.84

*: FF: UHT-treated full-fat milk, LF: UHT-treated low-fat milk

Table 3. Total antioxidant capacity of UHT-treated skim milk (SM) and full-fat pasteurized (HTST) (PM) milk samples (\pm SD)

Sample*	ABTS (μ M TEAC)	FC (mg GAE/L)	Sample*	ABTS (μ M TEAC)	FC (mg GAE/L)
SM1	216.78 \pm 0.24	506.44 \pm 3.45	PM1	270.39 \pm 1.74	1138.88 \pm 89.79
SM2	224.84 \pm 3.13	489.35 \pm 10.36	PM2	285.86 \pm 1.20	1469.76 \pm 70.79
SM3	215.80 \pm 0.00	527.20 \pm 5.18	PM3	278.92 \pm 0.03	1289.06 \pm 18.99
SM4	214.08 \pm 0.31	501.56 \pm 27.63	PM4	290.45 \pm 4.45	1401.38 \pm 88.06
SM5	212.38 \pm 4.47	502.78 \pm 8.63	PM5	275.69 \pm 0.06	1168.19 \pm 82.88
Mean \pm SD	216.78 \pm 4.81	505.47 \pm 13.74	Mean \pm SD	280.26 \pm 1.50	1293.50 \pm 70.10

*: SM: UHT-treated skim milk, PM: full-fat pasteurized (HTST) milk samples.

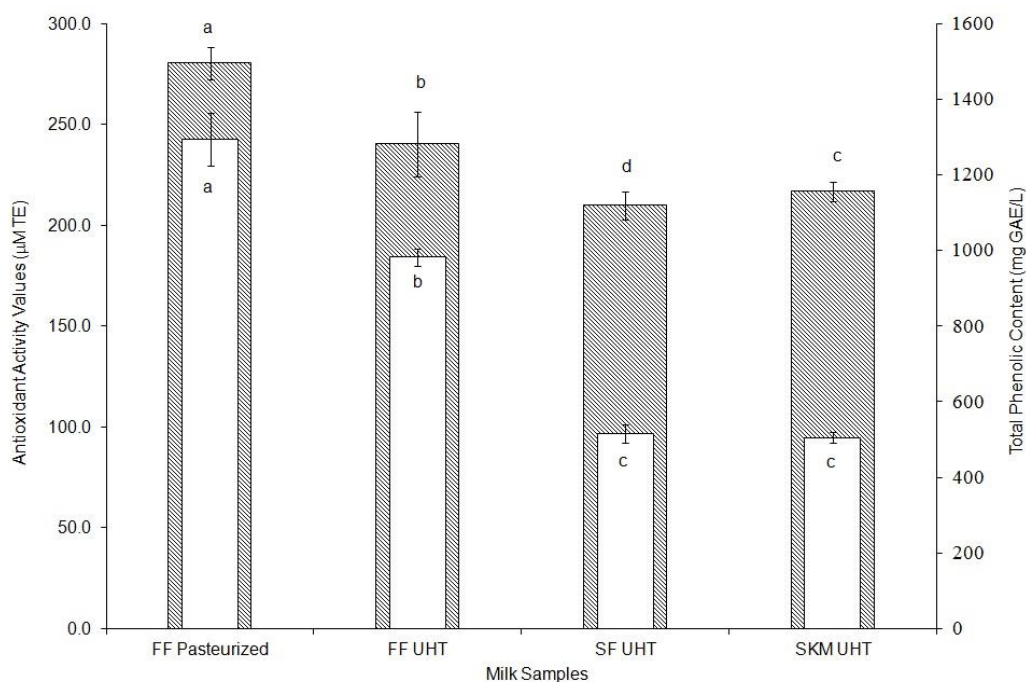


Figure 1. Changes in TEAC values (▨) and total phenolic contents (□) of milk samples depending on their fat contents and commercial heat treatments (FF: full-fat, LF: low-fat, SM: skim milk)

Table 4. Pearson correlation coefficients (R) among fat, protein, lactose, total solids contents, antioxidant activity and total phenolic contents of milks (n=39). Lower values in parentheses (p values) indicate that parameters are highly correlated with each other. Coefficients that are significantly different from zero are shown in bold.

Parameters	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total Solids (%)	ABTS ($\mu\text{M TE}$)	Total Phenolics (mg GAE/L)
Fat (%)	1.000	-0.018 (0.9133)	-0.338 (0.0351)	0.935 (<0.0001)	0.584 (<0.0001)	0.761 (<0.0001)
Protein (%)		1.000	0.371 (0.0199)	0.229 (0.1610)	0.296 (0.0675)	0.217 (0.1852)
Lactose (%)			1.000	-0.005 (0.9762)	-0.229 (0.1617)	-0.254 (0.1181)
Total Solids (%)				1.000	0.580 (0.0001)	0.743 (<0.0001)
ABTS ($\mu\text{M TE}$)					1.000	0.936 (<0.0001)
Total Phenolics (mg GAE/L)						1.000

According to the Turkish Food Codex (TFC) Notification on Raw and Heat Treated Milks [16], fat content (w/v) of heat treated whole milk, full-fat, semi-fat and skim milks should be $\geq 3.5\%$, $\geq 3\%$, $\geq 1.5\%$ and $\leq 0.15\%$, respectively. Two samples (FF7 and FF15) from full-fat UHT group had more than 3.5% fat content, and these samples should be classified as whole milk (Table 1). A sample of UHT-treated skim milk (SKM1) had a fat content of 0.29%, which is higher than the permitted value of $\leq 0.15\%$. In the TFC Notification, minimum protein content of milks should be 2.8% (m/v). Only two low-fat UHT milk samples (LF1 and LF11) had slightly lower protein contents (2.61 ± 0.04 and $2.72 \pm 0.01\%$) than 2.8%. In general, protein and fat contents of 39 milk samples were in good agreement with the TFC with an exception of 5 UHT-treated milk samples.

Higher TEAC values of full-fat UHT-treated milk samples than UHT-treated low-fat and skim milk samples might be related to lipid soluble antioxidants such as vitamin A and E and β -carotene and fat globule membrane proteins [2,5]. TEAC values and total phenolic contents of skim milk samples were higher than low-fat milk samples, and the fact that milk samples were of commercial type, and variations in raw material composition (e.g. different protein and lipid soluble antioxidant contents) and unequal number of analyzed samples (i.e. 17 low-fat versus 5 skim milk samples) could be responsible for this contradictory result. Unlike the results of this present study, correlation between fat content and antioxidant capacity of milk samples was reported by Chen et al. [17] and Zulueta et al. [2]. Studying the antioxidant capacities of milk samples by the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) method, Zulueta et al. [2] reported the ORAC values of whole, low-fat and skimmed milk samples as 14.044, 13.104 and 12.697 mM TE, respectively. Similarly, TEAC values of milk samples with 3, 1.5, 0.5 and 0.1% fat contents were reported as 2.241, 1.852, 1.561 and 1.246 mM TE by Chen et al. [17]. In these studies, milk samples with different fat contents were obtained from the same batch of raw milk in order to avoid matrix variations. The results of this present study, on the contrary, better reflect the current antioxidant status of commercially available heat-treated UHT milk samples.

Heat treatment, generally required for milk safety and stability, can be responsible for quality changes in milks like their antioxidant properties. Calligaris et al. [18] reported that overall antioxidant properties of milk can be changed by heat treatments with different time-temperature combinations. They also reported that antioxidant activity of milk may increase during thermal treatments, due to exposure of thiol groups, which are potentially acting as hydrogen donors, and the formation of Maillard reaction products. This present study is focused on the determination of current antioxidant statuses of commercial milk samples, and matrix differences, differences in several processing parameters like heat treatment conditions and the number of available samples could be responsible for this contradictory result. Moreover, although antioxidant activity of milk samples has been previously reported in several studies [2,12,17,19-21], results of these studies are scarcely comparable with each other because of a wide range of assays [22] and variations in a single assay [23] for determining antioxidant activity of foods.

CONCLUSIONS

Results of this study indicated that TACs of commercial milk samples are highly variable depending on the fat content of milk and heat treatment used in processing. Mean TAC values of full-fat milk samples were higher than those of skim or low-fat UHT-treated milk samples. In this study, the number of available pasteurized full-fat milk samples marketed in Turkey was lower than the number of UHT-treated full-fat milk samples, and mean TAC values of pasteurized milk samples were higher than those of UHT-treated full-fat milk samples. In conclusion, total antioxidant capacity and total phenolic content of commercial milk samples may be influenced by thermal process and fat separation.

REFERENCES

- [1] Pravst, I., Zmitek, K., Zmitek, J., 2010. Coenzyme Q10 contents in foods and fortification strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50: 269-80.

- [2] Zulueta, A., Maurizi, A., Frigola, A., Esteve, M.J., Coli, R., Burini, G., 2009. Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *International Dairy Journal* 19: 380-385.
- [3] Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, R.D., 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52: 794-804.
- [4] Cervato, G., Cazzola, R., Cestaro, B., 1999. Studies on the antioxidant activity of caseins. *International Journal of Food Science and Nutrition* 50: 291-296.
- [5] Lindmark-Mansson, H., Akesson, B., 2000. Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition* 84(1): 103-110.
- [6] Vázquez, C.V., Rojas, M.G.V., Ramirez, C.A., Chavez-Servin, J.L., Garcia-Gasca, T., Martinez, R.A.F., Garcia, O.P., Rosado, J.L., Lopez-Sabater, C.M., Castellote, A.I., Montemayor, H.M.A., Carbot, K.T., 2015. Total phenolic compounds in milk from different species: design of an extraction technique for quantification using the Folin-Ciocalteu method. *Food Chemistry* 176: 480-486.
- [7] Lopez, V., Lindsay, R.C., 1993. Metabolic conjugates as precursors for characterizing flavor compounds in ruminant milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 446-454.
- [8] Topdaş, E.F., Çakmakçı, S., Çakıroğlu, K., 2017. The antioxidant activity, vitamin c contents, physical, chemical and sensory properties of ice cream supplemented with cornelian cherry (*Cornus mas* L.) paste. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 23(5): 691-697.
- [9] O'Connell, J.E., Fox, P.F., 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal* 11: 103-120.
- [10] Gjorgievski, N., Tomovska, J., Dimitrovska, G., Makarijoski, B., Shariati, M.A., 2014. Determination of the antioxidant activity in yogurt. *Journal of Hygienic Engineering and Design* 8: 88-92.
- [11] Sönmez, C., Ertaş, G., Duygu-Okur, Ö., Güzel-Seydim, Z., 2010. UHT sütlerin bazı kalite kriterlerinin ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Akademik Gıda* 8(1): 13-16.
- [12] Unal, G., 2012. Antioxidant activity of commercial dairy products. *Agro Food Industry Hi-Tech* 23: 39-42.
- [13] ISO, 2013. International Standard Organization: Standard ISO 9622:2013 (IDF 141:2013), ISO Central Secretariat, Geneva Switzerland.
- [14] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26: 1231-1237.
- [15] Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- [16] Turkish Food Codex, 2000. Notification on Raw and Heat Treated Milks, Notification No: 2000/6, Official Bulletin, Issue: 23964.
- [17] Chen, J., Lindmark-Mansson, H., Gorton, L., Akesson, B., 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *International Dairy Journal* 13: 927-935.
- [18] Calligaris, S., Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M.C., 2003. Effect of heat-treatment on the antioxidant and pro-oxidant activity of milk. *International Dairy Journal* 14: 421-427.
- [19] Sreeramulu, D., Raghunath, M., 2011. Antioxidant and phenolic content of nuts, oil seeds, milk and milk products commonly consumed in India. *Food and Nutrition Science* 2: 422-427.
- [20] Kuhnen, S., Moacyr, J.R., Mayer, J.K., Navarro, B.B., Trevisan, R., Honorato, L.A., Maraschin, M., Filho, L.C.P.M., 2014. Phenolic content and ferric reducing-antioxidant power of cow's milk produced in different pasture-based production systems in southern Brazil. *Journal of Science of Food and Agriculture* 94: 3110-3117.
- [21] Simos, Y., Metsios, A., Verginadis, I., D'Alessandro, A.G., Louidice, P., Jirillo, E., Charalampidis, P., Kouimanis, V., Boulaka, A., Martemucci, G., Karkabounas, S., 2011. Antioxidant and anti-platelet properties of milk from goat, donkey and cow: An *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* study. *International Dairy Journal* 21: 901-906.
- [22] Shahidi, F., Zhong, Y., 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* 18: 757-781.
- [23] Sharma, P., Singh, R.P., 2013. Evaluation of antioxidant activity in foods with special reference to TEAC method. *American Journal of Food Technology* 8(2): 83-101.

Effects of Extraction Solvents on Polyphenol Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Pomegranate Parts

Meltem Türkyılmaz¹, Şeref Tağı², Mehmet Özkan²

¹Institute of Food Safety, Ankara University, Diskapi, 06110 Ankara, Turkey

²Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Ankara University, Diskapi 06110 Ankara, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 14.05.2015, Accepted (Kabul Tarihi): 10.07.2015

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): mturkyilmaz@ankara.edu.tr (M. Türkyılmaz)

☎ +90 312 596 10 81 📠 +90 312 316 12 80

ABSTRACT

Polyphenols in rinds, membranes and seeds of pomegranates were extracted with acetone, acetone:water (70:30, v:v), methanol, ethanol and water for 12 h at 4°C. Gallic acid, punicalin, α -punicalagin, β -punicalagin and ellagic acid derivatives (EAD) were identified in rind and membrane, while only EAD were identified in seed by HPLC. The rind and membrane contained exceptionally high amounts of polyphenols. Strong correlations were found between antioxidant activity (AOA) and total polyphenol content (TPC) for the extracts of rind ($r=0.967$), membrane ($r=0.976$) and seed ($r=0.972$). Moreover, the highest TPC and AOA were determined in acetone:water (70:30, v:v) extracts. Punicalagins at high amounts in the pomegranate rind and membrane provided the highest AOA and antibacterial activity (ABA). The extracts of rind and membrane showed ABA against *Bacillus megaterium* and *Staphylococcus aureus*. Water extracts of rind and membrane may be used as a food additive and preservative due to their high AOA and ABA.

Keywords: Pomegranate rind, Membrane, Seed, Antioxidant activity, Antibacterial activity

Narın Farklı Bölümlerinin Polifenol İçeriği, Antioksidan ve Antibakteriyel Aktivitesi Üzerine Ekstraksiyon Çözgenlerinin Etkisi

ÖZ

Nar kabuğu, dilim zarı ve çekirdeklerinde bulunan polifenoller; aseton, aseton:su (70:30, v:v), metanol, etanol ve su ile 4°C'de 24 saat süresince ekstrakte edilmiştir. Nar kabuğu ve dilim zarında; gallik asit, punikalın, α -punikalajin, β -punikalajin ve ellajik asit türevleri HPLC ile tanımlanırken, çekirdekte sadece elajik asit türevleri tanımlanmıştır. Nar kabuğu ve dilim zarının çok yüksek miktarda polifenol içerdiği belirlenmiştir. Nar kabuğu ($r=0.967$), dilim zarı ($r=0.976$) ve çekirdeklerden ($r=0.972$) elde edilen ekstraktların toplam polifenol miktarı ve antioksidan aktiviteleri arasında güçlü korelasyonlar bulunmuştur. Ayrıca, en yüksek toplam polifenol madde miktarı ve antioksidan aktivite aseton:su (70:30, v:v) çözültüsüyle elde edilmiştir. Nar kabuğu ve dilim zarının yüksek antioksidan ve antibakteriyel aktivitesi punikalajinlerden kaynaklanmaktadır. Nar kabuğu ve dilim zarı *Bacillus megaterium* and *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Yüksek antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle, nar kabuğu ve dilim zarının sulu ekstraktları gıda katkısı ve koruyucusu olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Nar kabuğu, Dilim zarı, Çekirdek, Antioksidan aktivite, Antibakteriyel aktivite

INTRODUCTION

There was an intense interest in pomegranate products because of their nutritional and health benefits, including reduced oxidative stress, atherogenic modifications to LDL [1], as well as anticancer, antibacterial, and antiviral activities [2]. Due to high demand, the production of pomegranates was increased by 74% during the last four years in Turkey [3]. In 2010, 22% of the pomegranates produced in Turkey (78 700 metric tons) were processed into juice [4]. Among over 100 local and registered pomegranate varieties grown in Turkey, Hicaznar variety investigated in the present study is the mostly preferred pomegranate variety by the Turkish fruit juice industry. The juice yield of pomegranates ranges from 35 to 50%, depending on the processing method used. Considering the yield values, the amount of pomegranate marc created in 2010 was very high (about 53 000–57 000 metric tons). The marc contains about 78% rind and 22% seeds based on wet weight [5]. The studies showed that pomegranate rind and seed had high polyphenol contents and thus showing high antioxidant and antimicrobial activities (AMA) [2, 5, 6].

Due to high polyphenol contents, thus AOA and AMA, instead of using as animal feeds, the marc could also be used as the source of food preservative and additive. To use the marc as the source of food preservatives and additives, the most important step is to find the appropriate extraction method. Since the polarities of phenolic compounds which contain multiple hydroxyl group that can be conjugated to sugars, acids or alkyl groups vary significantly, to date, a single method for optimum extraction of all polyphenols could not have been developed [7]. Currently, the methods used for polyphenol extraction are solid-liquid extraction, liquid-liquid extraction, supercritical fluid extraction, pressurized liquid extraction, microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction [7]. Among all these extraction methods, the most widely used one is the solid-liquid extraction for solid samples [4]. The solvents such as methanol, ethanol, propanol, acetone, ethyl acetate, and their combinations with each other and water have been used to extract the polyphenols from plant materials [7].

The selection of appropriate solvent is very important to make an effective extraction of polyphenols from plant material. For example, methanol provided more effective extraction of total polyphenols (39 mg gallic acid/g dry weight) and flavonoids (7 mg quercetin/g dry weight) from ginger leaves (*Zingiber officinale Roscoe*) than acetone (35 mg gallic acid/g dry weight, 6 mg quercetin/g dry weight, respectively) and chloroform (34 mg gallic acid/g dry weight, 6 mg quercetin/g dry weight, respectively) extracts [8]. Addition to total polyphenol content, extraction solvent also affects the profile of polyphenol extracted from plant material. In a research conducted by Wu and Prior [9], 9 polyphenols from beans (*Phaseolus vulgaris L.*) were extracted with methanol, while Espinosa-Alonso et al. [10] extracted 17 polyphenols with aqueous methanol (methanol:water, 80:20, v:v) in the same material.

To date, TPCs, AOAs and AMAs of rinds and seeds of some pomegranate varieties (Poost Syah variety [6], Wonderful variety [11], Asinar, Lefan, Katirbasi, and Cekirdeksiz-IV [12]) were investigated. However, the effects of extraction solvents on these compounds and properties in rind, membrane and seed of Hicaznar variety have not been investigated, although the highest amount of pomegranate marc is obtained from this variety in Turkey. As known, antioxidative and antibacterial activities of plants including pomegranates varied with variety and depended on the profile and content of polyphenols. Therefore, the most suitable solvent for the extraction of polyphenols from pomegranate varieties should also be determined.

The main objective of the present study was to determine the effects of five different extraction solvents [methanol, ethanol, acetone, water and aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v)] on TPCs, AOA and ABA in the parts (rinds, membranes and seeds) of Hicaznar pomegranate variety and to compare TPCs, AOA and ABA values of the pomegranate parts. Moreover, the correlations between TPCs and AOA were also determined.

MATERIALS and METHODS

Chemicals and Reagents

Standards of gallic acid and punicalagin were purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA). Standard of punicalin was purchased from Biopurify Phytochemicals Ltd. (Sichuan, China). Standard of ellagic acid was purchased from Fluka (Seelze, Germany). In all analyses, the ultra pure water was used (Millipore Simplicity UV, Molsheim, France). The reagents used for liquid chromatography were HPLC grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany). All other reagents were analytical grade and obtained from Merck.

Sampling

Pomegranates (*Punica granatum L. var. Hicaznar*) were obtained from Alata Horticultural Research Institute (Erdemli, Mersin). Hicaznar variety is native to Turkey and highly cultivated in Mediterranean region. Rinds, membranes and seeds of the pomegranates were manually separated.

Preparation of Samples to Analyses

The rind, membrane and seed samples were first frozen at -25°C (Caravell 614-107, Viborg, Denmark). Then, the rinds and membranes were cut into cubes and finally all of the pomegranate parts were frozen again in an ultra-cold freezer at -86°C (Hettich AG HS 4486, Tuttlingen, Germany). The frozen cubic samples were lyophilized at -55°C and 0.021 mbar for 3 days (Labconco FreeZone6L, Kansas City, MO, USA) and then powdered in a porcelain mortar using a pestle. To minimize light damage, the powdered samples were

transferred to amber colored vials. All analyses were carried out with these powdered samples.

Extraction

Methanol, ethanol, acetone, water and aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v) were used as extraction solvents to determine the effects of different solvents on polyphenols, AOA and AMA in the samples. One gram (± 0.01 g) of powdered samples was mixed with 40 mL of each extraction solvent and the mixtures were kept at 4°C for 12 h. Then, they were sonicated using an ultrasonic bath (Bandelin Sonorex, Berlin, Germany) at 20°C for 15 min. The resulting extract was filtered on a Buchner funnel using Whatman No. 1 filter paper. The filter cake was also extracted with 15 mL of each extraction solvent. After the filtrates were combined, they were transferred to a rotary evaporator (Heidolph Laborota 4003, Schwabach, Germany) to remove residual extraction solvent at 40°C. The extract was dissolved in purified water (containing 0.01% HCl, v:v) and the final volume was brought to 10 mL with purified water. The resulting extract was filtered through a 0.45 μ m PVDF (polyvinylidene fluoride) filter (Millipore, Bedford, MA, U.S.A.) directly to an amber colored bottle. Two extracts were prepared from each sample.

Total Polyphenol Contents (TPCs)

Total polyphenol content of the samples was determined by the Folin-Ciocalteu method. Gallic acid was used as a standard for the preparation of calibration curve. 1 mL of 1:10 dilutions of the rind and membrane extracts, and 1 mL of seed extracts were added to 75 mL purified water in 100 mL volumetric flask. Then, 5 mL of Folin-Ciocalteu reagent was added to the mixture which was held at room temperature for 3 min. After the addition of 10 mL of saturated Na_2CO_3 solution to the volumetric flask, the absorbance values were determined at 720 nm at the end of 60 min incubation. Results were calculated and expressed as "milligrams of gallic acid equivalent per kg dry matter (dm)." Total polyphenol measurements were replicated two times.

HPLC Separation of Polyphenols

Polyphenol purification: The prepared extracts of pomegranate parts were purified on a C-18 cartridge (Waters Co., Milford, MA, U.S.A) using a vacuum manifold system (Waters Co.). Prior to sample load, the cartridge was activated with 5 mL ethyl-acetate followed by 5 mL methanol (containing 0.01% HCl, v/v) and 2 mL aqueous 0.01% HCl (v/v). Upon loading of 1 mL extract, the cartridge was washed with 2 mL aqueous 0.01% HCl to remove the compounds not adsorbed by the column such as sugars and organic acids. The cartridge was then dried under a stream of nitrogen for 10 min. Polyphenols were removed from the cartridge by rinsing with 5 mL ethyl-acetate. The extract containing polyphenols was then evaporated to dryness under a stream of nitrogen at 40°C (Caliper TurboVap LV, Hopkinton, MA, U.S.A.). The residue containing polyphenols was dissolved in aqueous 0.01% HCl. The resulting extract was filtered through a 0.45 μ m PVDF

filter (Sartorius AG, Goettingen, Germany) directly to an amber colored auto sampler vial, and the filtered extract was immediately injected to HPLC without further delay.

Instrumentation and chromatography: Polyphenols were determined using HPLC (Agilent 1200 series, Waldbronn, Germany) with a binary pump, a photo diode array (PDA) detector, a thermostatted auto sampler, a degasser and a thermostatted column compartment. Chromatographic data were recorded and processed on an Agilent 1200 series ChemStation rev.B.02.01 software. Polyphenols were separated on a C₁₈ (5 μ m) column (250x4.6 mm) (Phenomenex Inc., Los Angeles, CA, U.S.A.) with a C₁₈ (5 μ m) guard column (4x3 mm, 5 μ m) (Phenomenex Inc.). The mobile phase consisted of acetonitrile (100%, eluent A) and formic acid (1%, eluent B).

Separation was performed with gradient elution. The linear gradient program for the separation of polyphenols from the samples was as follows: from 97.5% to 75% B in 45 min, from 75% to 50% B in 5 min, from 50% to 0% B in 5 min, holding at 0% B isocratic for 13 min and from 0% to 97.5% B in 2 min. The sample injection volume was 100 μ L and the column temperature was set at 25°C. Monitoring was performed at 280 nm at a flow rate of 0.7 mL/min. Gallic acid, punicalin, punicalagins and ellagic acid derivatives (EAD) in samples were identified by comparing absorption spectra and retention time of unknown peaks with external reference standard by HPLC. Quantification of the polyphenols was carried out using calibration curves of the following external reference standards; punicalin ($R^2 = 0.998$), α -punicalagin ($R^2 = 0.999$), β -punicalagin ($R^2 = 0.999$) and ellagic acid ($R^2 = 0.999$). The calibration curves for each polyphenol standard contained 6 data points. The quantification of total polyphenols was based on gallic acid.

Antioxidant Activity (AOA)

AOA was measured according to ABTS method described by Miller & Rice-Evans [13]. ABTS, a chromogen and a colorless substance, is changed into its colored monocationic radical form ($\text{ABTS}^{\cdot+}$) by an oxidative agent. The absorption peak of $\text{ABTS}^{\cdot+}$ is at 734 nm. The addition of antioxidants, such as Trolox which is a water soluble analog of vitamin E, reduces $\text{ABTS}^{\cdot+}$ into its colorless form. The extent of decolorization as percent inhibition of $\text{ABTS}^{\cdot+}$ was determined as a function of concentration. AOA was expressed as "mM of Trolox equivalents per g dm."

Antibacterial Activity (ABA)

Preparation of samples: Before ABA analysis, the samples were sterilized by passing the samples from 0.45- μ m sterile filter (Millipore, Bedford, MA, U.S.A.). Purified water (containing 0.01% HCl, v:v) was used as a control in the determination of ABA.

Test microorganisms: ABA of pomegranate parts was tested against Gram-positive bacteria [*Bacillus*

megaterium, (*B. megaterium*) (Ankara University, Food Engineering Department's culture collection), *Staphylococcus aureus*, Cowan strain (*S. aureus*) and Gram-negative bacteria [*E. coli* O157:H7 (Ministry of Health National culture collection, RSKK 232)] strains.

Preparation of bacterial inoculum: All the bacterial strains were frozen-preserved in 20% (w/v) glycerol for long term storage. They were also preserved at 4°C on an agar slant in a capped tube as stock culture. Tryptic soy broth (TSB) (Merck Co.) was used to activate each bacterium strain and determine the ABA. Bacteria culture from agar slant was inoculated into 10 mL of TSB medium by using an inoculating loop with a diameter of 2 mm. After incubation at 35°C for 20 h, a second bacterial passage was prepared from TSB culture by inoculating bacterial culture in 10 mL of TSB by a loop and incubated at 35°C for 20 h. A 0.5 mL of the second bacterial passage was diluted in 2 mL of sterile physiological saline (SS, 0.85% NaCl, w/v) and then 80 µL of the dilution was inoculated into 4 mL of TSB medium. That was incubated at 35°C until the cell culture turbidity reached to 0.2 OD (optical density) at 600 nm by spectrophotometer (Spectronic 20, Bausch and Lomb, Germany). Before ABA test, the culture was diluted (1:10, v:v) with SS and the bacterial suspension was used as a standardized inoculum (1×10^8 CFU/mL). Total bacteria count in the standard inoculum was determined from appropriate dilutions by the spread plate technique on TSA agar which was incubated for 37°C for 24–48 h.

Agar well diffusion method: The extracts were subjected to antimicrobial assay using agar well-diffusion method [14]. A 250 µL of standardized bacterial inoculum was added to 25 mL TSA, cooled to 42°–45°C, and mixed gently, and then the mixture was poured into a sterile 12-mm diameter petri plate. After the solidification of the medium, a cork borer with a diameter of 9.0 mm was flame sterilized and used to make six uniform cups/wells in each plate. The cups/wells were filled with 100 µL of extracts and the plates were incubated at 35°C for 18–20 h. The zones of inhibition seen as full clear zone around each well were measured with a caliper in "mm." The experiment was carried out in triplicates.

Statistical Analyses

The results were analyzed using the Minitab statistical software, version 14 (Minitab Inc., State College, PA, U.S.A.). Different extraction solvents and pomegranate parts were considered as the main effects. Statistical differences among means were determined by the Duncan's multiple range test at the 5% significance level.

RESULTS and DISCUSSION

Polyphenol Profiles and TPCs of Rind, Membrane and Seed Extracts

Significant differences in the polyphenol profiles of pomegranate parts were found (Figure 1).

Gallic acid, punicalin, α -punicalagin, β -punicalagin and ellagic acid derivatives (EAD) were identified in rind and membrane, while only EAD were identified in seed (Figure 1). Similarly, Wang et al. [15] also identified the derivatives of ellagic acid such as 3,3'-di-O-methylellagic acid and 4,4'-di-O-methylellagic acid in pomegranate seed. Similar to our findings, the pomegranate rinds were characterized by the presence of hydrolysable tannins (e.g. punicalagin, punicalin [16]), phenolic acids (gallic acid [16], ellagic acid [15]), flavonoids (e.g. catechin, epicatechin, kaempferol, luteolin, rutin, quercetin and naringin [17]) and the absence of typical pomegranate anthocyanins [16]. β -Punicalagin was the major polyphenol in rind (274–296 g/kg dm) and membrane (265–301 g/kg dm). Although α -punicalagin and β -punicalagin contents in rind and membrane were close, rind (108–130 g/kg dm) had higher EAD contents than membrane (72–103 g/kg dm). Among pomegranate parts, seed had the lowest EAD content (1.98–2.20 g/kg dm).

TPCs of pomegranate rind, membrane and seed were determined by both HPLC and spectrophotometer to compare TPCs of these parts, and the results were presented in Figure 2. As shown in Figure 2, TPCs determined by spectrophotometer were lower than those by HPLC. However, there was strong correlation ($r=0.834$) between TPCs determined by HPLC and spectrophotometer. Among pomegranate parts, pomegranate rind (120–152 g/kg dm) had the highest TPC, followed by membrane (102–129 g/kg dm) and seed (0.430–0.582 g/kg dm), respectively (Figure 2).

These results are in an agreement with the previous studies [12, 18] showing that pomegranate seed extracts had the lowest TPC in comparison with juice, pulp, aril, membrane, rind leaf and flower. The low content of polyphenols extracted from seed may also be attributed to the low extraction yield of its polyphenols. The yield of polyphenol extraction from seed (2%) was lower than that from rind (10%) [5]. This may be also due to the inherent physical and chemical differences between the rind and seed [5]. Since the seed contains much more cellulosic compounds and has a firm physical structure than the rind, the extraction of polyphenols from seed is much more difficult [5].

The amount of polyphenols extracted also changes not only depending on the parts of pomegranate but also depending on fruit variety, extraction solvent, solvent/sample ratio, particle size and extraction temperature [5]. For example, the TPC of the rind from Poost Syrah variety was 8.4 g/kg dm [6], and lower in comparison with those of Hicaznar variety (120–152 g/kg dm) in the present study. The difference between TPCs of Hicaznar and Poost Syrah varieties might have not only resulted from the difference in variety but also resulted from the differences in solvent and solvent/sample ratio. As a matter of fact, the solvent (ethanol:water, 50:50, v:v) and solvent/sample ratio (16:1) used in their study were quite different from the present study (methanol, ethanol, acetone, water, aqueous acetone; 55:1).

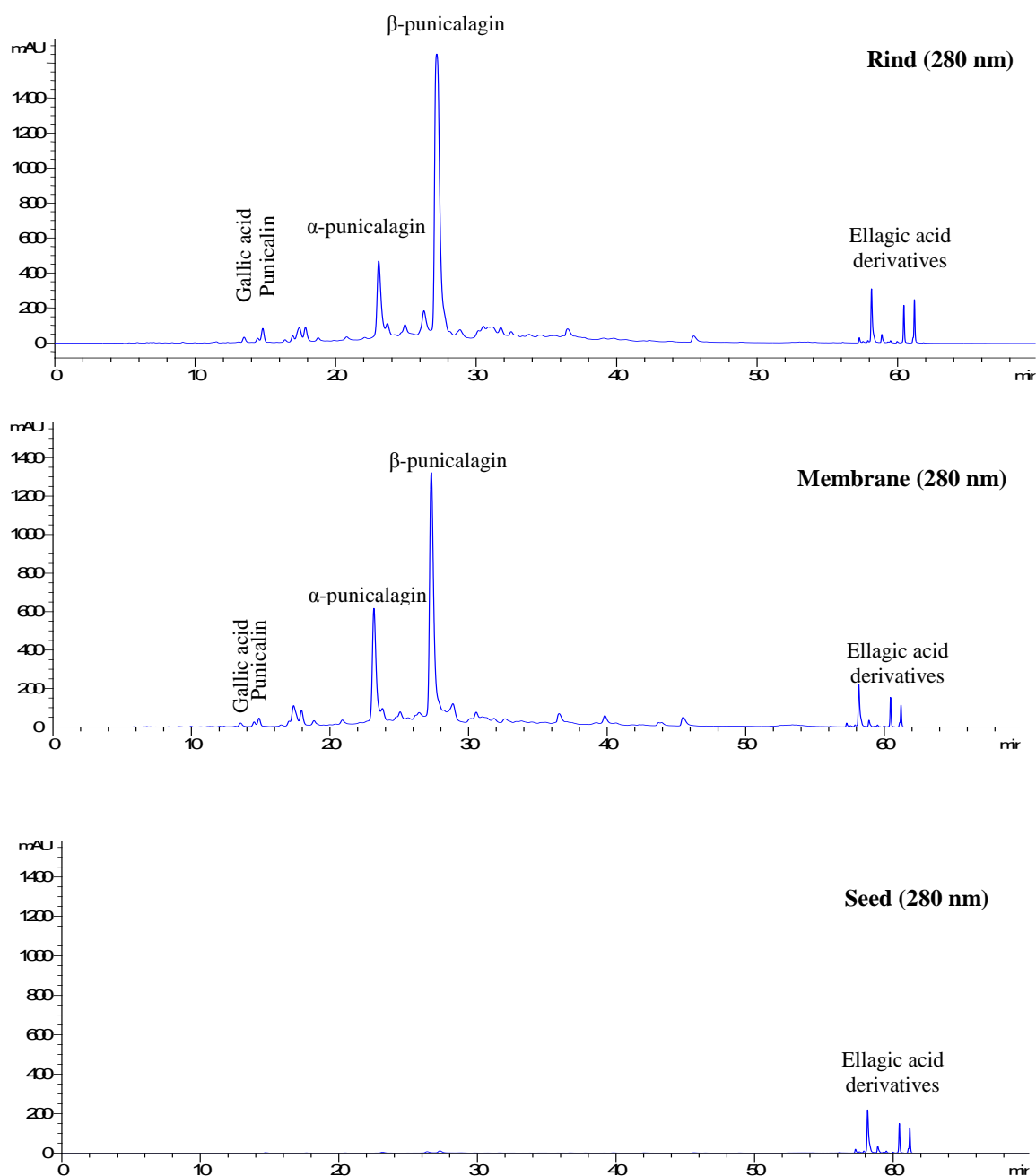
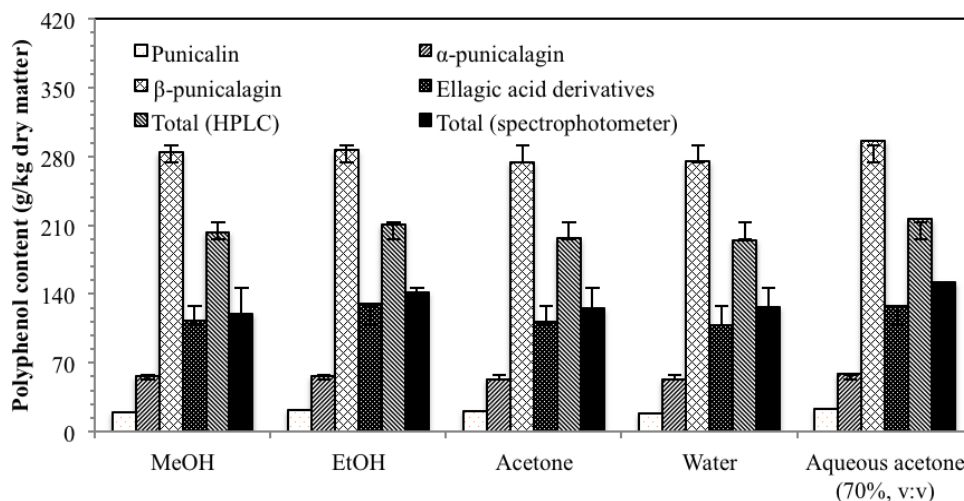


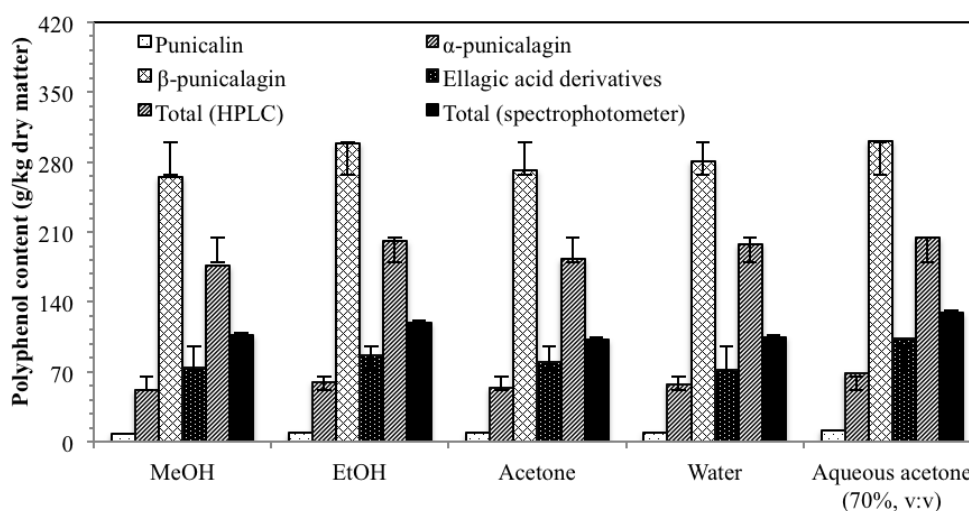
Figure 1. Polyphenol profiles of pomegranate parts

In the present study, the effect of different solvents on TPCs of pomegranate parts was also investigated. For this purpose, the polyphenols of pomegranate rind, membrane and seed were extracted with methanol, ethanol, acetone, water and aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v). Significant differences ($P < 0.05$) in the amounts of polyphenols extracted with different solvents were found. The highest TPCs in pomegranate rind (152 ± 0.83 g/kg dm) and membrane (129 ± 0.17 g/kg dm) were determined in aqueous acetone extract. This was attributable to better extraction of higher molecular weight polyphenols (punicalin and punicalagins) in rind and membrane with aqueous acetone [19]. The second highest TPCs in rind

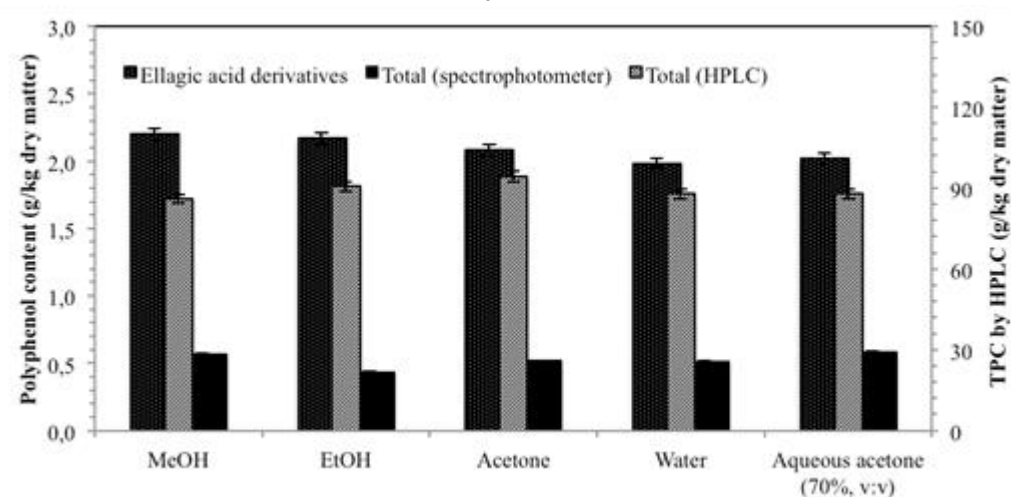
(142 ± 0.50 g/kg dm) and membrane (119 ± 0.17 g/kg dm) were determined in ethanol extracts, while those (0.565 ± 0.007 g/kg dm) in seed was determined in methanol extraction. While aqueous acetone was the solvent for extracting the high molecular weight polyphenols, methanol was generally found to be more efficient in the extraction of lower molecular weight polyphenols [19]. And, since pomegranate seeds particularly contain polyphenols with lower molecular weight such as EAD, TPC in methanol extract of pomegranate seed is slightly higher than that in ethanol extract. However, due to the safety measurements, water and ethanol are the good solvents for polyphenol extraction from plant materials [20].



a



b



c

Figure 2. Effects of extraction solvents on individual polyphenol contents and TPCs of pomegranate parts, a: rind, b: membrane, c: seed, ETOH: ethanol, MEOH: methanol

A suitable solvent should be determined for the efficient extraction of polyphenols from different foods [7]. In fact, Pinelo et al. [21] reported that methanol was the best extraction solvent for polyphenols from pine sawdust,

while ethanol was the best extraction solvent in almond hulls. Similarly, in wild ginseng leaves, the ethanol extracts contained higher amounts of total polyphenols and flavonoids than water and methanol extracts [22].

On the contrary, no difference was found for the extraction of total polyphenols of grapes seeds (*Vitis vinifera*) using acetone, methanol and water [23].

AOAs in Extracts of Rind, Membrane and Seed

AOAs of the extracts of various pomegranate parts were analyzed by ABTS free radical assay. This assay was chosen because it can measure the AOAs of both aqueous radicals and lipid peroxy radicals [24]. The AOA values of sample extracts showed significant differences, ranging from 48.3 to 2989 mM/g dm (Figure 3). Among the parts studied, the highest AOA was determined in the extracts of pomegranate rind (2519–2989 mM/g dm). The AOA values of membrane (2421–2871 mM/g dm) extracts were very similar to those of rinds, while seed extracts showed significantly lower AOA (48.3–65.2 mM/g dm) than the others ($P < 0.05$). Similar to these results, Elfalleh et al. [18] also found that pomegranate (Gabsi variety) peel extracts had stronger AOAs (3.80–7.50 mmol TEAC/100 g dm) than seed extracts (1.10–0.76 mmol TEAC/100 g dm).

The antioxidant compounds of pomegranates mainly comprise the compounds with phenolic hydroxyl groups and double bonds, such as tannins and flavonoids [15]. Polyphenols possess ideal structure chemistry for free radical scavenging activities because they have: (1) phenolic hydroxyl groups that are prone to donate a hydrogen atom or an electron to a free radical; (2) extended conjugated aromatic system to delocalize an unpaired electron [25]. The present study also showed that there were strong correlations between TPCs and AOA values ($r = 0.994$). Pomegranate rind, which had the highest TPCs, showed the highest AOA ($r = 0.967$) as pomegranate seed, which had the lowest TPC, showed the lowest AOA ($r = 0.972$). Similarly, strong correlation between TPCs and AOAs of pomegranate membrane was also determined ($r = 0.976$).

Polyphenol profiles as well as TPCs of pomegranate parts had significant effects on AOA values. Therefore, the correlations between individual phenolic contents and AOA values of pomegranate parts were determined. There were good correlations between AOA values and the contents of punicalagin ($r = 0.735$) and EAD ($r = 0.759$). These results agree with the results reported by Gil et al. [16] who clearly showed that the AOA of pomegranates was mainly due to the hydrolysable tannins including punicalagins and EAD. Since the extracts of rind and membrane also contained hydrolysable tannins including punicalagins and had 33–66 times higher EAD than that of seed, the rind showed higher AOA.

The AOA values of the extracts were also strongly dependent on the type of the solvent as well as on polyphenol profiles ($P < 0.05$) due to solvent polarity. Aqueous acetone extracts of all pomegranate parts showed significantly higher AOA than the others, which is parallel to the highest TPCs in the aqueous acetone extracts of pomegranate parts. The AOA value in the extracts of aqueous acetone was found about 1.2 times higher than that in acetone extracts. This finding is in an

agreement with the previous study which showed that the aqueous solutions of ethanol, methanol or acetone were good solvents for the extraction of antioxidative compounds in grape seeds [26].

ABA in Extracts of Rind, Membrane and Seed

The ABAs of pomegranate rind, membrane and seed in methanol, ethanol, acetone, water and aqueous acetone extracts are presented in Table 1. These activities of the sample extracts were tested against *B. megaterium*, *S. aureus* and *E. coli* O157:H7 (Table 1). No significant effect of extraction solvents on ABA was found in the pomegranate parts studied ($P > 0.05$). While pomegranate rind and membrane showed ABA on *B. megaterium* and *S. aureus*, no activity on *E. coli* O157:H7 was detected. The results showed that Gram-positive bacteria are more sensitive than Gram-negative bacteria to the different extracts of pomegranate parts due to the differences in the structure of their cell walls. The highest antibacterial activity (18.42–20.50 mm) was recorded on *S. aureus* among Gram-positive bacteria by rind (19.77–20.50 mm) and membrane (18.42–19.14 mm) extracts. Similar to our results, the antibacterial and antifungal activities in extracts of rind, seed, juice and whole fruit on *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *S. aureus* were determined [27]. The highest ABA was recorded against *S. aureus* by methanolic extracts (methanol:water, 80%, v:v) of rind (25 mm) and seed (19 mm). Moreover, other studies also reported that the extracts of pomegranate exhibit significant inhibiting effect against the common pathogenic bacteria, especially to Gram-positive pathogens such as *S. aureus*, *S. hemolyticus*, *B. paratyphosus*, *B. subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis* and *Listeria monocytogenes* [28, 29].

The maximum ABA (12.42–20.50 mm) on both Gram-positive bacteria was recorded by rind extracts, followed by membrane extracts (12.12–19.14 mm). On the contrary, pomegranate seed extracts did not show any ABA on the tested bacteria. The ABAs of pomegranate parts highly depended on the type and content of polyphenols and their specific targets such as cell membrane, cell wall, metabolic enzymes, protein synthesis and genetic systems of microorganisms [30]. Since the site and the number of hydroxyl groups on the polyphenols affect the toxicity against the microorganisms, the type of polyphenols in pomegranate parts was very important. Reddy et al. [11] evaluated AMAs of punicalagin, punicalin, ellagic acid and gallagic acid, which were isolated from a pomegranate rind extract, against pathogenic fungi (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*), a non-pathogenic strain of *E. coli*, and pathogenic bacteria (*P. aeruginosa* and *Mycobacterium intracellulare*). Punicalin and ellagic acid did not show any AMA at the highest concentration tested (20 µg/mL). However, gallagic acid and punicalagin inhibited the growth of *E. coli*, *P. aeruginosa* and *C. neoformans* with IC₅₀ values lower than 15 µg/mL [11]. Similarly, the results of the present study also showed that pomegranate rind and membrane, which

contained punicalagin at high concentration, had the highest ABAs, and the seeds, which contained EAD, did not show ABA on the bacteria tested (Table 1). Another reason for this phenomenon may be that the amount of antimicrobial compounds in seeds was lower than the

threshold of substrate concentration which is necessary for inhibition. As mentioned before, pomegranate seed (0.430–0.582 g/kg dm) had the lowest TPC among the pomegranate parts investigated in the present study (Table 1).

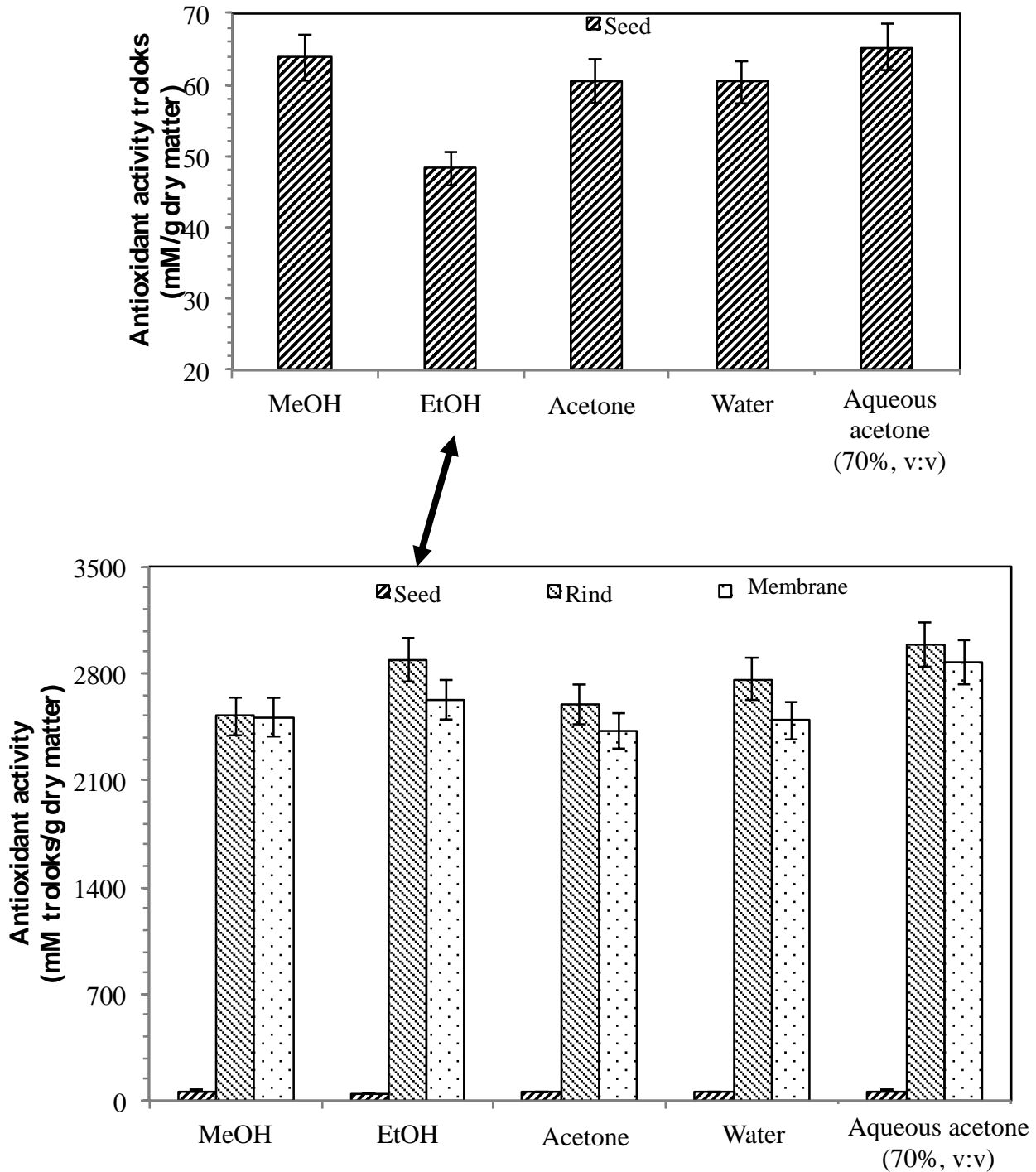


Figure 3. Effects of extraction solvents on AOA of pomegranate parts (EtOH: ethanol, MeOH: methanol)

Table 1. ABAs of pomegranate parts in various extraction solvents against *B. megaterium* and *S. aureus*

Solvents	Diameter of inhibition zone (mm) ^a		
	Seed	Rind	Membrane
<i>B. megaterium</i>			
Methanol	–	13.32 ± 0.32B ^b	13.31 ± 0.35B
Ethanol	–	14.06 ± 0.21C	12.12 ± 0.22A
Acetone	–	14.40 ± 0.29C	12.40 ± 0.18A
Water	–	12.42 ± 0.25A	12.20 ± 0.31A
Aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v)	–	13.36 ± 0.36B	13.84 ± 0.33B
<i>S. aureus</i>			
Methanol	–	20.19 ± 0.33A	18.46 ± 0.40A
Ethanol	–	19.77 ± 0.36A	18.71 ± 0.32A
Acetone	–	20.40 ± 0.30A	18.42 ± 0.19A
Water	–	20.43 ± 0.55AB	19.14 ± 0.46A
Aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v)	–	20.50 ± 0.27B	18.68 ± 0.30A

There was no ABA of purified water containing 0.01% HCl (v:v) against *B. megaterium* and *S. aureus*. ^aDiameter of the zone was measured with the diameter of the wells. ^bSignificant differences at $p < 0.05$ were indicated with different letters.

CONCLUSION

Extraction solvents showed significant effect on AOA and TPCs due to the differences in the polarity of solvents ($P < 0.05$). Aqueous acetone (acetone:water, 70:30, v:v) provided the highest TPC and thus AOA, since the pomegranate parts (rind and membrane) had polyphenols with high molecular weight such as hydrolysable tannin at high contents and aqueous acetone was especially effective on the extraction of high molecular weight polyphenols. Among pomegranate parts, the highest TPCs and AOA values were determined in pomegranate rind followed by membrane and seed. Due to their high AOA values, pomegranate rind and membrane could be used as natural antioxidant sources for the prevention of lipid oxidation that generates undesirable flavor and odor compounds and renders the foods unacceptable to consumers. Other than AOAs, the extracts of rinds and membranes had also ABAs on *S. aureus* and *B. megaterium*, while the seed extracts showed no ABA on the bacteria tested. Since choosing the suitable solvent affects the amount of polyphenol extracted, a solvent which is the most suitable for the effective extraction of polyphenols from any plant sources should be determined.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by “Ankara University Scientific Research Projects Office” Turkey (Grant Number: 08B4343002). Dr. Türkyılmaz would like to thank The Scientific and Technological Research Council of Turkey-Graduate Research Scholarship Programme (TUBITAK-BIDEP) for their financial support during her Ph.D. studies. The authors also thank the Alata Horticultural Research Institute (Erdemli, Mersin) for providing pomegranates.

ABBREVIATIONS


Total polyphenol (TP), antioxidant activity (AOA), antimicrobial activity (AMA), antibacterial activity (ABA).

REFERENCES

- [1] Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., 2000. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71: 1062–1076.
- [2] Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., 2003. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. *Journal of Food Science* 68: 1473–1477.
- [3] JM (Journal of Malatyasonöz), 2011. Pomegranate production became widespread (Nar üretimi yaygınlaştı). Retrieved October 18, 2011 from <http://www.malatyasonsoz.com.tr/ekonomi/nar-uretimi-yayginlasti-h10325.html>.
- [4] Akdağ, E., 2011. Industrial reports of fruit juice, nectar and fruit drink in Turkey (Türkiye meyve suyu v.b ürünler sanayi raporu). Istanbul, MEYED.
- [5] Qu, W., Pan, Z., Ma, H., 2010. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering* 99: 16–23.
- [6] Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M.A., Azizi, M.H., 2007. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agricultural Science and Technology* 9: 35–42.
- [7] Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 15: 8813–8826.
- [8] Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A., 2011. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 1147–1154.
- [9] Wu, X., Prior, R.L., 2005. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: vegetables, nuts, and grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3101–3113.

- [10] Espinosa-Alonso, L.G., Lygin, A., Widholm, J.M., Valverde, M.E., Paredes-Lopez, O., 2006. Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4436–4444.
- [11] Reddy, M.K., Gupta, S.K., Jacob, M.R., Khan, S.I., Ferreira, D., 2007. Antioxidant, antimalarial and AMAs of tannin-rich fractions, ellagitannins and phenolic acids from *Punica granatum* L. *Planta Medica* 73: 461–467.
- [12] Gözlekçi, Ş., Saraçoğlu, O., Onursal, E., Özgen, M., 2011. Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. *Pharmacognosy Magazine* 7: 161–164.
- [13] Miller, N.J., Rice-Evans, C., 1997. Factors influencing the antioxidant capacity determined by the ABTS⁺ radical cation assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26: 195–199.
- [14] Lenette, E.H. 1985. Manual of Clinical Microbiology. 3rd ed. American Society for Microbiology, ASM Press Washington, DC, USA.
- [15] Wang, R.F., Xie, W.D., Zhang, Z., Xing, D.M., Ding, Y., Wang, W., Ma, C., Du, L.J., 2004. Bioactive compounds from the seeds of *Punica granatum* (pomegranate). *Journal of Natural Product* 67: 2096–2098.
- [16] Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A., 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 4581–4589.
- [17] Lansky, E.P., Newman, R.A., 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology* 109: 177–206.
- [18] Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., Ferchichi, A., 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plant* 6: 4724–4730.
- [19] Prior, R.L., Lazarus, S.A., Cao, G., Muccitelli, H., Hammerstone, J.F., 2001. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* spp.) using high performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1270–1276.
- [20] Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y., Jiang, Y., 2005. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods-engineering and technology. *Food Reviews International* 21: 139–166.
- [21] Pinelo, M., Rubilar, M., Sinerio, J., Nunez, M.J., 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry* 85: 267–273.
- [22] Jung, C.H., Seog, H.M., Choi, I.W., Park, M.W., Cho, H.Y., 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT-Food Science Technology* 39: 266–274.
- [23] Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.K., 2010. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73: 285–290.
- [24] Rice-Evans, C., Miller, N.J., Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity; activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20: 933–956.
- [25] Wang, R., Ding, Y., Liu, R., Xiang, L., Du, L., 2010. Pomegranate: Constituents, Bioactivities and Pharmacokinetics. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 4: 77–87.
- [26] Yilmaz, Y., Toledo, R., 2006. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 41–48.
- [27] Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H., Khan, M., 2010. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 9: 273–281.
- [28] Navarro, V., Villarreal, M.L., Rojas, G., Lozo, Y.A.X., 1996. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 53: 143–147.
- [29] Al-Zoreky, N.S., 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *The International Journal of Food Microbiology* 134: 244–248.
- [30] Raybaudi-Massilia, R.M., Mosqueda-Melgar, J., Soliva-Fortuny, R., Mart'In-Belloso, O., 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh-cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* F 8: 157–80.

Effect of Hardaliye on FoxM1 Gene Expression Level of HT-29, DU-145, HeLa Cancer Cells and CF-1 (Mouse Embryonic Fibroblast)

Özge Kahraman Ilıkkan ✉ 

Trakya University, Technology Research and Development Center, Balkan Campus, Edirne, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 09.08.2016, Accepted (Kabul Tarihi): 12.04.2017✉ *Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): mikro_ozge@yahoo.com (Ö. Kahraman Ilıkkan)*

☎ +90 284 2357653 📠 +90 284 2360357

ABSTRACT

Chemotherapeutic agents may influence both cancer cells and healthy cells, therefore alternative therapeutic agents or targets have become a milestone of cancer cure. Forkhead box M1 (FoxM1) is a transcriptional regulator and a novel cancer therapy target as overexpressed in cancer cells, and its inhibitors are considered as potential therapeutic agents to halt cancer progression. Therefore, in this study, the effect of "Hardaliye" on cancer cells and a healthy cell line was primarily investigated by MTT (3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) and later on, FoxM1 gene expression levels were determined. Hardaliye, especially when diluted ten and twenty-fold, decreased viability percentage of all cancer cells and did not affect healthy cells. FoxM1 levels of cancer cells drastically decreased especially in HT-29 cells while did not statistically change their levels in the healthy cell line.

Keywords: FoxM1, qRT-PCR, Cancer cell lines, CF-1, Gene expression

Hardaliyenin HT-29, DU-145, HeLa Kanser Hücreleri ve CF-1 (Fare Embriyonik Fibroblast) Hücresi FoxM1 Gen Ekspresyon Seviyelerine Etkisi

ÖZ

Kemoterapötik ajanlar hem kanser hücrelerini hem de sağlıklı hücreleri etkilemektedir bu nedenle alternatif terapötik ajanlar veya hedefler kanser tedavisinin kilometre taşı olmuştur. Forkhead box M1 (FoxM1) transkripsiyonel regülatördür ve kanser hücrelerinde daha fazla eksprese olması nedeniyle yeni kanser terapi hedefi olmuştur. Fox M1 inhibitörleri, kanser gelişimini engelleyen potansiyel terapötik ajanlardır. Bu nedenle, çalışmada, Hardaliye'nin kanser hücreleri ve sağlıklı hücre hattı üzerine etkisi MTT yöntemiyle öncelikle belirlenmiş ve sonrasında, FoxM1 gen ekspresyon seviyeleri tayin edilmiştir. Hardaliye, özellikle on ve yirmi-kat seyreltildiğinde bütün kanser hücrelerinin yüzde canlılığını düşürmüştü ancak sağlıklı hücreleri etkilememiştir. FoxM1 seviyeleri sağlıklı hücre hatlarında istatistiksel olarak değişmezken, kanser hücrelerinde özellikle HT-29 hücrelerinde epeyce düşmüştür.

Anahtar Kelimeler: FoxM1, qRT-PCR, Kanser hücre hatları, CF-1, Gen ekspresyonu

INTRODUCTION

FoxM1 (Forkhead transcription factor) is a member of transcriptional regulators and a key regulator of processes including cell proliferation, G1-S and G2-M cell cycle transition, mitotic spindle integrity, cell differentiation, DNA damage repair, tissue homeostasis,

angiogenesis, chemotherapeutic drug response and apoptosis [1-4]. An elevated expression of FoxM1 has been recently reported in the wide majority of tumor cells such as liver, prostate, brain, breast, lung, colon, pancreas, skin, cervix, ovary, mouth, blood and nervous while its expression is low in normal cells [5]. FoxM1 has been also demonstrated that activates genes related to

metastasis [6]. Some studies conducted in carcinogenic mouse models, where FoxM1 gene has been deleted, have shown that cancer cell proliferation have reduced [3].

Reactive oxygen species (ROS) trigger expression of FoxM1 and interestingly, FoxM1 also triggers expression of ROS scavengers such as Superoxide Dismutase (SOD), Catalase [6, 7]. Overexpression of FoxM1 renders cancer cells resistance to ROS-mediated cell death. Thus, tumor cells overexpressing FoxM1 coincides with resistance to apoptosis and chemotherapeutic drugs cisplatin, trastuzumab, and paclitaxel [7]. Thereby, inhibitors of this gene have been considered as potential therapeutic agents to halt cancer progression [1-3] and to increase the sensitivity of cancer cells to ROS-mediated cell death [7].

Hardaliye is a fermented non-alcoholic traditional beverage produced from the black grape, black mustard seeds, and cherry leaves in the Thrace Region of Turkey. Mustard seeds and grapes are slightly cracked; barrels are filled with a layer of cracked black grape, mustard seeds, and a layer of cherry leaves. The mixture is fermented for 10-15 days. The phenolic content of Hardaliye used in this study was detected by LC-MS/MS and elemental content was detected by ICP-MS in our previous study [8]. Its antioxidant capacity has been also shown by other researchers [9]. However, currently, there is no clear evidence about the effect of antioxidant foods on FoxM1 activity as potential anticancer sources. Therefore, determining the effect of Hardaliye, which is an antioxidant beverage, on FoxM1 gene expression of three cancer cell line, namely; HT-29 (colon cancer), DU-145 (prostate cancer), HeLa (cervical cancer) and healthy cell culture CF-1 (mouse embryonic fibroblast) was aimed in this study.

MATERIALS AND METHODS

Cell Lines and Treatment with Hardaliye

Human HT-29, DU-145, HeLa and Mouse embryonic fibroblast cells (CF-1) cell cultures were purchased from ATCC (Manassas, VA, USA). Cells were initially cultured in 75 cm² flasks with DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) supplemented with 10% FBS and Penicillin/Streptomycin (100 IU/100 µg/mL) (Wisent Inc., Canada) and grown at 37°C in the presence of 5 % CO₂. Cells were trypsinized at 37°C washed with PBS and were seeded in 6- well plates (~10⁶ cell per well). Hardaliye was filtered with a 0.22 µm sterile syringe filter and in 96-well plates (~ 5000-10.000 cell per well) for MTT analysis. Exponentially growing cells were treated with 10 to 160-fold Hardaliye for MTT assay and with 5 and 10-fold (abbreviated as H5 and H10) Hardaliye but control for further analysis. Each experiment was repeated independently at least three times.

MTT Cell Viability Assay

MTT (3(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) (Biomatik Cambridge, Ontario) is an

assay to determine the viability of cells with the conversion of the water-soluble MTT to an insoluble purple formazan by respiring cells. MTT assay was carried out after 24h and 48h of the experiment. 20 µL MTT (5 mg/mL in PBS) was added and incubated at 37°C for 4h. Medium with MTT was carefully removed from all wells and the formazan crystals were dissolved in 200 µL of DMSO and incubated at 37°C for 5 min. Absorbance was recorded at 492 nm using Multiscan Go microplate reader (Thermo Scientific, USA). The viability % was calculated [10].

RNA Extraction and Reverse Transcription

All cells were trypsinized, centrifuged and 500µl lysis buffer was added to the pellet. Total RNA was isolated according to manufacturer's instruction with PureLink® RNA Mini Kit (Life Technologies, USA). The RNA concentrations were determined by measuring UV absorbance at 260 nm with NanoQ (Pathtech, Australia). RNAs were equalized to 100 ng/µL and reverse transcription was performed using High Capacity cDNA synthesis kit (Life Technologies, USA) on Veriti 96-Well Thermal Cycler system with the following protocol: step 1, 25°C, 10 min; step 2, 37°C, 120 min; step 3, 85°C, 5 min. RNA was stored at -80°C while cDNA was stored at -20°C for subsequent steps.

Detection of Relative Gene Expression Level of FOXM1 by Qrt- PCR (Quantitative Real-Time PCR)

Expression level of FOXM1 gene was detected using following protocol on ABI 7500 Fast qRT-PCR system (Life Technologies, USA): 20 µL reactions containing 0.2 µM each primer (the forward primer was 5'-AACCGCTACTTGACATTGG-3' and the reverse primer was 5'-GCAGTGGCTTCATCTTCC-3'), 10 µL SYBR Select Master Mix (Life Technologies, USA) (2x), 2 µL template cDNA and DNase/RNase free water [11]. After initial denaturation 1x 94°C for 3 min; amplifications were performed for 40 cycles 94°C for 45 s; 58°C for 45 s; and 72°C 1 min and 1x 72°C 10 min. 18S mRNA expression was used as housekeeping gene for normalization. Relative fold change of mRNA expression level was determined by the Comparative CT method (2^{-ΔΔCT} method) [12] and presented as mean ± SD. All reactions were set up in triplicates.

Statistical Analysis

Differences between control and treatments were analyzed using a statistical software JMP 12.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) with one-way ANOVA followed by Tukey-Kramer multiple comparison test. For MTT test, control was considered as % 100 and results were compared with control. Differences were considered significant at p < 0.05 and specified with asterisk as *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

The hardaliye used in this study mostly contains gallic acid, resveratrol and caffeic acid, namely; 6 ppm, 2

ppm, and 1 ppm, respectively as well as 156 ppm potassium. Caffeic acid has been shown to have anticancer activity in colon cancer cells [13]. Gallic acid as a chemical agent has been shown to reduce cervical cancer cells and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells [14, 15]. Also, in a study, gallic acid has been extracted from a herbal medicine plant and its anticancer activity was assessed on numerous cancer cell lines such as breast, cervix, colon, gastric etc. Gallic acid has inhibited cell proliferation of cancer cells [16]. In addition, in vivo studies conducted with gallic acid or resveratrol have shown these compounds to inhibit most of cancer lesions such as osteosarcoma, breast, colorectal, liver, pancreatic, and prostate cancers [17, 18]. The effect of Hardaliye was assessed after 24h and 48h of experiments. According to MTT assay, 10 and 20-fold diluted Hardaliye decreased drastically viability of cancer cells after 48h of treatment. Namely, 10-fold dilution decreased viability of HT-29, DU-145 and HeLa 34±2%, 33±3%, 17±2 % while 20-fold dilution decreased 38±6%, 55±10%, 34±5%, respectively, compared with

the control. However, the percentage of healthy cells did not significantly change apart from 20-fold dilution which is 92±5% after 48h (Tables 1-4).

Both H5 (5-fold dilution) and H10 (10-fold dilution) treatment significantly inhibited the gene expression level of FoxM1 in cancer cells while pleasingly did not affect healthy cells after 24h. 5-fold diluted Hardaliye was more effective on HT-29 cells than other cancer cells according to the relative fold changes. FoxM1 relative expression level of HT-29 cells decreased to 0.26 after 24h and 0.1 after 48h compared with the control. However, HeLa and DU-145 cells treated with H10 reached to control after 48h while HeLa cells treated with H5 remained almost at the same level, presumably, due to the fact that a drug resistance effect of the cells revealed at a low level of Hardaliye (Figures 1, 2 and Table 5).

Table 1. The viability (%) analysis of HeLa cells treated with diluted Hardaliye (10, 20, 40, 80, and 160-fold) via MTT assay

		Viability %		SD			Viability %		SD
24h	10 Fold	d***	28.76	1.42	48h	10 Fold	d***	17.35	2.18
	20 Fold	d***	34.22	4.53		20 Fold	c***	34.02	4.93
	40 Fold	c***	71.06	2.15		40 Fold	b***	62.28	7.69
	80 Fold	cb***	72.79	5.32		80 Fold	b***	67.76	7.61
	160 Fold	b*	83.89	8.03		160 Fold	b***	65.63	4.53
	Control	a	100.00	0		Control	a	100.00	0

Data are presented as mean±SD, n=3. Different letters indicate statistically differences. ***p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 2. The viability (%) analysis of DU145 cells treated with diluted Hardaliye (10, 20, 40, 80, and 160-fold) via MTT assay.

		Viability %		SD			Viability %		SD
24h	10 fold	d***	43.93	2.46	48h	10 fold	c***	32.80	3.43
	20 fold	dc***	53.07	7.92		20 fold	b***	55.13	10.10
	40 fold	c***	59.60	1.92		40 fold	a	89.03	4.29
	80 fold	b***	76.39	0.65		80 fold	a	89.69	7.57
	160 fold	a	90.14	3.54		160 fold	a	88.29	8.95
	Control	a	100.00	0		Control	a	100.00	0

Different letters indicate statistically differences. Data are presented as mean±SD, n = 3. *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 3. The viability (%) analysis of HT-29 cells treated with diluted Hardaliye (10, 20, 40, 80, and 160-fold) via MTT assay.

		Viability %		SD			Viability %		SD
24h	10 fold	c***	58.73	3.45	48h	10 fold	d***	34.49	2.56
	20 fold	c***	59.58	4.00		20 fold	dc***	38.87	5.94
	40 fold	b***	79.70	5.15		40 fold	cb***	60.46	3.56
	80 fold	b**	84.28	5.28		80 fold	b*	73.45	6.29
	160 fold	b*	88.79	3.27		160 fold	a	100.07	16.63
	Control	a	100.00	0		Control	a	100.00	0

Different letters indicate statistically differences. Data are presented as mean±SD, n = 3. *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 4. The viability (%) analysis of CF-1 cells treated with diluted Hardaliye (10, 20, 40, 80, and 160-fold) via MTT assay.

		Viability %		SD			Viability %		SD
24h	10 fold	a	109.45	15.57	48h	10 fold	a	103.06	4.69
	20 fold	a	104.26	17.14		20 fold	b	92.16	5.63
	40 fold	a	102.73	15.16		40 fold	a	113.86	1.69
	80 fold	a	96.09	6.86		80 fold	a	109.52	7.05
	160 fold	a	86.64	6.88		160 fold	ab	100.54	8.93
	Control	a	100.00	0		Control	ab	100.00	0

Data are presented as mean±SD, n= 3. Different letters indicate statistically differences, *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

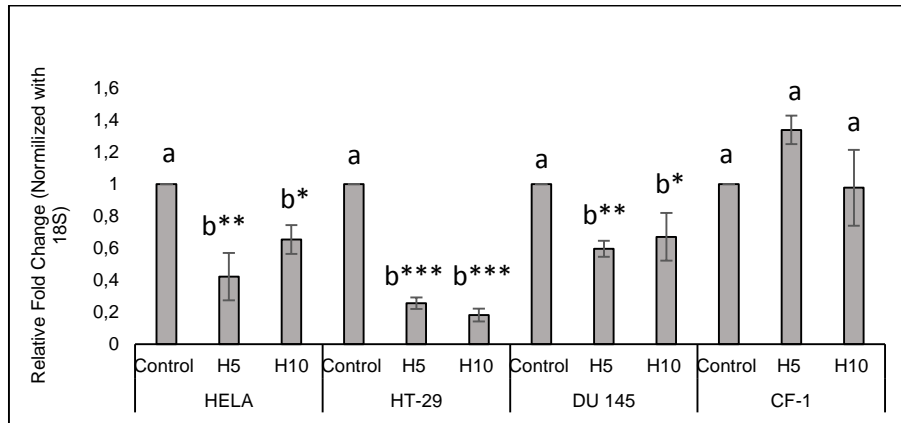


Figure 1: Effect of the Hardaliye on FoxM1 gene expression level after 24h of treatment with H5 and H10. Different letters indicate statistically differences *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

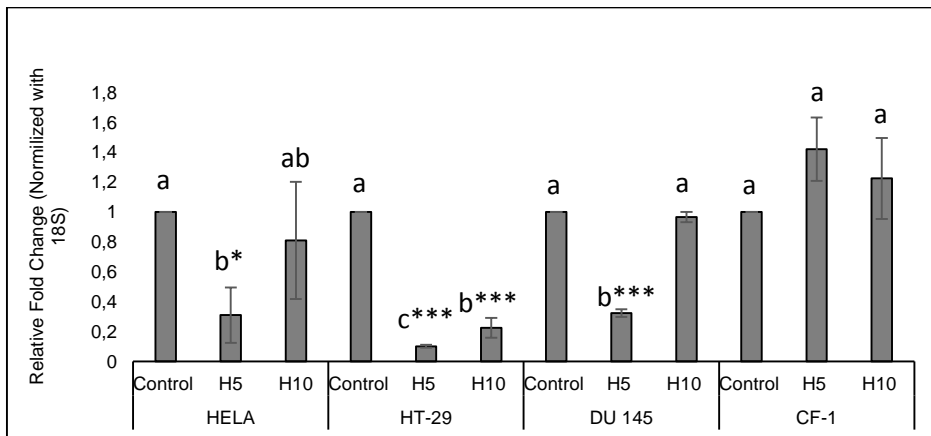


Figure 2: Effect of the Hardaliye on FoxM1 gene expression level after 48h of treatment with H5 and H10. Different letters indicate statistically differences *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

Table 5. Effect of the 5 and 10-fold diluted Hardaliye on relative gene expression level of FoxM1 after 24h and 48h of treatment

		Relative Fold Change (Normalized with 18S)							
		24h				48h			
	Control	a	1	SD	Control	a	1	SD	
HELA	H5	b **	0.42	0.15	H5	b*	0.31	0.19	
	H10	b*	0.65	0.09	H10	ab	0.81	0.39	
	H5	b***	0.26	0.04	H5	c***	0.10	0.01	
HT-29	H10	b***	0.18	0.04	H10	b***	0.22	0.07	
	H5	b**	0.60	0.05	H5	b***	0.32	0.03	
DU-145	H10	b*	0.67	0.15	H10	a	0.97	0.03	
	H5	a	1.34	0.09	H5	a	1.42	0.21	
CF-1	H10	a	0.98	0.24	H10	a	1.22	0.27	

Different letters indicate statistically differences *** p< 0.001, **p<0.01, *p<0.05.

MTT and FoxM1 gene expression results showed that Hardaliye was apparently seen to be more effective on HT-29 cancer cell line. Both methods supported that healthy cells were not affected by Hardaliye treatments. Even though there is no so much study on antioxidants and FoxM1 relation, FoxM1 was shown to be an ROS regulator and antioxidants inhibited FoxM1 expression as also shown in this study while oxidative stress increased [5, 7, 19, 20]. Moreover, the effect of an antioxidant beverage on FoxM1 activity was the first time evaluated with this study.

CONCLUSION

FoxM1 is a transcription factor which is recently a popular target for therapeutic opportunities. Its inhibitors are considered as a potential drug development since it induces apoptosis in human tumor cell lines. Even though detailed studies required to put forward the anti-cancer effect of Hardaliye. This study has become a preliminary study to show up the anti-cancer effect of the Hardaliye via suppressing the FoxM1 expression.

REFERENCES

- [1] Wang, Z., Ahmad, A., Li, Y., Banerjee, S., Kong, D., Sarkar, F.H., 2010. Forkhead box M1 transcription factor: a novel target for cancer therapy. *Cancer Treatment Reviews* 36(2): 151-156.
- [2] Laoukili, J., Stahl, M., Medema, R.H., 2007. FoxM1: at the crossroads of ageing and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 1775(1): 92-102.
- [3] Koo, C.Y., Muir, K.W., Lam, E.W.F., 2012. FOXM1: From cancer initiation to progression and treatment. *Biochimica et Biophysica (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms* 1819(1): 28-37.
- [4] Myatt, S.S., Lam, E.W.F., 2007. The emerging roles of forkhead box (Fox) proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer* 7(11): 847-859.
- [5] Nogueira, V., Hay, N., 2013. Molecular pathways: reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy. *Clinical Cancer Research* 19(16): 4309-4314.
- [6] Raychaudhuri, P., Park, H.J., 2011. FoxM1: a master regulator of tumor metastasis. *Cancer Research* 71(13): 4329-4333.
- [7] Halasi, M., Pandit, B., Wang, M., Nogueira, V., Hay, N., Gartel, A.L., 2013. Combination of oxidative stress and FOXM1 inhibitors induces apoptosis in cancer cells and inhibits xenograft tumor growth. *The American Journal of Pathology* 183(1): 257-265.
- [8] Kahraman, O., Doğanlar, O., Doğanlar, Z.B., Altinoluk, P., Soykan Kırbaş, A., 2015. Anti-Proliferative effect of the Hardaliye on HT-29 cell line (human colon cancer): phenolic and element content by LC MS/MS and ICP-MS, apoptosis and antioxidant related gene expressions by RT-qPCR. IV. International Molecular Biology Congress, November 27-29, 2015, Ankara, Turkey.
- [9] Amoutzopoulos, B., Löker, G.B., Samur, G., Çevikkalp, S.A., Yaman, M., Köse, T., Pelvan E., 2013. Effects of a traditional fermented grape-based drink 'hardaliye' on antioxidant status of healthy adults: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Science of Food and Agriculture* 93(14): 3604-3610.
- [10] Abaza, M.S.I., Orabi, K.Y., Al-Quattan, E., Raja'a, J., 2015. Growth inhibitory and chemo-sensitization effects of naringenin, a natural flavanone purified from *Thymus vulgaris*, on human breast and colorectal cancer. *Cancer Cell International* 15(46):1-19.
- [11] Jiang, L., Cao, X.C., Cao, J.G., Liu, F., Quan, M.F., Sheng, X.F., Ren, K.Q., 2013. Casticin induces ovarian cancer cell apoptosis by repressing FoxM1 through the activation of FOXO3a. *Oncology Letters* 5(5): 1605-1610.
- [12] Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods* 25(4): 402-408.
- [13] Rosa, L.S., Silva, N.J.A., Soares, N.C.P., Monteiro, M.C., Teodoro, A.J., 2016. Anticancer properties of phenolic acids in colon cancer - A review. *Journal of Nutrition & Food Sciences* 6:468.
- [14] Zhao, B., Hu, M., 2013. Gallic acid reduces cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human cervical cancer cells. *Oncology Letters* 6(6):1749-55.
- [15] Sun, G., Zhang, S., Xie, Y., Zhang, Z., Zhao, W., 2016. Gallic acid as a selective anticancer agent that induces apoptosis in SMMC-7721 human hepatocellular carcinoma cells. *Oncology Letters* 11(1):150-158.
- [16] Faried, A., Kurnia, D., Faried, L.S., Usman, N., Miyazaki, T., Kato, H., Kuwano, H., 2007. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines. *International Journal of Oncology* 30(3):605-614.
- [17] Liang, C.Z., Zhang, X., Li, H., Tao, Y.Q., Tao, L.J., Yang, Z.R., Zhou, X.P., Shi, Z.L., Tao, H.M., 2012. Gallic acid induces the apoptosis of human osteosarcoma cells *in vitro* and *in vivo* via the regulation of mitogen-activated protein kinase pathways. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals* 27(10):701-710.
- [18] Carter, L.G., D'Orazio, J.A., Pearson, K.J., 2014. Resveratrol and cancer: focus on *in vivo* evidence. *Endocrine-Related Cancer* 21(3): 209-225.
- [19] Newick, K., Cunniff, B., Preston, K., Held, P., Arbiser, J., Pass, H., Heintz, N., 2012. Peroxiredoxin 3 is a redox-dependent target of thiostrepton in malignant mesothelioma cells. *PLoS ONE* 7(6): e39404.
- [20] Park, H.J., Carr, J.R., Wang, Z., Nogueira, V., Hay, N., Tyner, A.L., Raychaudhuri, P., 2009. FoxM1, a critical regulator of oxidative stress during oncogenesis. *The EMBO Journal* 28(19): 2908-2912.

Grafen Oksit-Polianilin Nanokompozit Temelli Amperometrik Glukoz Biyosensörü Geliştirilmesi

Sadık Çoğal  

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Polimer Mühendisliği Bölümü, Burdur

Geliş Tarihi (Received): 20.02.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 05.06.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sadik_cogal@yahoo.com (S. Çoğal)

☎ 0 248 213 27 62 📠 0 248 213 27 04

ÖZ

Bu çalışmada, Pt elektrot, grafen oksit-polianilin (GO-PANI) nanokompoziti ile modifiye edilerek amperometrik glukoz biyosensörü geliştirilmesinde kullanılmıştır. Modifiye edilmiş Pt elektroda glukoz oksidaz (GOD) enzimi çapraz bağlayıcı kullanılarak immobilize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan Pt/GO-PANI/GOD biyosensörünün optimum çalışma koşullarında amperometrik yöntemle glukozu karşı cevabı çalışılmış ve $36.11 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ hassasiyet, 0.59-9.15 mM lineer çalışma aralığı ve 0.24 mM tayin limiti sergilemiştir. Geliştirilen glukoz biyosensörü üzerine askorbik asit (AA) ve ürik asidin (UA) girişim etkileri incelenmiş ve biyosensörün glukozu karşı oldukça seçici olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glukoz, Glukoz oksidaz, Grafen oksit, Polianilin, Biyosensör

Development of Graphene Oxide-Polyaniline Nanocomposite Based Amperometric Glucose Biosensor

ABSTRACT

In this study, Pt electrode was modified with graphene oxide-polyaniline (GO-PANI) nanocomposite and used in the fabrication of amperometric glucose biosensor. Glucose oxidase (GOD) was immobilized on the modified Pt electrode by using a cross-linking agent. The proposed Pt/GO-PANI/GOD biosensor exhibited a sensitivity value of $36.11 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ with a linear range of 0.59-9.15 mM and the detection limit of 0.24 mM under optimum conditions. The interference effects of ascorbic acid (AA) and uric acid (UA) on the developed glucose biosensor were studied, and it was observed that the biosensor was highly selective to glucose.

Keywords: Glucose, Glucose oxidase, Graphene oxide, Polyaniline, Biosensor

GİRİŞ

Çoğu gıda sistemleri ve onların ham maddeleri, çeşitli kimyasal bileşikler içinde bulunduran oldukça kompleks karışımlardan oluşmaktadır. Gıda maddelerinin analizi bu nedenle zordur. Gıda ürünlerinin analizinde

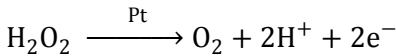
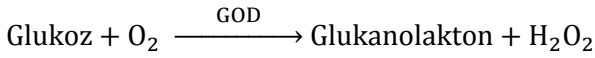
genellikle kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemler ön hazırlık gerektiren, zaman alıcı, oldukça pahalı cihazlara ve deneyimli personele ihtiyaç duyan yöntemlerdir. Bu yüzden, araştırmacılar maliyeti düşürmek ve daha hızlı analiz sonuçlarına ulaşmak için yeni yöntemlerin arayışına girmişlerdir. Bu anlamda biyosensörler, basit kullanımları,

hızlı tayin imkanı sunmaları ve pahalı cihazlara ihtiyaç duymamalarından dolayı gıda endüstrisinden çevresel izleme ve klinik analizlere kadar geniş uygulama alanlarına sahiptirler [1-2]. Gıda endüstrisinde biyosensörler, meyve suları, süt, peynir, buğday, meyve ve sebze gibi gıdalarda glukoz, fruktoz, laktöz, askorbik asit, etanol, nişasta, pestisit, antibiyotik kalıntıları, bakteri ve daha birçok bileşenin tayini amacıyla kullanılmaktadır [3-5, 26].

Gıda ürünlerinin kalitesi ve güvenliği için glukozun hızlı ve doğru bir şekilde tayin edilmesi önemlidir. Ayrıca, glukoz konsantrasyonunun önemli olduğu diyabet ve endokrin metabolik hastalıklarında doğru ve hızlı bir şekilde tayin edilmesi büyük önem arz etmektedir [6-7]. Glukoz miktarını belirlemek için birçok yöntem bulunmaktadır. Ancak bunlar içerisinde, biyosensörlerin kullanılmasının önemli bir yeri vardır.

Elektrokimyasal, kemilüminesans, vb. yöntemler kullanılarak güvenilir glukoz biyosensörleri geliştirmek amacıyla birçok uğraş verilmektedir [8-9]. Bu yöntemler içerisinde, enzim-esaslı elektrokimyasal glukoz biyosensörleri basitlik, yüksek seçicilik ve düşük maliyet gibi nedenlerden dolayı çok yoğun bir şekilde çalışılmaktadır.

Glukoz oksidaz (GOD), glukozu karşı yüksek seçiciliği ve kararlılığından dolayı glukoz biyosensörlerinde en çok kullanılan enzimdir. GOD, iki flavin adenin dinükleotit (FAD) kofaktörü içermekte ve aşağıdaki reaksiyona göre glukozun yükseltgenmesini kataliz etmektedir:



Bu enzimatik reaksiyona göre; glukoz miktarı, oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2) ile doğru orantılıdır. Bundan dolayı, glukoz konsantrasyonu H_2O_2 'nin elektrokimyasal reaksiyonundan kaynaklanan akım değişiminin ölçülmesi ile kolaylıkla belirlenmektedir.

Biyosensör geliştirme sürecinde en zor ve en kritik aşamalardan biri enzim immobilizasyonudur. Uzun ömürlü ve kararlı biyosensörler hazırlamak için, enzim molekülleri immobilizasyondan sonra aktivitelerini uzun süre korumaları gerekmektedir. Bundan dolayı, enzim immobilizasyon metodunun seçimi biyosensörler için en önemli adımlardan birisidir ve immobilize edilecek biyomolekülün yapısıyla yakından ilgilidir. GOD enzimi, çapraz-bağlanma [10], fiziksel adsorpsiyon [11] ve kovalent bağlanma [12] gibi farklı tekniklerle immobilize edilebilmektedir.

Etkin enzim immobilizasyonu için öncelikle elektrotların modifiye edilmesine gereksinim duyulmaktadır. Bu

amaçla, araştırmacılar birçok malzemeyi elektrot modifikasyonunda kullanmışlardır. Bu malzemeler içerisinde, iletken polimerlerden biri olan polianilin (PANI), düşük maliyet, çevresel kararlılık, yüksek işlenebilirlik ve ilginç redoks özelliklerinden dolayı biyosensör vb. uygulamalarda yaygın bir şekilde çalışılmıştır [13]. Diğer bir taraftan, karbonun iki-boyutlu tek katmanlı formu olan grafen, mükemmel mekanik, optik, termal ve elektriksel özellikleri nedeniyle bilimsel ve teknolojik uygulamalarda oldukça fazla ilgi gören bir malzemedir [14]. Grafen oksit (GO) ise, yüzeyinde birçok fonksiyonel grubu (karboksil, hidroksil, epoksi, vb.) içeren bir grafen türevidir. Aynı zamanda yüzeyindeki bu fonksiyonel gruplar sayesinde su vb. farklı çözgenlerde dispersiyonu artmakta ve başka moleküllerle etkileşerek kompozit yapısında yeni özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesine olanak vermektedir [15]. GO ve PANI içeren kompozit malzemeler araştırmacılar tarafından yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Bunun nedeni, bu kompozitlerin sinerjik etkiden dolayı her bir bileşenin iyi özelliklerini sergilemesidir. Bu şekilde hazırlanan kompozitler farklı uygulamalar da kullanılmış ve iyi performans sergilediği gözlemlenmiştir [16-17].

Bu çalışmada, kimyasal yöntem ile hazırlanmış GO-PANI nanokompoziti kullanılarak biyosensör geliştirilmiş ve glukoz tayini için kullanılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Kullanılan Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan grafen oksit Hummers metodu ile [18] ve GO-PANI nanokompoziti kimyasal yöntemle Gui ve ark. [19] tarafından önerilen yöntemle göre hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar; glukoz oksidaz (Tip VII, Aspergillus niger), glutraldehit (GA) (suda %25'lik), glukoz, sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve di-sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir.

Biyosensörün Hazırlanması

GO-PANI nanokompoziti 5 mg/mL olacak şekilde etanol içerisinde ultrasonik banyoda dispers edilmiştir. Bu karışımdan 10 μL alınarak Pt elektrodu üzerine damlatılmış ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. GO-PANI kaplı elektrot tampon çözelti ile yıkanmış ve üzerine 10 μL %2.5'lik GA çözeltisi damlatılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Bu şekilde hazırlanan elektrot tampon çözelti ile üç kez yıkanmış ve 5 mg/mL GOD enzim çözeltisinde 3 saat bekletilmiştir. Tutuklanmayan enzim moleküllerini uzaklaştırmak için elektrot tampon çözeltisi ile üç kez yıkanmış ve tampon çözeltisine daldırılarak $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında 30 dakika bekletilmiştir. Bu şekilde Pt/GO-PANI/GOD biyosensör elektrodu hazırlanması tamamlanmıştır. Biyosensör elektrodu kullanılmadığı durumlarda $+4^\circ\text{C}$ 'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Elektrokimyasal Ölçümler

Elektrokimyasal ölçümler için potansiyostat/galvanostat cihazı (Ivium CompactStat, Ivium Technologies, Hollanda) kullanılmıştır. Biyosensörün elektrokimyasal davranışlarını ve glukozu karşı tepkisi üç elektrotlu elektrokimyasal sistem kullanılarak incelenmiştir. Bu sistemde, karşı elektrot olarak Pt tel, referans elektrot olarak Ag/AgCl ve çalışma elektrodu olarak platin elektrot kullanılmıştır. Ölçümlerde pH'sı 6.7 olan 0.1 M fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Potansiyelin Akım Cevabı Üzerindeki Etkisi

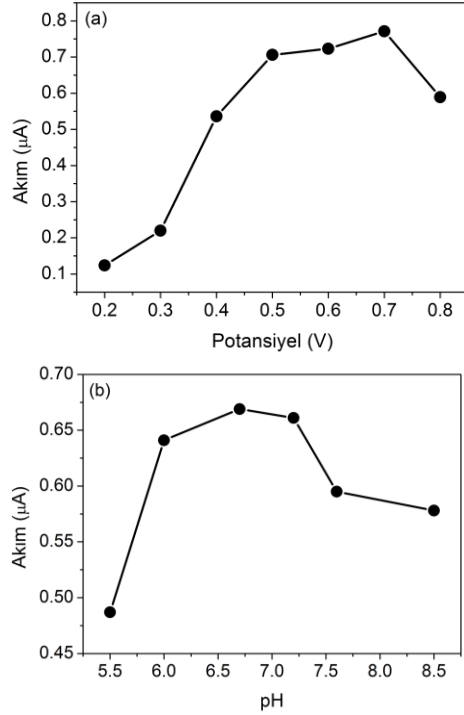
Uygulanan potansiyelin biyosensörün performansı üzerindeki etkisini incelemek için farklı potansiyellerde ölçümler gerçekleştirilmiş ve uygulanacak potansiyel optimize edilmiştir. Şekil 1a, 0.6 mM glukoz için 0.2'den 0.7 V'a kadar uygulanan potansiyele karşılık biyosensörden elde edilen akım değişimlerini göstermektedir. Akım değişimlerinden de görüldüğü gibi uygulanan potansiyel arttıkça akım artmakta ve 0.8 V'dan itibaren düşmektedir. Potansiyel yüksek olduğunda gerçek örneklerde glukozun yanında bulunabilen askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) gibi elektroaktif türler girişim yapabilmektedir. Bundan dolayı, çalışmalarda 0.5 V gibi düşük bir uygulama potansiyeli kullanılmıştır.

pH Değerinin Akım Cevabı Üzerindeki Etkisi

Pt/GO-PANI elektroduna immobilize edilmiş GOD enziminin aktivitesi ayrıca tampon çözeltinin pH'sına da bağlıdır. Şekil 1b, farklı pH'larda 0.6 mM glukoz için elde edilen akım değişimlerini göstermektedir. Aynı glukoz konsantrasyonuna karşı biyosensörden elde edilen en yüksek akım değişimi pH 6.7'de elde edilmiştir. Bundan dolayı, çalışmalarda pH'sı 6.7 olan fosfat tampon çözeltisi kullanılmıştır.

Glukozun Amperometrik Tayini

Şekil 2a, optimize edilen koşullar altında standart glukoz eklemeye karşılık geliştirilen biyosensörün tipik akım-zaman grafiğini göstermektedir. Sabit karıştırma altında bulunan tampon çözeltiye 100 µL 60 mM glukoz çözeltisi eklendiğinde akım hızlı bir şekilde belli bir değere çıkmakta ve belli bir sabit değerde durmaktadır. Bu şekilde akımda artış olmayana kadar eklemeye devam edilir. Şekil 2b ise, eklenen glukoz konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak biyosensörün kalibrasyon grafiğini göstermektedir.



Şekil 1. (a) Uygulanan potansiyelin biyosensör cevabı üzerindeki etkisi, (b) pH'nın etkisi

Akım cevabı glukoz konsantrasyonu arttıkça lineer bir şekilde artmakta ve kademeli olarak yüksek konsantrasyonlarda sabit bir değere ulaşmaktadır. Bu durum, belli bir glukoz konsantrasyonundan sonra enzimin aktif bölgelerinin doygunluğa ulaştığını göstermektedir. Kalibrasyon grafiğinden lineer çalışma aralığı 0.59-9.15 mM olarak belirlenmiş ve korelasyon katsayısı (R^2) 0.995 olarak hesaplanmıştır. Biyosensörün hassasiyeti lineer bölgenin eğiminden $36.11 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ olarak bulunmuştur. Biyosensörün tayin limiti (LOD) eşitlik 1'e göre 0.24 mM olarak belirlenmiştir. Bu eşitlikte, SD kör tampon çözeltinin (glukoz içermeyen) 0.5 V'daki akım değerlerinin standart sapmasını ($N=10$) ve hassasiyet kalibrasyon grafiğinin lineer bölgesinden hesaplanan hassasiyeti ifade etmektedir.

$$LOD = \frac{3SD}{Hassasiyet} \quad (1)$$

Görünür Michaelis-Menten sabiti (K_m) enzim-substrat etkileşimi hakkında bilgi vermekte ve genellikle immobilize edilmiş enzimin biyolojik aktivitesini belirlemek için kullanılmaktadır. Amperometrik metod ile K_m değerini bulmak için Lineweaver-Burk grafiğinden [20] türetilen eşitliğin eğim ve y-kesen değerlerinden faydalanılmıştır. Lineweaver-Burk eşitliği;

$$\frac{1}{I} = \frac{K_m}{I_{max}} \frac{1}{C} + \frac{1}{I_{max}} \quad (2)$$

şeklinde. Bu eşitlikte, I ; substrat ekledikten sonra elde edilen akım değerini, c ; substrat konsantrasyonunu ve I_{max} ; doygun substrat konsantrasyonunda ölçülen maksimum akım değerini ifade etmektedir. Pt/GO-PANI/GOD biyosensörü için K_m değeri 55.3 mM olarak belirlenmiştir. Düşük K_m değeri, GOD'ın biyolojik aktivitesini çok fazla bozmadan immobilize olduğunu ve elektrot modifikasyonunda kullanılan malzeme ile biyoyumlu olduğunu göstermektedir. Ancak, bu çalışmada belirlenen K_m değeri, GOD'ın çözeltideki değerinden (27 mM) biraz büyüktür [21]. Immobilizasyon işlemi için çapraz bağlayıcı kullanılması Pt/GO-PANI/GOD biyosensörünün daha yüksek K_m değeri sergilemesine neden olabilir.

Geliştirilen glukoz biyosensörü benzer çalışmalar ile karşılaştırılmış ve elde edilen bulgular Tablo 1'de verilmiştir. Daha önceki çalışmalarla kıyaslandığında bu çalışmada geliştirilen glukoz biyosensörünün daha yüksek hassasiyet sergilediği görülmüştür. Örnek olarak, Feng ve ark. elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi ile grafen ve polianilin nanokompoziti hazırlamış ve üzerine kitosan-glukoz oksidaz (CS-GOD) çözeltisi kullanılarak GOD immobilize etmiştir [22]. Bu şekilde hazırlanan biyosensör 0.01-1.48 mM lineer tayin aralığında $22.1 \mu A mM^{-1} cm^{-2}$ hassasiyet sergilemiştir. Başka bir çalışmada ise, altın nanoparçacıkları içeren grafen-polianilin biyokompozit ile modifiye edilmiş karbon elektrot üzerine çapraz bağlayıcı ile GOD immobilize edilerek bir glukoz biyosensörü geliştirilmiş ve bu biyosensörün 0.01-1.48 mM çalışma aralığında $20.32 \mu A mM^{-1} cm^{-2}$ hassasiyete sahip olduğu bulunmuştur [23]. Unnikrishnan ve ark., elektrokimyasal yöntemle elektrot üzerinde grafen oksitini indirgeyerek indirgenmiş grafen oksit-glukoz oksidaz (RGO-GOD) bazlı biyosensör hazırlamıştır [25]. Bu biyosensörün hazırlanması basit bir yaklaşımla gerçekleştirilmiş olsa da hassasiyet çok düşük olup $1.85 \mu A mM^{-1} cm^{-2}$ olarak belirlenmiştir.

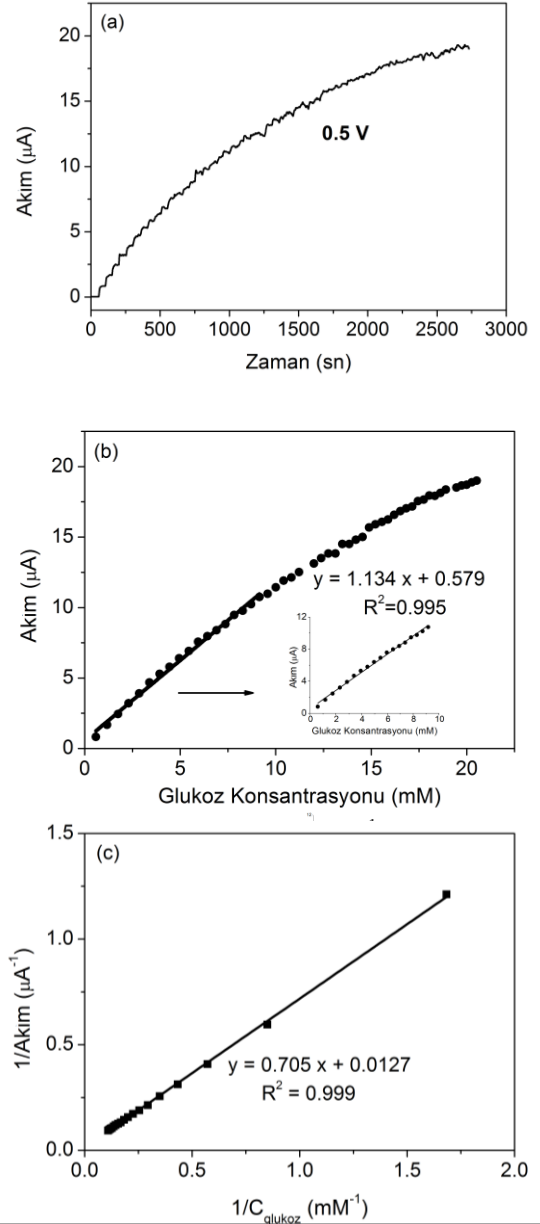
Girişim Etkisi

Glukozun bulunduğu örneklerde yaygın olarak bulunabilen elektroaktif türler olan askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) gibi maddelerin girişim etkileri incelenmiştir. Şekil 3, 0.6 mM glukoz, 0.1 mM askorbik asit ve 0.1 mM ürik asit eklemelerine karşılık biyosensörün cevabını göstermektedir. AA ve UA'ye karşı biyosensörün herhangi bir akım değişimi göstermemesi hazırlanan biyosensörün glukozu seçici olduğunu göstermektedir.

Biyosensörün Kararlılığı

Biyosensör çalışmalarında kararlılık önemli bir parametredir. Bundan dolayı, geliştirilen glukoz biyosensörü farklı günlerde 0.6 mM glukozu karşı cevabı incelenmiş ve elde edilen veriler Şekil 4'de verilmiştir. 20

günlük kullanımın sonunda biyosensörün aynı glukoz derişimine karşı gösterdiği akım değerinde sadece %30'luk bir düşüş olduğu bulunmuştur.

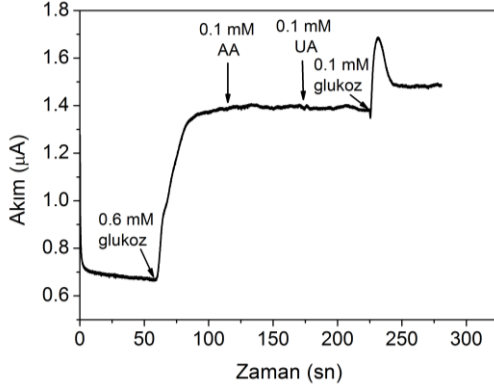


Şekil 2. Standart glukoz çözeltisi eklemeye karşı biyosensörün kronoamperometrik cevabı (a), kalibrasyon grafiği (b) ve Lineweaver-Burk grafiği (c)

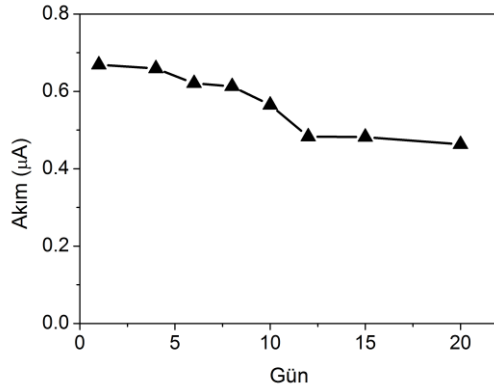
Tablo 1. Glukoz biyosensörlerinin karşılaştırılması

Biyosensör	Hassasiyet ($\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	Tayin Limiti (mM)	Lineer Tayin Aralığı (mM)	Kaynak
GO-PANI/GOD	36.11	0.24	0.59-9.15	Bu çalışma
GR-PANI/CS-GOD	22.10	0.0028	0.01-1.48	[22]
GR/PANI/AuNPs/GOD	20.32	0.10	0.2-11.2	[23]
PANI-PEO/GOD	16.04	0.82	1-10	[24]
RGO/GOD	1.85	-	0.1 - 27	[25]

GOD: glukoz oksidaz, GO: grafen oksit, PANI: polianilin, GR: grafen, RGO: indirgenmiş grafen oksit, CS: kitosan AuNPs: altın nanopartikülleri, PEO: poli(etilen oksit)



Şekil 3. Glukoz, askorbik asit (AA) ve ürik asit (UA) eklemeye karşı biyosensörün kronoamperometrik cevabı



Şekil 4. GO-PANI bazlı glukoz biyosensörünün kararlılığı

SONUÇ

Pt elektrot grafen oksit-polianilin nanokompoziti ile modifiye edilmiş, nanokompozite glukoz oksidaz (GOD) enzimi immobilize edilerek amperometrik glukoz biyosensörü (Pt/GO-PANI/GOD) geliştirilmiştir. Optimum çalışma koşullarında, Pt/GO-PANI/GOD biyosensörü 0.59-9.15 mM lineer çalışma aralığına, 36.11 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ hassasiyete ve 0.24 mM tayin limitine sahip olduğu belirlenmiştir. Geliştirilen biyosensörün benzer çalışmalar ile kıyaslandığında daha yüksek hassasiyet sergilediği görülmüştür. Biyosensörün glukozu karşı oldukça seçici olduğu ve kararlılığını, 20 günün sonunda sadece %30'luk akım kaybıyla, uzun süre koruduğu bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Mello, L.D., Kubota, L.T., 2002. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry* 77: 237-256.
- [2] Borisov, S.M., Wolfbeis, O.S., 2008. Optical Biosensors. *Chemical Reviews* 108: 423-461.
- [3] Luong, J.H.T., Bouvrette, P., Male, K.B., 1997. Developments and applications of biosensors in food analysis. *Trends in Biotechnology* 15: 369-377.
- [4] McGrath, T.F., Elliott, C.T., Fodey, T.L., 2012. Biosensors for the analysis of microbiological and chemical contaminants in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403: 75-92.
- [5] Ayenimo, J.G., Adeloju, S.B. 2017. Amperometric detection of glucose in fruit juices with polypyrrole-based biosensor with an integrated permselective layer for exclusion of interferences. *Food Chemistry* 229: 127-135.
- [6] Boujtita, M., Boitard, M., El Murr, N., 1999. Development of renewable surface biosensors to meet industrial needs for measurement of glucose in fruit juices. *Biosensors and Bioelectronics* 14: 545-553.
- [7] Ocvirk, G., Buck, H., DuVall, S.H., 2017. Electrochemical glucose biosensors for diabetes care. *Bioanalytical Reviews* 6.
- [8] Marquette, C.A., Degiuli, A., Blum, L.J., 2003. Electrochemiluminescent biosensors array for the concomitant detection of choline, glucose, glutamate, lactate, lysine and urate. *Biosensors and Bioelectronics* 19: 433-439.
- [9] Wang, J., 2008. Electrochemical glucose biosensors. *Chemical Reviews* 108: 814-825.
- [10] Hong, S.G., Kim, J.H., Kim, R.E., Kwon, S.J., Kim, D.W., Jung, H.T., Dordick, J.S., Kim, J., 2016. Immobilization of glucose oxidase on graphene oxide for highly sensitive biosensors. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 21: 573-579.
- [11] Ekanayake, E.M.I.M., Preethichandra, D.M.G., Kaneto, K., 2008. Effect of glucose oxidase immobilizing techniques on performances of nano scale polypyrrole glucose biosensors. *Japanese Journal of Applied Physics* 47: 1321-1324.
- [12] Schuhmann, W., Huber, J., Mirlach, A., Daub, J., 1993. Covalent binding of glucose oxidase to functionalized polyazulenes. The first application of polyazulenes in amperometric biosensors. *Advanced Materials* 5: 124-126.

- [13] Stejskal, J., Gilbert, R.G., 2002. Polyaniline. Preparation of a conducting polymer (IUPAC Technical Report). *Pure Applied Chemistry* 74: 857–867.
- [14] Geim, A.K., 2009. Graphene: status and prospects. *Science* 324: 1530–1534.
- [15] Chen, D., Feng, H., Li, J., 2012. Graphene oxide: Preparation, functionalization, and electrochemical applications. *Chemical Reviews* 112: 6027-6053.
- [16] Xu, G., Wang, N., Wei, J., Lv, L., Zhang, J., Chen, Z., Xu, Q., 2012. Preparation of graphene oxide/polyaniline nanocomposite with assistance of supercritical carbon dioxide for supercapacitor electrodes. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 51: 14390-14398.
- [17] Yang, Y., Kang, M., Fang, S., Wang, M., He, L., Zhao, J., Zhang, H., Zhang, Z., 2015. Electrochemical biosensor based on three-dimensional reduced graphene oxide and polyaniline nanocomposite for selective detection of mercury ions. *Sensors and Actuators, B: Chemical* 214: 63-69.
- [18] Hummers, W.S., Offeman, R.E., 1958. Preparation of Graphitic Oxide. *Journal of the American Chemical Society* 80: 1339-1339.
- [19] Gui, D., Liu, C., Chen, F., Liu, J., 2014. Preparation of polyaniline/graphene oxide nanocomposites for the application of supercapacitor. *Applied Surface Science* 307: 172-177.
- [20] Kamin, R.A., Wilson, G.S., 1980. Rotating ring-disk enzyme electrode for biocatalysis kinetic studies and characterization of the immobilized enzyme layer. *Analytical Chemistry* 52: 1198-1205.
- [21] Rogers, M.J., Brandt, K.G., 1971. Interaction of d-glucal with *Aspergillus niger* glucose oxidase. *Biochemistry* 10: 4624–4630.
- [22] Feng, X., Cheng, H., Pan, Y., Zheng, H., 2015. Development of glucose biosensors based on nanostructured graphene-conducting polyaniline composite. *Biosensors and Bioelectronics* 70: 411-417.
- [23] Kong, F.Y., Gu, S.X., Li, W.W., Chen, T.T., Xu, Q., Wang, W., 2014. A paper disk equipped with graphene/polyaniline/Au nanoparticles/glucose oxidase biocomposite modified screen-printed electrode: Toward whole blood glucose determination. *Biosensors and Bioelectronics* 56: 77-82.
- [24] Hansen, B., Hocesvar, M.A., Ferreira, C.A., 2016. A facile and simple polyaniline-poly(ethylene oxide) based glucose biosensor. *Synthetic Metals* 222: 224-231.
- [25] Unnikrishnan, B., Palanisamy, S., Chen, S.M., 2013. A simple electrochemical approach to fabricate a glucose biosensor based on graphene-glucose oxidase biocomposite. *Biosensors and Bioelectronics* 39(1): 70-75.
- [26] Çoğal, S., Şen Gürsoy, S., Çelik Çoğal, G., Gürsoy, O., 2016. Sütte laktöz tayini için biyosensörlerin kullanımı. *Akademik Gıda* 14(1): 33-42.
-

Yaban Mersini İlaveli Muffin Keklerin Bazı Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Özellikleri

Fatma Işık¹, Ünkan Urgancı¹, Figen Turan²

¹Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kınıklı Kampüsü, Denizli
²Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Kınıklı Kampüsü, Denizli

Geliş Tarihi (Received): 03.04.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 20.06.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fisik@pau.edu.tr (F. Işık)

☎ 0 258 296 31 11 📠 0 258 296 32 62

Öz

Yaban mersini (*Vaccinium sp.*), antioksidan aktiviteye katkı sağlayan fenolik maddeler ve diyet lifi yönünden zengin bir meyve çeşidi olması nedeniyle sağlıklı diyetin bir parçası olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada muffin keklerine, miks ağırlığı üzerinden %8, %16 ve %24 oranlarında yaban mersini ilave edilmesinin keklerin bazı kimyasal, fiziksel ve duyusal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada yaban mersini ilavesiyle keklerin çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde önemli ($p<0.05$) artışların olduğu bulunmuştur. Çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi oranları kontrol keklerde sırasıyla %0.94, %0.21 ve %1.15 iken %24 yaban mersini ilaveli keklerde sırasıyla %2.81, %3.47 ve %6.28'e yükselmiştir. Toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri de kontrol kekler için sırasıyla 44.97 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/ 100g ve 2.3 μ mol Trolox eşdeğeri (TE)/ 100g, %24 yaban mersini ilaveli kekler için ise 107.14 mg GAE/ 100g ve 18.22 TE/ 100g olarak tespit edilmiştir. Yaban mersini oranındaki artış keklerin dış *L* ve *b* renk değerlerinde azalmaya ($p<0.05$) neden olurken *a* değerinde önemli bir değişim saptanmamıştır. İç renkte ise keke ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça *L* ve *b* değerlerinin yine azaldığı, *a* değerinin ise arttığı ($p<0.05$) tespit edilmiştir. Çalışmada %24 yaban mersini ilaveli kekin spesifik hacim değerinin diğerlerinden önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu, ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin hacim indeksi değerlerinin önemli derecede ($p<0.05$) azalma gösterdiği de tespit edilmiştir. Tüm keklerin simetri indeksi ve uniformite indeksi değerleri ise benzer bulunmuştur ($p>0.05$). Genel beğeni açısından tüm kekler benzer ($p>0.05$) puanlar almış olsalar da %24 yaban mersini ilaveli keklerde tekstür ve çiğnenebilirlik puanlarında meydana gelen önemli ($p<0.05$) düşüşten dolayı yaban mersini ilave oranında %24'ün üzerine çıkılmaması tavsiye edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Kek, Yaban mersini, Antioksidan aktivite, Diyet lifi, Duyusal

Some Chemical, Physical and Sensory Properties of Muffin Cakes with Blueberries (*Vaccinium sp.*)

ABSTRACT

Blueberries (*Vaccinium corymbosum L.*) are considered to be a part of a healthy diet owing to their content of phenolic compounds and dietary fiber. In this study, blueberries (8, 16 and 24%) were added to muffin cake mixes and the effects of blueberries addition to some chemical, physical and sensory properties of cakes were investigated. The soluble dietary fiber, insoluble dietary fiber, total dietary fiber, total phenolic contents and antioxidant activity values of cakes increased by an increase in the amount of blueberries in cake formulations ($p<0.05$). Soluble, insoluble and total dietary fiber contents of control cakes were 0.94, 0.21 and 1.15% respectively and these contents increased to 2.81%, 3.47% and 6.28% in cakes with 24% blueberries. Total phenolic contents and antioxidant activity values of were 44.97 mg GAE/ 100g and 2.3 μ mol TE/ 100g in control cakes and 107.14 mg GAE/ 100g and 18.22 TE/ 100g in

cakes with 24% blueberries, respectively. Crust *L* and *b* values of cakes reduced ($p<0.05$) by an increase in the blueberries contents of cakes while crust *a* value was not affected ($p>0.05$). On the other hand, crumb *a* value increased ($p<0.05$) by the addition of blueberries while crumb *L* and *b* values were decreased ($p<0.05$). Cakes with 24% blueberries had lower ($p<0.05$) specific volumes than others, and volume index values decreased ($p<0.05$) by increasing blueberries contents in cakes. All cakes had similar ($p>0.05$) symmetry and uniformity indices. Although the samples liked equally ($p>0.05$) by the panelists in terms of overall acceptability, cakes with 24% blueberries had lower ($p<0.05$) scores in texture and chewiness. In conclusion, it is recommended not to exceed 24% blueberries content in cake formulations.

Keywords: Cake, Blueberries, Antioxidant activity, Dietary fiber, Sensory

GİRİŞ

İnsanların doğal metabolizmasında enerji kaynağı olan karbonun oksijenle yanması sonucunda karbondioksitin yanı sıra bir kısım oksijenin tam olarak reaksiyona girmemesi sonucunda oluşan ve serbest radikal olarak adlandırılan bileşikler ortaya çıkmaktadır [1]. Serbest radikaller son derece reaktif ara ürünlerdir ve reaktif oksijen türleri/metabolitleri olarak bilinen bu moleküller küçük boyutları ve yüksek enerjileriyle hücresel makromolekülleri okside edebilmektedirler. Çok sayıda hücresel komponentin kontrolsüz oksidasyonu söz konusu olursa, bu durum oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif stres lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmaya neden olabilir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının, yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, aralıklı topallama, katarakt, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, immun sistem bozuklukları, aşırı trombosit kümelenmesi, kanser oluşumu) ilerlemesinde önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Günümüzde ellinin üzerinde hastalığın oksidatif stresle ilgili olduğu bildirilmektedir [2-4].

Serbest radikaller radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, stres, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları vb. dış kaynaklı etkenlerin etkisiyle de oluşabilmektedir [5]. Serbest radikalleri ve bunların meydana getirdiği zararları önleyen maddeler antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri tutarak, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel bazda engellemektedirler [6]. Bazı meyve ve sebzeler iyi birer doğal antioksidan kaynağıdır [7, 8]. Meyvelerde yapılan çalışmalarda üzümü meyveler, kirazgiller, turunçgiller, kivi, kuru erik ve zeytinde önemli miktarda antioksidanların bulunduğu bildirilmiştir [2, 7].

Üzümsü meyvelerden yaban mersini (*Vaccinium sp.*), antioksidan aktiviteye katkı sağlayan antosiyanin, kuersetin, kamferol, mirisetin, klorojenik asit ve prosiyanidin gibi fenolik maddeler yönünden zengin bir meyve çeşididir [9]. Yapılan bazı çalışmaların sonuçları yaban mersininin yaş ağırlık bazında toplam fenolik madde içeriğinin 44.40-819.12 mg gallik asit/100g,

antioksidan aktivite değerinin ise 1140-7600 μmol Trolox/100g olduğunu göstermektedir [10-15].

Yaban mersini diyet lifi içeriği açısından da zengin bir meyvedir. Diyet lifi, insan ince bağırsağında emilime ve sindirime dirençli, kalın bağırsakta tamamen veya kısmen fermente olabilen, bitkilerin yenilebilir kısımları veya karbonhidrat analoglarıdır. Yeterli diyet lifi tüketiminin kabızlık, hemoroit gibi bağırsak hastalıklarını hafifletebileceği veya önleyebileceği, kalın bağırsak kanserini önleyebileceği, göğüs, prostat ve diğer kanser türlerine karşı ise koruyucu olabileceği belirtilmektedir [16-18]. Literatürlerde [19-21] yaban mersininin yaş meyve ağırlığının %2.10-5.04'ü oranında diyet lifi içerdiği bildirilmektedir.

Buğday unundan elde edilen unlu mamuller içerisinde kek önemli bir yer tutmaktadır. Çok genel bir ifade ile kek; un, şeker, yağ, yumurta, kabartma tozu, su, süt, lezzet verici baharat ve çerezler ile gerekli hallerde bazı katkı maddeleri kullanılarak hazırlanan hamurun pişirilmesiyle elde edilen süngerimsi ve yumuşak bir unlu mamul olarak tanımlanabilir. Kekin birçok çeşidi bulunmaktadır ve sevilerek tüketilen bir unlu mamuldür. Kek, unlu mamuller içerisinde ekmek ve bisküviden sonra en çok üretilen üründür ve yaban mersininin keklerde kullanımı üzerine herhangi bir bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır [22, 23, 48].

Bu çalışmada, biyolojik aktiviteye sahip bileşikler açısından zengin bir meyve olan ve kuruyemiş olarak tüketilen yaban mersininin muffin keklerle katılmasıyla elde edilen keklerin bazı kimyasal, fiziksel ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Muffin kek üretiminde kullanılan un (Söke Un, Aydın), yumurta, şeker, mısırözü yağı, süt, yaban mersini ve kabartma tozu Denizli piyasasındaki yerel marketlerden temin edilmiştir. Meyve ilaveli keklerin üretiminde %17.53 nem içeren kurutulmuş yaban mersini kullanılmıştır.

Analizlerde kullanılan metil alkol (kromatografik saflıkta), etil alkol (kromatografik saflıkta), sülfirik asit, kjeldahl tableti, hidroklorik asit, borik asit, gallik asit, brom kresol yeşili, celite, sodyum hidroksit, 2-morfolinoetansülfonik asit (MES), Tris (hidroksimetil) aminometan Merck (Darmstadt, Almanya), 2,2-difenil1-pikrilhidrazil (DPPH),

Folin-Ciocalteu (FC), sodyum karbonat, petrol eteri, Trolox® Sigma-Aldrich (Missouri, ABD), metil kırmızısı Riedel-de Haen (Hannover, Almanya), diyet lifi kiti Megazyme (Wicklow, İrlanda) markadır.

Metot

Muffin Keklerin Üretimi

Araştırmada yaban mersini katkısız (kontrol) ve %8, %16 ve %24 yaban mersini ilaveli kekler olmak üzere 4 farklı muffin kek üretilmiştir. Meyveler keke, kek miksi ağırlığı üzerinden %8, %16 ve %24 oranlarında ilave edilmiştir (Tablo 1). Kek miksinin hazırlanma aşamasında öncelikle yumurta ve şeker mutfak robotunda (KMM060 Mutfak Şefi, Kenwood) mikser

fonksiyonunda yüksek devirde 5 dakika çırpılmıştır. Daha sonra mikse un, mısırozü yağı, süt ve kabartma tozu ilave edilmiş ve düşük devirde 3 dakika karıştırılmıştır. Karıştırmanın ardından kontrol keklerde direkt kalıplara tartım aşamasına geçilmiştir. Yaban mersini ilaveli keklerde ise 3.00 ± 0.5 mm tanecik boyutuna küçültülmüş yaban mersini ilave edilip karıştırıldıktan sonra kalıplara tartım gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kek miksleri taban çapı 55 mm olan özel kek kalıplarına 50'şer g olarak tartılarak 170°C 'de 23 dakika pişirme işlemine (Özköseoğlu PFS-G, İstanbul, Türkiye) tabi tutulmuştur. Pişen kekler oda koşullarında soğutulduktan sonra kalıplardan çıkartılmış, fermuarlı plastik poşetlere (Koroplast, İstanbul) yerleştirildikten sonra analizlerde kullanılmak üzere oda koşullarında bekletilmiştir.

Tablo 1. Muffin keklerin formülasyonları (%)

Bileşenler (g)	Kontrol	YM8*	YM16**	YM24***
Un	31.5	31.5	31.5	31.5
Yumurta	24.6	24.6	24.6	24.6
Şeker	21.0	21.0	21.0	21.0
Mısırozü yağı	14.8	14.8	14.8	14.8
Süt	6.3	6.3	6.3	6.3
Yaban mersini	-	10.0	20.0	30.0
Kabartma tozu	1.8	1.8	1.8	1.8

*YM8: %8 Yaban mersini ilaveli kekler, **YM16: %16 Yaban mersini ilaveli kekler, ***YM24: %24 Yaban mersini ilaveli kekler

Kimyasal ve Fiziksel Analizler

Keklerin nem, kül, protein ve yağ içerikleri AOAC 934.01, 942.05, 988.05 ve 954.02'ye [24] göre belirlenmiştir. Çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi içerikleri AOAC 991.43 ve AACC 32-07 [25] metoduna uygun olarak, α -amilaz, proteaz ve amiloglikozidaz enzimlerini içeren Megazyme (Megazyme International Ireland Ltd, Wicklow, İrlanda) toplam diyet lifi analiz kiti kullanılarak analiz edilmiştir [26].

Toplam fenolik madde tayini FC metodu [27], antioksidan aktivite tayini de DPPH metodu [28] ile yapılmıştır. Bu analizler için öncelikle kek numunelerinden ekstraktlar hazırlanmıştır: Öğütülen kek örnekleri 1:10 (w/v) oranında su:metanol (30:70, v/v) karışımıyla karıştırılmış ve elde edilen karışım, ultrasonik su banyosunda (Elma E 60 H, New Jersey, ABD) 10 dakika, orbital çalkalayıcıda (WiseShake SHO-1D, Wertheim, Almanya) 15 dakika süreyle oda koşullarında karıştırıldıktan sonra, 4°C sıcaklığında 26,000g değerinde 20 dakika santrifüj (Hettich, Universal 30 RF, Massachusetts, ABD) edilmiştir. Üstteki berrak süpernatant cam pastör pipetleriyle kahverengi şişelere aktarıldıktan sonra santrifüj tüplerinin dibinde kalan çökeltiyeye ekstraksiyon işlemi aynı şekilde bir kez daha tekrarlanmıştır. Toplanan süpernatantlar analize kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir.

Toplam fenolik madde analizinde kalibrasyon eğrisi 5-100 mg/L konsantrasyon aralığındaki gallik asit çözeltileri kullanılarak çizilmiştir. Örneklerin analizinde 1 mL örnek ekstraktı 5 mL 1:10'luk (v/v) FC çözeltisi ve 4

mL 75g/L'lik Na_2CO_3 ile karıştırılmıştır. Karışımlar oda sıcaklığında karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra spektrofotometrede (T80 UV/VIS Spectrometer, PG Instruments Ltd., Leicestershire, İngiltere) 760 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Her 100 g kuru örnekteki toplam fenolik madde içeriği mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır.

Antioksidan aktivite tayininde kalibrasyon eğrisi 10-50 μM aralığındaki Trolox® çözeltileri kullanılarak oluşturulmuştur. 24 mg DPPH'in 100 mL'ye metanolle tamamlanmasıyla elde edilen stok çözeltisi kullanılabilece kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir. Çalışma çözeltisi, spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda absorbans değeri 1.1 ± 0.02 olacak şekilde, stok çözeltinin metanol ile karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Analizde; 150 μL kek ekstraktı 2850 μL DPPH çözeltisi ile karıştırılıp oda sıcaklığında karanlıkta 24 saat bekletildikten sonra 515 nm dalga boyunda absorbanslar ölçülmüştür. Sonuçlar μmol Trolox® eşdeğeri (TE)/100g kuru madde esas alınarak hesaplanmıştır.

Keklerin dış ve iç renk değerleri (Hunter L [0-100= koyuluk-açıklık], a [a+= kırmızı, a-= sarı] ve b [b+= sarı, b-= mavi]) Hunter-Lab Mini Scan XE renk ölçüm cihazı (Reston, VA, ABD) ile ölçülmüştür [29]. Keklerin hacim değerleri kolza tohumları ile yer değiştirme esasına göre belirlenmiştir. Hacmin ağırlığa oranlanmasıyla da spesifik hacim (mL/g) değerleri elde edilmiştir. Yapısal özelliklerin ortaya konmasında hacim, simetri ve uniforme indeksleri ile büzülme değerleri AACC 10-91 [30] metodu kullanılarak kek kalıbı ölçülerine göre düzenlenmiş cetvelden mm cinsinden belirlenmiştir.

Duyusal Analizler

Duyusal analize, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi öğrencileri, idari personeli ve öğretim elemanlarının oluşturduğu, 40 kişilik panelist grubu kullanılmıştır. Panelist grubunun 22'si bayan 18'i erkek olup, %40'ını 18-25 yaş aralığı, %38'ini 26-40 yaş aralığı ve %22'sini 40 yaş üstü panelistler oluşturmuştur. Panelistler kekleri dış renk, iç renk, tekstür, koku, lezzet, çiğnenebilirlik ve genel beğeni özellikleri bakımından hedonik skalada 1'den 7 puana (1: Aşırı kötü, 2: Çok kötü, 3: Kötü, 4: Orta, 5: İyi, 6: Çok iyi, 7: Mükemmel) kadar olan aralıkta değerlendirmiştir. Kekler sunumdan önce rastgele seçilen, 3'er basamaklı sayılarla kodlanmıştır. Her örnek grubu test edildikten sonra bir sonraki test için ağız içinin nötrlenmesi amacıyla tuzsuz ekmelekle su kullanılması önerilmiştir.

İstatiksel Analizler

Yaban mersini ilavesinin keklerin bazı özelliklerine etkisinin belirlenebilmesi amacıyla sonuçlara "Minitab 13 Statistical Software" (Minitab Inc., Coventry, İngiltere) programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testi ($\alpha=0.05$) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Yaban Mersininin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Meyveli keklerin formülasyonunda kullanılan yaban mersininin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 2'de verilmiştir.

Parametre	Yaban mersini
Kimyasal Özellikler ^a	
Protein (%)	0.39
Yağ (%)	0.96
Toplam diyet lifi (%)	14.04
Çözünür diyet lifi (%)	2.75
Çözünmeyen diyet lifi (%)	11.29
Kül (%)	0.363
Toplam fenolik madde (mg GAE/ 100g)	153.28
Antioksidan aktivite ($\mu\text{mol TE/ 100g}$)	31.42
Fiziksel Özellikler	
L	18.90
a	4.97
b	2.40

^a: Sonuçlar kurumadde üzerinden verilmiştir.

Araştırmacıların farklı ülkelerde yetişen ve farklı türlere de ait olan taze yaban mersini meyvelerini inceledikleri çalışmalarda [31-35] yaban mersininin kuru esasa göre protein içeriği %0.88-4.13, yağ içeriği %0.47-2.60, kül içeriği de %0.65-2.12 bulunmuştur. Yapılan çalışmada tespit edilen protein ve kül oranları literatürde bulunan sınırların altında kalırken yağ oranı literatürdeki aralığa girmektedir. Çalışma bulgularındaki farklılıkların iklim, coğrafya, tarımsal uygulamalar, gıda türlerinin genetik özellikleri, meyvenin olgunluk düzeyi gibi bazı faktörlerin etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir [36, 37].

Önceki çalışma sonuçları [10-15] yaban mersininin yaş ağırlık bazında toplam fenolik madde içeriğinin 44.40-819.12 mg GAE/ 100g, antioksidan aktivite değerinin ise 1140 - 7600 $\mu\text{mol TE/ 100g}$ olduğunu göstermektedir. Literatürde [10, 33] yaş yaban mersini meyvesinin %12.3-17.7 kuru madde içerdiği görülmektedir. Kuru madde içeriğinin ortalama %15.00 kabul edilmesiyle yapılacak hesaplamayla yaban mersini meyvesinin kuru esasa göre toplam fenolik madde içeriğinin 296.00-5460.80 mg gallik asit/100g, antioksidan aktivite değerinin 7600.00- 50666.66 $\mu\text{mol Trolox/100g}$ olduğu bulunur. Karşılaştırma yapıldığında bu çalışmada kullanılan kurutulmuş yaban mersini meyvesinde elde edilen değerlerin, özellikle de antioksidan aktivite değerinin, diğer literatür bulgularından oldukça düşük

olduğu görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda [38-43], farklı kurutma metotları ile sıcaklıklarının uygulanması, kurutulmuş ve yarı kurutulmuş ürünlerin farklı sıcaklık ve sürelerle farklı su aktivitesi değerlerinde depolanması gibi uygulamaların meyve sebzelerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde değişen oranlarda düşümlere neden olduğu tespit edilmiştir.

Kaynaklarda [19-21] yaban mersininin yaş meyve ağırlığının % 2.10-5.04'ü oranında diyet lifi içerdiği verilmiştir. Yaş yaban mersini meyvesinin kuru madde içeriğinin ortalama %15.00 kabul edilmesiyle yapılacak hesaplamaya göre yaban mersini meyvesinin diyet lifi oranı kuru esasa göre % 14.00-33.60'a karşılık gelmektedir. Bu çalışmada kullanılan yaban mersininin toplam diyet lifi oranı da %14.04 bulunmuştur ve bu değer literatürdeki aralıkla uyumludur.

Keklerin Bazı Kimyasal Özellikleri

Üretilen muffin keklerin protein, yağ, çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi ile kül oranları Tablo 3'te verilmiştir. Yaban mersininin düşük protein, yağ ve kül içeriğiyle (Tablo 2) ilişkili olarak keklere ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin protein, yağ ve kül içerikleri önemli ($p<0.05$) derecede düşüş göstermiştir.

Tablo 3. Yaban mersini ilave edilen keklerin bazı kimyasal özellikleri ^{a,b}

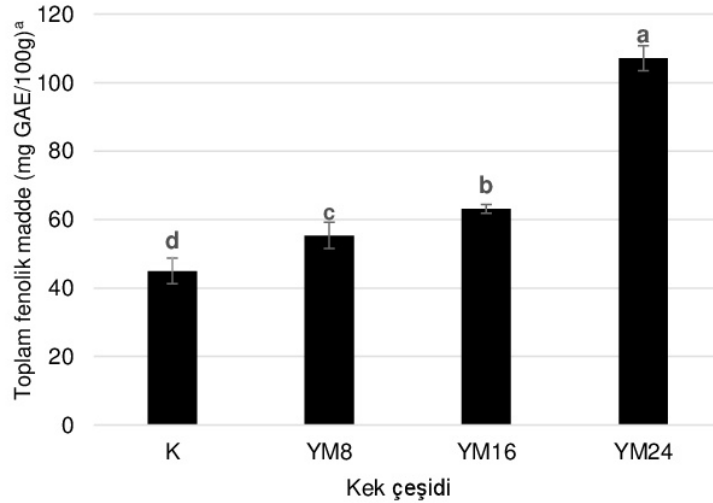
Parametre	K	YM8	YM16	YM24
Protein (Nx5.7) (%)	7.81±0.09a	7.09±0.19b	6.43±0.13c	4.63±0.42d
Yağ (%)	23.90±0.34a	22.56±0.30b	21.16±0.21c	20.79±0.18c
Toplam diyet lifi (%)	1.15±0.08d	4.27±0.25c	5.51±0.07b	6.28±0.14a
Çözünür diyet lifi (%)	0.94±0.09d	2.02±0.10c	2.41±0.12b	2.81±0.09a
Çözünmeyen diyet lifi (%)	0.21±0.06d	2.25±0.15c	3.10±0.18b	3.47±0.07a
Kül (%)	1.694±0.116a	1.567±0.091ab	1.486±0.082bc	1.359±0.041c

^a: Sonuçlar kurumadde üzerinden verilmiştir.; ^b: Aynı satırda farklı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Sonuçlarda; keklerle ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi oranlarında önemli (p<0.05) artışların olduğu görülmektedir. Bu artışın yaban mersininin diyet lifi içeriğinden (Tablo 2) kaynaklandığı söylenebilir. Gastrointestinal faaliyetlerin normal olması için günlük alınması tavsiye edilen diyet lifi miktarı yetişkinler için 20-35 g veya 1000 kcal için 10-13 g'dır [44]. Diyet lifi tüketmenin yollarından biri kepeği ayrılmamış hububat, baklagil, meyve ve sebzeler gibi diyet lif içeriği doğal olarak zengin gıdaları tüketmek, bir diğeri ise lif içeriği arttırılmış işlenmiş gıdalar geliştirmektir [18]. Yaban mersini ilave edilen keklerin toplam diyet lifi oranları YM8, YM16 ve YM24 için sırasıyla kontrol kekin 2.30, 2.96 ve 3.38 katı olarak saptanmıştır. Yetişkin bir bireyin günlük ortalama 27 g diyet lifi tüketmesi gerektiği dikkate alınarak yapılan hesaplama göre 100g kontrol kek

tüketen bir kişi günlük diyet lifi ihtiyacının %5.59'unu karşılarken, 100g YM8, YM16 veya YM24 tüketen bir kişi günlük ihtiyacının sırasıyla %13.33, 17.07 veya 19.63'ünü karşılayabilmektedir.

Keklere ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri de önemli derecede (p<0.05) artış göstermiştir (Şekil 1 ve 2). Yapılan hesaplamalarda %8, 16 ve 24 yaban mersini ilave edilen keklerin toplam fenolik madde içeriklerinin kontrol kekin sırasıyla 1.23, 1.40 ve 2.38, antioksidan aktivite değerlerinin ise kontrol kekin sırasıyla 2.44, 3.72 ve 7.92 katı olduğu bulunmuştur. Bu sonuçların yaban mersininin, antioksidan aktiviteye katkı sağlayan antosiyaninler, flavonollar, klorojenik asit ve prosiyanidinler gibi fenolik maddeler açısından zengin bir kaynak olmasıyla [9, 13] ilişkili olduğu söylenebilir.

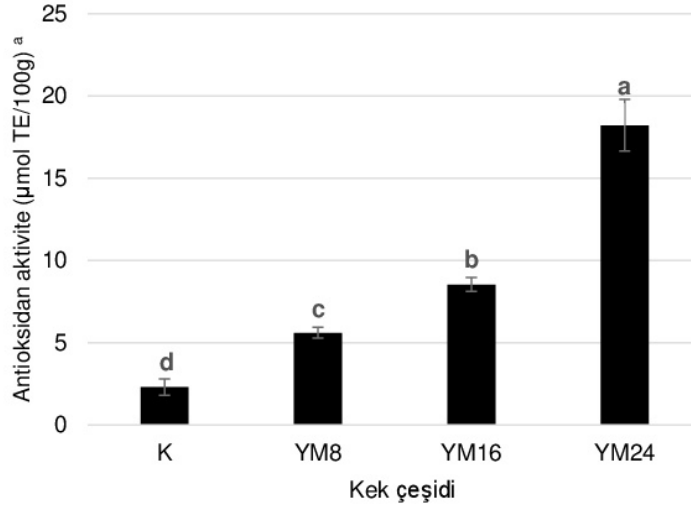


Şekil 1. Yaban mersini ilave edilen keklerin toplam fenolik madde içerikleri (^a: Sonuçlar kurumadde üzerinden verilmiştir.)

Keklerin Bazı Fiziksel Özellikleri

Keklerin dış ve iç renk değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Sonuçlarda dış renk L değeri açısından K, YM8 ve YM16 örneklerinin benzer (p>0.05), YM24'ün ise farklı (p<0.05) olduğu görülmektedir. Ayrıca dış renk b değeri açısından da K'e YM8 örnekleri benzerlik (p>0.05) gösterirken YM16 ve YM24 istatistiksel olarak farklı (p<0.05) ve daha düşük b değerleri göstermiştir. Bu

sonuçlara dayanarak yaban mersini oranındaki artışın keklerin dış renginde koyulaşmaya ve sarılık değerinde azalmaya neden olduğu söylenebilir. Keklerde kullanılan meyve oranı arttıkça keklerin dış kısmına daha fazla meyve denk gelmektedir ve saptanan dış renk değişiminde bu durumun etkili olduğu düşünülmektedir. Keklerin dış a değerlerinin ise benzer (p>0.05) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 2. Yaban mersini ilave edilen keklerin antioksidan aktivite değerleri (a: Sonuçlar kurumadde üzerinden verilmiştir.)

Keke ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin iç rengindeki L ve b değerleri önemli derecede ($p<0.05$) azalmış, a değerleri de önemli derecede ($p<0.05$) artmıştır. İç renkteki bu değişimin nedeninin yaban mersini meyvesinin renginin kontrol kek renginden farklı olmasının yansımaları olduğu söylenebilir. Nitekim kullanılan meyve hammaddesinin renk analizi

sonuçlarından (Tablo 2) meyvenin L ve b değerlerinin K kekin L ve b değerlerinden düşük, a değerinin de K kekin a değerinden yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumda keklerdeki yaban mersini oranı arttıkça belirlenen değişimlerin gerçekleşmesinin olağan olduğu söylenebilir.

Tablo 4. Keklerin dış ve iç renk değerleri^a

Kek çeşidi	Dış renk			İç renk		
	L	a	b	L	a	b
K	36.24±0.83a	14.38±0.13a	16.86±0.13a	59.14±0.74a	3.58±0.09c	22.02±0.24a
YM8	36.57±0.06a	14.60±0.12a	17.10±0.33a	53.12±2.22b	3.99±0.25b	19.31±1.40b
YM16	35.24±0.94a	14.24±0.51a	16.17±0.05b	51.93±0.55b	4.29±0.08ab	17.47±0.32c
YM24	32.26±0.12b	14.29±0.05a	14.78±0.04c	48.61±1.48c	4.44±0.14a	16.55±0.56c

^a: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Keklerin şekil özellikleri hakkında bilgi veren spesifik hacim, hacim, simetri ve uniformite indeksleri ile büzülme değerleri Tablo 5'te görülmektedir. Spesifik hacim, kek hamurunun kabarma derecesinin bir göstergesidir [45]. Araştırmada YM24 örneklerinin spesifik hacim değerlerinin diğer örneklerden önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kek hamurları kalıplara 50'şer gram tartılmıştır. Kek hamuruna ilave edilen meyve oranı arttıkça bu 50 g'lık karışımın içindeki meyve dışı unsurları bulunduran kontrol kek hamuru oranı azalmaktadır. Keklerde kabarmayı sağlayan kısım da un, yumurta, şeker, süt, mısırözü yağı ve kabartma tozundan oluşan bu kontrol kek hamurudur. Dolayısıyla keklerle ilave edilen meyve oranındaki artışın kek

hacimlerinde azalmaya sebep olması beklenen bir sonuçtur.

Kek hamurlarına ilave edilen yaban mersini oranı arttıkça keklerin hacim indeksi değerleri önemli derecede ($p<0.05$) düşmüştür. Bu düşüşün artan meyve oranına karşılık keklerin hacminde meydana gelen azalmayla ilişkili olduğu söylenebilir. Simetri indeksi keklerin yüzey eğrisi hakkında fikir verir [46] ve keklerin hiçbirinin merkez yüksekliğinde düşme gerçekleşmediği için tüm simetri indeksi değerleri pozitif sonuç vermiştir [47]. Sonuçlarda keklerin simetri indeksi değerlerinin benzer olduğu da görülmektedir. Uniformite indeksi keklerde simetrikliğin bir göstergesi olup [46] keklerin tümünün uniformite indeksi değerleri benzerdir.

Tablo 5. Yaban mersini ilave edilen ve edilmeyen keklerin bazı fiziksel özellikleri^a

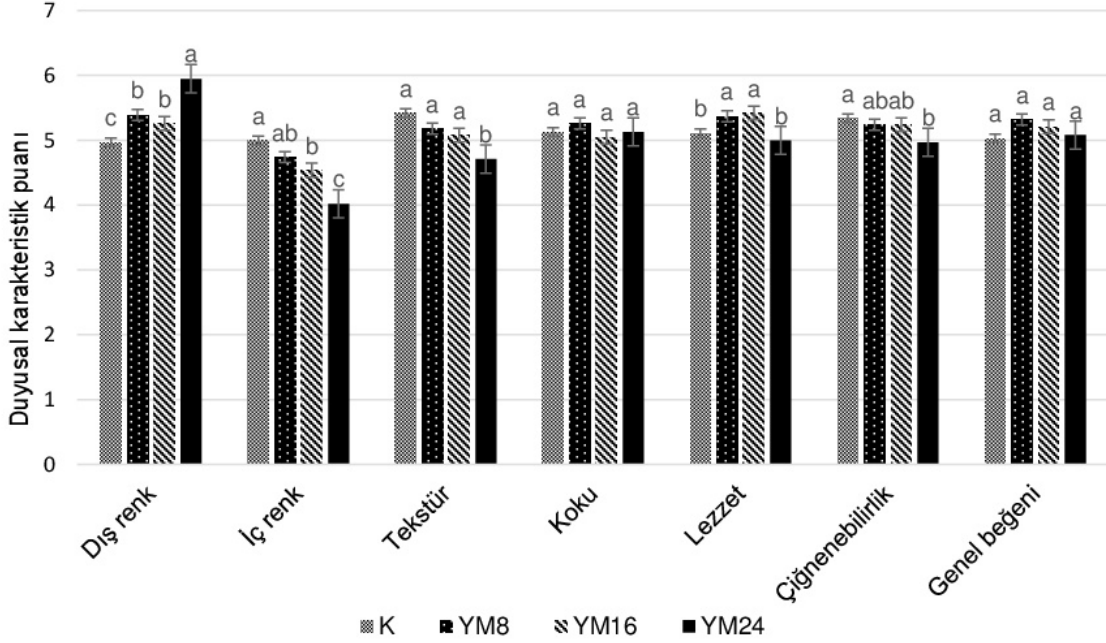
Kek çeşidi	Spesifik hacim (mL/g)	Hacim indeksi (mm)	Simetri indeksi (mm)	Uniformite indeksi (mm)	Büzülme değeri (mm)
K	2.21±0.08a	128.75±3.10a	3.75±1.50a	0.50±0.57a	1.00
YM8	2.16±0.01a	120.25±2.50b	2.50±0.58a	0.75±0.50a	1.00
YM16	2.20±0.07a	115.25±2.06b	3.00±0.82a	0.75±0.50a	1.50
YM24	2.00±0.06b	109.00±2.16c	2.25±0.50a	0.25±0.50a	1.00

^a: Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Keklerin Duyusal Özellikleri

Muffin keklerin duyu analizi sonuçları Şekil 3'te verilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarında dış renk bakımından YM24'ün, iç renk bakımından K ve YM8 keklerinin, lezzet bakımından da YM8 ve YM16 keklerinin en beğenilen ($p < 0.05$) kekler oldukları görülmektedir. Yaban mersini ilavesinde %24 oranına çıkılması keklerin tekstür ve çiğnenebilirlik puanını önemli derecede ($p < 0.05$) düşürmüştür. Tüm keklerin koku ve genel beğeni puanları ise benzerdir ($p > 0.05$).

Sonuçlarda keklerin hiçbir duyu özellik bakımından "orta" sözel ifadesine karşılık gelen 4.00 puanın altına düşmedikleri, hatta ağırlıklı olarak "iyi" sözel ifadesine karşılık gelen 5.00 puanın üzerinde tercih edildikleri dikkati çekmektedir. Keklerde yaban mersini ilave oranında %24'ün üzerine çıkılması durumunda, YM24'lerin tekstür ve çiğnenebilirlik puanlarında görülen düşüşün keklerin genel beğeni puanlarına da yansiyebileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla yaban mersini ilavesinde %24'ün üzerine çıkılmaması tavsiye edilmektedir.



Şekil 3. Yaban mersini ilave edilen keklerin duyu analizi sonuçları

SONUÇ

Çalışmada biyolojik aktiviteye sahip bileşenlerce zengin bir meyve olan yaban mersininin keklerle ilave edilme oranı arttıkça keklerin çözünür, çözünmeyen ve toplam diyet lifi oranları ile toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde önemli ($p < 0.05$) artışların olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca duyu analizlerde de tüm keklerin koku ve genel beğeni puanlarının benzer ($p > 0.05$) olduğu bulunmuştur. Ancak yaban mersini ilavesinde %24 oranına çıkılmasıyla keklerin lezzet, tekstür ve çiğnenebilirlik puanlarında önemli ($p < 0.05$) düşüşlerin gerçekleşmesinden dolayı yaban mersini ilavesinde %24'ün üzerine çıkılmaması tavsiye edilebilir. Aksi takdirde lezzet, tekstür ve çiğnenebilirlik puanlarındaki düşüşün genel beğeni puanına da yansiyabileceği düşünülmektedir. Yaban mersini oranındaki artış keklerin iç renk, dış renk, spesifik hacim ve hacim indeksi değerlerinde de bazı önemli ($p < 0.05$) değişimlere neden olmuştur.

Sonuç olarak yaban mersininin muffin kek üretiminde kullanılmasıyla keklerin fonksiyonellik özelliklerinde iyileşmelerin sağlandığı belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen ürünlerin duyu kabul edilebilirliğinin yüksek olması da bu keklerin insan diyetinde kullanım potansiyelinin yüksek olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Veliöğlu, S., 2000. Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda* 25(3): 167-176.
- [2] Tosun, İ., Yüksel, S., 2003. Üzüm meyvelerinin antioksidan kapasitesi. *Gıda* 28(3): 305-311.
- [3] Yılmaz, İ., 2010. Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 17(2): 143-153.
- [4] Derviş, E., 2011. Oral antioksidanlar. *Dermatoz* 2(1): 263-267.
- [5] Gök, V., Kayacı, A., Telli, R., 2006. Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı doğal antioksidanlar. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 2: 35-40.
- [6] Tosun, İ., Karadeniz, B., 2005. Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktiviteleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 20(1): 78-83.
- [7] Aydemir, B., Karadağ Sarı, E., 2009. Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 2(2): 56-60.
- [8] Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 9(1): 73-83.
- [9] Howard, L.R., Clark, J.R., Brownmiller, C., 2003. Antioxidant capacity and phenolic content in

- blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 1238-1247.
- [10] Kalt, W., McDonald, J.E., Donner, H., 2000. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. *JFS: Food Chemistry and Toxicology* 65(3): 390-393.
- [11] Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S., Finn, C.E., Hancock, J.F., 2002. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127(1): 89-97.
- [12] Zheng, Y., Wang, C.Y., Wang, S.Y., Zheng, W., 2003. Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7162-7169.
- [13] Dragovic-Uzelac, V., Savic, Z., Brala, A., Levaj, B., Kovacevic, D.B., Bisko, A., 2010. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) Grown in the Northwest Croatia. *Food Technology and Biotechnology* 48(2): 214-221.
- [14] Bunea, A., Rugina, D.O., Pinte, A.M., Sconta, Z., Bunea, C.I., Socaciu, C., 2011. Comparative polyphenolic content and antioxidant activities of some wild and cultivated blueberries from Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39(2): 70-76.
- [15] You, Q., Wang, B., Cheng, F., Huang, Z., Wang, X., Luo, P.G., 2011. Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chemistry* 125: 201-208.
- [16] Asp, N.G., 1987. Dietary fiber-definition chemistry and analytical determination. *Molecular Aspects of Medicine* 9(1): 17-29.
- [17] Smolin, L.A., Grosvenor, M.B., 1997. II. Energy-containing Nutrients. In *Nutrition: Science and Applications*, 2nd Edition, Edited by F. L. Orlando, Saunders College Publishing, USA.
- [18] Nilüfer, D., Boyacıoğlu, D., 2003. Süt Ürünlerinde Diyet Liflerinin İçeriğinin İncelenmesi, Süt Ürünlerinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, 22-23 Mayıs, İzmir, Türkiye, s. 239-244.
- [19] Chen, H.C., Camire, M.E., 1997. Recovery of anthocyanins, pectin, and dietary fiber from cull lowbush blueberries. *Journal of Food Quality* 20: 199-209.
- [20] Marlett, J.A., Cheung, T.F., 1997. Database and quick methods of assessing typical dietary fiber intakes using data for 228 commonly consumed foods. *Journal of the American Dietetic Association* 97(10): 1139-1151.
- [21] Dreher, M.L., 2001. Dietary Fiber Overview. In *Handbook of Dietary Fiber*, Edited by: S.S., Cho and M.L., Dreher, Marcel Dekker, Inc., USA.
- [22] Tuncel, B.N., Demirci, M., 2006. Farklı sıcaklık derecelerinde depolanan hamurların kek kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, Türkiye, s.521-522.
- [23] Köklü, G., Özer, M.S., 2008. Pandispanya yapımında bazı yüzey aktif maddelerin kek nitelikleri üzerindeki etkileri, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 19(2): 78-87.
- [24] AOAC, 1990. Association of Official Analytical Chemists. "Official Methods of Analysis", 15th ed. AOAC, Washington, DC., USA.
- [25] AOAC, 1995. Association of Official Analytical Chemists. "Total, Insoluble and Soluble Dietary Fiber in Food—Enzymatic-Gravimetric Method (Method 991.43) MES-TRIS Buffer". Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD., USA.
- [26] Işık, F., 2013. Salça Üretim Atıklarının Tarhana Üretiminde Kullanımı. Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.
- [27] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods of Enzymology* 299: 152-178.
- [28] Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D.H., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from Guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 669-675.
- [29] Anonymous, 1995. The Manual of Hunter-Lab Mini Scan XE Colorimeter. Virginia: HunterLab Cooperation, U.S.A.
- [30] AACC, 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Methods 10-91, 44-19, 46-13, 55-30, 56-11 (10th ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.
- [31] Cho, W.J., Song, B.S., Lee, J.Y., Kim, J.K., Kim, J.H.; Yoon, Y.H., Choi, J.I., Kim, G.S., Lee, J.W., 2010. Composition analysis of various blueberries produced in Korea and manufacture of blueberry jam by response surface methodology. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 39(2): 319-323.
- [32] Yemmireddy, V.K., Chinnan, M.S., Kerr, W.L., Hung, Y.C., 2013. Effect of drying method on drying time and physico-chemical properties of dried rabbiteye blueberries. *LWT- Food Science and Technology* 50: 739-745.
- [33] De Souza, V.R., Pereira, P.A.P., Da Silva, T.L.T., Lima, L.C.O., Pio, R., Queiroz, F., 2014. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry* 156: 362-368.
- [34] Golding, J.B., Blades, B.L., Satyana, S., Jessupa, A.J., Spohr, L.J., Harris, A.M., Banos, C., Davies, J.B., 2014. Low dose gamma irradiation does not affect the quality, proximate or nutritional profile of 'Brigitta' blueberry and 'Maravilla' raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 96: 49-52.
- [35] Aksoy, Z., Çağında, Ö., Köse, E., 2015. Effects of blueberry, grape seed powder and poppy seed incorporation on physicochemical and sensory properties of biscuit. *Journal of Food Quality* 38: 164-174.

- [36] Cemeroğlu, B., 1986. Meyve ve Sebzelerin Bileşimi, Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Editörler: Cemeroğlu, B. ve Acar, J., Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 6, Ankara, 506s.
- [37] Toledo, I., Burlingame, B., 2006. Biodiversity and nutrition: A common path toward global food security and sustainable development. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 477-483.
- [38] Lohachoopol, V., Srzednicki, G., Craske, J., 2004. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 248-252.
- [39] Topuz, A., Özdemir, F., 2004. Influences of gamma irradiation and storage on the capsaicinoids of sun-dried and dehydrated paprika. *Food Chemistry* 86: 509-515.
- [40] Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M., Gliszczynska-Swiglo, A., 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 313-322.
- [41] Michalczyk, M., Macura, R., Matuszak, I., 2009. The effect of air-rying, freze-drying and storage on the quality and antioxidant activity of some selected berries. *Journal of Food Processing and Preservation* 33: 11-21.
- [42] Fang, Z., Bhandari, B., 2011. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry* 129: 11139-1147.
- [43] Korus, A., 2011. Effect of preliminary processing, method of drying and storage temperature on the level of antioxidants in kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) leaves. *LWT- Food Science and Technology* 44: 1711-1716.
- [44] Marlett, J.A., McBurney, M.I., Slavin, J.L., 2002. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. *Journal of American Dietetic Association* 102(7): 993-1000.
- [45] Çelik, İ., Işık, F., Gursoy, O., Yılmaz, Y., 2013. Use of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers as a natural source of inulin in cakes. *Journal of Food Processing and Preservation* 37: 483-488.
- [46] Gupta, M., Bawa, A.S., Semwal, A.D., 2009. Effect of barley flour incorporation on the instrumental texture of sponge cake. *International Journal of Food Properties* 12: 243-251.
- [47] Oliete, B., Perez, G.T., Gomez, M., Ribotta, P.D., Moiraghi, M., Leon, A.E., 2010. Use of wheat, triticale and rye flours in layer cake production. *International Journal of Food Science & Technology* 45: 697-706.
- [48] Süfer, Ö., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş., 2016. Kek ve diğer unlu mamüllerin fırında pişirilmesi sırasında ısı ve kütle transferinin modellenmesi ve hesaplamalı akışkanlar dinamiği (HAD) uygulaması. *Akademik Gıda* 14(1): 61-66.

Yaban Mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) Suyu Konsantresinin Püskürtmeli Kurutucuda Kurutulması: Tepki Yüzey Yöntemiyle Optimizasyon

Kübra Atacan , Derya Koçak Yanık 

Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gaziantep

Geliş Tarihi (Received): 03.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 07.06.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): dkocak@gantep.edu.tr (D. Koçak Yanık)

☎ 0 342 317 23 96 📠 0 342 360 11 05

ÖZ

Bu çalışmada, fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi yüksek olan yaban mersininden elde edilen meyve suyu konsantresinden püskürtmeli kurutucu ile meyve tozu üretim koşullarının tepki yüzey yöntemiyle optimize edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada kurutma ajanı olarak maltodekstrin (DE8) kullanılmıştır. Hava giriş sıcaklığı (110-150°C) ve maltodekstrin oranı (%20-80) bağımsız değişkenler; fenolik madde geri kazanımı ve kurutma verimi ise bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir. Verimin ve fenolik madde geri kazanımının maksimum olduğu optimum kurutma şartları hava giriş sıcaklığı için 130°C, maltodekstrin oranı için ise %71 olarak belirlenmiştir. Bu optimum koşulda hava çıkış sıcaklığı 76°C olarak kaydedilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen toz yaban mersini (%3.51 nem) için verim ve fenolik madde geri kazanımı sırasıyla %75.8 ve %86.1 olarak belirlenmiştir. Elde edilen toz üründe çözünürlük, yoğunluk, higroskopisite, gözeneklilik, yapışkanlık, akabilirlik, camsı geçiş sıcaklığı, toplam fenolik madde miktarı, toplam antosiyanin miktarı, antioksidan kapasite ve renk, kalite parametreleri olarak incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yaban mersini, Püskürtmeli kurutma, Fenolik madde, Tepki yüzey yöntemi

Drying Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Juice Concentrate by Spray Dryer: Optimization by Response Surface Methodology

ABSTRACT

In this study, fruit powder was produced by a spray dryer from fruit juice concentrate of blueberry which is high in phenolics and antioxidant activity. Maltodextrin (DE8) was used as a drying agent. The effects of drying parameters and optimum drying conditions were determined by using response surface methodology (RSM). While the inlet air temperature (110-150°C) and the amount of maltodextrin (20-80%) were independent variables, the phenolic recovery and drying yield were dependent variables. At optimum drying conditions, inlet air temperature and amount of maltodextrin were 130°C and 71%, respectively. Outlet air temperature at an optimum condition was 76°C. The total yield and phenolic recovery obtained at optimum conditions for fruit powder (3.51% moisture) were 75.8% and 86.1%, respectively. The solubility, density, hygroscopicity, porosity, cohesiveness, flowability, glass transition temperature, total phenolic content, total anthocyanin content, antioxidant capacity, and color were used as quality parameters.

Keywords: Blueberry, Spray drying, Phenolics, Response surface methodology

GİRİŞ

Türkiye, üzümü meyve yetiştiriciliğinde önde gelen ülkelerden birisidir. Özellikle Karadeniz Bölgesi'nde, yabancı üzümü meyvelerin uzun yıllardır tüketildiği bilinmekte ancak son yıllarda yapılan ıslah çalışmalarıyla üzümü meyve yetiştiriciliği daha geniş bir alana yayılmıştır [1]. Yabancı mersinini de içeren üzümü meyveler ticari olarak da yetiştirilen, taze veya işlenmiş formda tüketilen meyvelerdir. Literatürde üzümü meyve tüketiminin insan sağlığına olumlu katkılarının olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [2]. Yabancı mersinini fenolik bileşenlerce, özellikle antosiyaninlerce zengindir [3] ve birçok diğer meyve ve sebze göre antioksidan kapasitesi oldukça yüksektir. Fakat onları değerli kılan fenolik bileşenleri genellikle; ısı, ışık, nem, yüksek sıcaklık ve oksijen gibi olumsuz çevresel faktörlere karşı hassas bileşenlerdir. Dolayısıyla işlenmeleri ve saklanmaları esnasında bu bileşenlerin kaybı muhtemeldir. Bu tür hassas ürünlerin daha uzun süre saklanabilmesini, kolay depolanabilmesini ve kolay transferini sağlayacak çeşitli teknikler olup, mikroenkapsülasyon tekniği ile toz ürüne dönüştürülmesi bunlardan birisidir [4]. Gıda sanayisinde kullanılan çoğu bileşenin toz formunda olması sebebiyle, toz teknolojisi gıda sanayi açısından ayrıca önem arz etmektedir. Gıdaların toz formda üretilmelerinin başlıca sebepleri ise su içeriğini düşürerek raf ömrünü arttırmak, taşıma maliyetini düşürmek ve kullanım kolaylığı sağlamaktır [5].

Mikroenkapsülasyon tekniği toz ürün üretmek amacıyla gıda endüstrisinde yaygın kullanılan bir tekniktir [6]. Çeşitli mikroenkapsülasyon teknikleri hali hazırda geliştirilmiş olmakla beraber sürekli sistem çalışabilmesi, düşük işletme maliyeti, kaliteli toz ürün eldesi ve gerekli olan makine ve teçhizatın kolay bulunabilir olması gibi sağlamış olduğu avantajların yanı sıra kurutmanın oldukça hızlı ve merkez sıcaklığının da genellikle 100°C'yi geçmiyor oluşu nedeniyle püskürtmeli kurutma tekniği ısıya duyarlı gıda bileşenlerinin kurutulması ve enkapsülasyonunda en yaygın kullanılan metottur [4,7]. Bu teknikte genellikle sıvı ya da bulamaç formundaki ürün, uygun bir kurutucu ajan (maltodekstrin, glikoz, soya fasulyesi proteini, sodyum klorür, nişasta, modifiye nişasta, gamlar, pektin veya yağsız süt tozu) eklendikten sonra bir çembere atomize edilir. Bu esnada sıcak hava ile karşılaşan damlacıklardan nem uzaklaştırılır ve toz ürün elde edilir. Elde edilen ürünün kalitesi ve verimi, havanın giriş ve çıkış sıcaklığı, besleme akış hızı, püskürtme hızı ve basıncı, besleme yoğunluğu ve kaplama materyalinin oranı gibi çalışma koşullarına bağlıdır [8-10].

Püskürtmeli kurutucu ile fenolik maddelerce zengin birçok maddenin başarılı bir şekilde enkapsüle edilebildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Kara ahududu suyu [8], defne meyvesi suyu [11] üzüm çekirdeği, elma ve zeytin yaprağı ekstraktları [12], acı kavun ekstraktı [13], karadut suyu [14], kuş üzümü ekstraktı [15] ve kara havu ekstraktı [16] bunlardan bazılarıdır. Yapılan literatür incelemesi sonucunda, yabancı mersininden de benzer şekilde mikroenkapsüle edilmiş toz ürünler üretildiğini gösteren çalışmalara

rastlanmıştır [17-22]. Ancak, yapılan araştırmalarda yabancı mersinini meyve suyu konsantresi kullanılarak elde edilen toz ürünün fenolik madde içeriği ve verimi üzerine kurutma parametrelerinin etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, yabancı mersininin gıda endüstrisinde daha yaygın kullanımını sağlamak amacıyla yabancı mersinini suyu konsantresinden kurutucu ajan olarak maltodekstrin kullanılarak püskürtmeli kurutucu ile meyve tozu üretilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla kurutma parametrelerinin (hava giriş sıcaklığı ve maltodekstrin miktarı) tepki yüzey yöntemi (TYT) ile irdelenmesiyle en iyi verimin ve fenolik geri kazanımının olduğu optimum kurutma koşullarının belirlenmesi ve elde edilen toz ürünün kalite özelliklerinin (çözünürlük, yoğunluk, higroskopisite, gözeneklilik, yapışkanlık, akabilirlik, toplam fenolik madde miktarı, toplam antosiyanin miktarı, antioksidan kapasite ve renk) belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

MATERYAL

Bu çalışmada kullanılan organik yabancı mersinini (*Vaccinium corymbosum* L.) meyveleri Ekin Doğal Ürünler A. Ş. firmasından (Trabzon, Türkiye) satın alınmıştır. Kurutma ajanı olarak seçilen maltodekstrin (8DE), C☆PharmDry™, Cargill Türkiye, İstanbul, Türkiye tarafından hibe edilmiştir. Folin-Ciocalteu, etanol, sitrik asit (analitik saflıkta), Sodyum asetat 3 hidrat ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$), sodyum karbonat (Na_2CO_3), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), potasyum klorür (KCl), gallik asit, Demir (3) klorür heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$), konsantre hidroklorik asit (HCl) ve (\pm)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetra-metilroman-2-karboksilik asit (Trolox) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)'den satın alınmıştır. 2,4,6-tripirydyls-triazine (TPTZ) Fluka'dan satın alınmıştır. Diğer kullanılan bütün reaktifler ve çözümler analitik sınıftır.

METOT

Meyve Suyu Konsantresinin Hazırlanması

Yabancı mersinini meyve suyu taze yabancı mersinini meyvelerinin öncelikle 5 sn. süresince blenderde (Waring Commercial Blender, 8011ES, ABD) düşük devirde parçalanması ve ardından 150 g partiler halinde tülbenkten yapılmış keselere konularak presli filtre (Ceselsan, YP 0420, Giresun, Türkiye) ile sıkılmasıyla elde edilmiştir. Meyve suyuna antosiyaninlerin stabilizasyonunu sağlamak amacıyla sitrik asit (%0.5) eklendikten sonra 685 mmHg vakum altında dönel evaporatör (Heidolph, Hei-VAP Advantage, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Almanya) kullanılarak (45°C ve 60 rpm) suyun uzaklaştırılmasıyla meyve suyu konsantresi (28°Brix) elde edilmiştir. Hazırlanan konsantreler ağzı kapaklı 50 mililitrelik numune kaplarında -20°C dondurucularda kurutma işlemi gerçekleştirilinceye kadar muhafaza edilmiştir.

Besleme Karışımlarının Hazırlanması ve Püskürtmeli Kurutma İşlemi

Deney tasarımının (Tablo 1) gerektirdiği her bir nokta için karışımın son konsantrasyonu 20°Brix olacak şekilde hazırlanan maltodekstrin ve meyve suyu konsantresi homojenizer (Ultra-Turrax, IKA T18 digital, Almanya) kullanılarak homojen karışım elde edilinceye kadar 3 dakika süre ile karıştırılmıştır. Her bir deney için 100 gram besleme karışımı hazırlanmıştır. Püskürtmeli kurutma işlemi için Büchi B-290 (Büchi Labortechnik AG, İsviçre) marka püskürtmeli mini kurutucu kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan püskürtmeli kurutucunun çalışma koşulları aspiratör hızı için %100 (35 m³/s), atomize hava püskürtme hızı için 40 mm (473 L/s) ve dakikada 3 mL besleme yapabilmek için pompa hızı %10 olarak ayarlanmıştır. Bu çalışma koşulları yapılan ön denemelerle belirlenmiştir. Hazırlanan besleme karışımları deney tasarımının ön gördüğü farklı hava giriş sıcaklarında kurutulmuş mikrokapsüle edilmiş toz örnekler ürün toplama haznesinden toplanmıştır. Sistem dengeye geldikten sonra kaydedilen hava çıkış sıcaklığı çalışılan kurutma koşullarına bağlı olarak 74°C ile 90°C arasında değişmiştir. Elde edilen toz ürünler nem almasını önlemek amacıyla derhal ağız kapaklı numune kaplarına alınmış ve sonrasında yapılacak analizler için 4°C'de saklanmıştır. Kurutma

parametrelerinin etkisinin belirlenmesi amacıyla her bir deney için kurutma verimi ve toplam fenolik madde içeriği belirlenmiştir. RSM kullanılarak yapılan optimizasyon sonucu elde edilen optimum koşullarda daha fazla üretim yapılarak elde edilen toz ürünün bazı kalite parametreleri incelenmiştir.

Tepki Yüzey Yöntemi ve Deney Tasarımı

Yaban mersini suyu konsantrasyonundan toz ürün üretilmesi üzerine püskürtmeli kurutma parametrelerinin etkisini anlamak için tepki yüzey yöntemi Stat-Ease Design Expert 7.0.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, ABD) paket programı kullanılarak beş seviyeli, iki faktörlü merkezli birleşik döndürülebilir merkezli deney tasarımı oluşturulmuştur. Oluşturulan deneysel tasarım 8 adet eksensel ve 5 adet merkezi olmak üzere 13 deney noktasını içermektedir. Hata oranını azaltmak amacıyla merkezi noktada 5 kez tekrarlı deney yapılmıştır. Bütün deneyler yazılımın öngördüğü şekilde rasgele bir sırayla gerçekleştirilmiştir. Bağımsız değişken olarak hava giriş sıcaklığı (110-150°C) ve maltodekstrin oranı (20-80 g maltodekstrin / 100 g kuru madde) seçilmiştir. Bu seçilen alt ve üst limitler yapılan ön denemeler neticesinde belirlenmiştir. Deney tasarımı ve çalışmalar sonrası elde edilen sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Püskürtmeli kurutma için oluşturulan beş seviyeli, iki faktörlü merkezi birleşik, döndürülebilir merkezli deney tasarımı ve deney sonuçları

No	Faktörler		Tepkiler	
	Sıcaklık (°C)	M.D ¹ (%)	Verim ² (%)	TFM ³ Geri Kazanım (%)
1	116	29	17.15	17
2	144	29	11.57	11
3	116	71	76.85	89
4	144	71	79.76	89
5	110	50	70.12	76
6	150	50	67.28	66
7	130	20	8.45	8
8	130	80	77.81	86
9	130	50	61.59	62
10	130	50	53.81	55
11	130	50	49.22	52
12	130	50	70.68	77
13	130	50	68.74	72

¹Maltodekstrin; ²Verim: elde edilen toplam kuru madde miktarının beslenen toplam kuru madde miktarına oranının yüzdesi; ³Toplam Fenolik Madde

İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen sonuçlara, Stat-Ease Design Expert 7.0.0 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, ABD) programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA), regresyon analizi, modelleme ve optimizasyon uygulanmış ve tepki-yüzey 3D grafikleri çizimi yapılmıştır. Güven aralığı model için %99 ve bütün diğer testler için %95 olarak seçilmiştir. Modelin uygunluğu, R² model katsayısı ve ANOVA sonuçları ile değerlendirilmiştir.

Suda Çözünür Kuru Madde ve Nem Tayini

Tüm örneklerde suda çözünür kuru madde miktarı Abbe refraktometre (Atago NAR-1T LIQUID, Atago Co., Ltd., Japonya) kullanılarak oda sıcaklığında (25°C) belirlenmiştir.

Kurutma sonrası elde edilen toz örneklerin nem içeriği 3 gram toz ürünün 70°C vakumlu etüvde (Binder VD 23 - Vacuum drying oven, Tuttlingen, Almanya) 24 saat kurutulması sonrası ağırlık farkından hesaplanmıştır. Deneyler 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Kurutma Verimi ve Toplam Fenolik Madde Geri Kazanımı

Kurutma verimi; elde edilen toplam kuru madde miktarının, beslenen toplam kuru madde miktarına

$$\text{TFM geri kazanım (\%)} = \frac{\text{Kurutulan toz ürünündeki TFM} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right)}{\text{Besleme solüsyonundaki TFM} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right)} \times 100 \quad (1)$$

Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu

Toz ve konsantre örneklerden birer gram numune alınarak 25 mL etanol:su (60:40; v/v) karışımı eklenmiş ve 25°C'de 40 dakika karıştırıcıda (New Brunswick Scientific, Innova 40, ABD) tutulmuştur, ardından 3461 g'de 10 dakika oda sıcaklığında (25°C) santrifüjlenerek (Hettich-EBA 20, Tuttlingen, Almanya) fenolik maddeler ekstrakt edilmiştir. Elde edilen ekstraktlar fenolik madde tayini, antosiyanin madde miktarı ve antioksidan kapasite belirleme analizlerinde kullanılmıştır.

Toplam Fenolik Madde Tayini

Yaban mersini suyu konsantrasyonunun ve elde edilen toz ürünlerin toplam fenolik madde içeriği Singleton ve ark., [23]'nün önerdiği yöntemle belirlenmiştir. 450 µL fenolik ekstrakta (50 kat seyreltilmiş) 2.25 mL distile suyla 1:9 (v/v) seyreltilen Folin-Ciocalteu belirteci ve 1.8 mL Na₂CO₃ solüsyonu (75 g/L) eklenerek reaksiyona tabi tutulmuştur. 2 saat oda sıcaklığında karanlık odada bekletildikten sonra reaksiyon esnasında oluşan rengin absorbansı 760 nm dalga boyunda spektrofotometre

$$\text{Toplam antosiyanin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = A * MW * DF * \frac{1000}{\epsilon * l} \quad (2)$$

Denklemden (2), MW, siyanidin-3-glikozitin molekül ağırlığı; DF, seyreltme faktörü; l, yol uzunluğu (cm), ε: 29,600 cyn-3-glu için molar ekstinksiyon katsayısını, 1000, g'dan mg'a dönüşümü; A=(A₅₁₅-A₇₀₀)_{pH1.0} - (A₅₁₅-A₇₀₀)_{pH4.5} temsil etmektedir. Deneyler 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Antioksidan Kapasitesi

DPPH Radikalini Süpürme Etkisi

Toplam antioksidan aktivite DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) serbest radikalini süpürme aktivitesinden Brand-Williams ve ark., [25]'nün önerdiği yöntemle

$$\%DPPH \cdot \text{temizleme aktivitesi} = \left[1 - \left(\frac{A_{\text{örnek}_t}}{A_{\text{kör}_t=0}} \right) \right] * 100 \quad (3)$$

Denklemden (3) de A_{örnek}, ekstrakt ve DPPH karışımının absorbansını, A_{kör}, metanol ve DPPH karışımının absorbansını temsil etmektedir.

Demir İndirgeme Gücü (FRAP)

Örneklerin demir indirgeme gücü Benzie ve Strain, [26] önerdiği şekilde belirlenmiştir. FRAP reaktifi, sodyum asetat tampon çözeltisi, 10 mM TPTZ çözeltisi, 20 mM

oranının yüzdelik ifadesidir. Püskürtmeli kurutma sonrasında toplam fenolik madde (TFM) geri kazanımı ise aşağıdaki formül (1) kullanılarak kuru bazda hesaplanmıştır.

(Optima SP-3000 nano UV-Vis Spektrofotometre, OPTIMA Tokyo, Japonya) ile şahide karşı okunmuştur. Kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda (0-80 µg/mL) galik asit solüsyonu hazırlanmış ve yukarıdaki gibi reaksiyona tabi tutulmuş ve absorbansları okunmuştur. Sonuçlar mg GAE/g kuru madde olarak ifade edilmiştir. Deneyler 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Toplam Antosiyanin Miktarı

Toplam antosiyanin madde miktarı tayini, potasyum klorür (0.025 M, pH:1.0) ve sodyum asetat (0.4 M, pH:4.5) tampon çözeltileri kullanılarak, Lee ve ark., [24]'nün önerdiği pH-diferansiyel metoduyla belirlenmiştir. 25 kat seyreltilen fenolik ekstrakttan 0.5 mL alınarak 7.5 mL tampon çözelti eklenmesiyle karanlık ortamda 40 dakika reaksiyona tabi tutulmuş ve reaksiyon neticesinde oluşan rengin absorbansı 515 ve 700 nm dalga boylarında spektrofotometre ile okunmuştur. Toplam antosiyanin miktarı, siyanidin-3-glikozit (cyn-3-glu) eşdeğeri olarak aşağıdaki denklemde (2) değerlerin yerine yazılmasıyla hesaplanmıştır.

belirlenmiştir. Öncelikle elde edilen fenolik ekstraktlar 5 farklı konsantrasyona (19.4, 12.9, 9.7, 7.8 ve 6.5 mg/mL) seyreltilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki örneklerden 500 µL alınarak 2500 µL DPPH-metanol (89.7 µmol/L) çözeltisi ile reaksiyona tabii tutulmuş, karanlık ortamda 1 saat bekletildikten sonra 517 nm spektrofotometre ile absorbans ölçümü yapılmıştır ve DPPH temizleme aktivitesi aşağıdaki eşitlikle (3) hesaplanmıştır. Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için ölçülen; başlangıç DPPH konsantrasyonunu %50 azaltmak için gerekli olan örnek miktarı kalibrasyon grafiği çizilerek lineer regresyon ile hesaplanmış ve EC₅₀ değeri olarak verilmiştir. Deneyler 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

FeCl₃.6H₂O çözeltisi sırasıyla 10:1:1 (v/v/v) oranında, 37°C su banyosu ortamında karıştırılarak hazırlanmıştır. 30 kat seyreltilmiş fenolik ekstrakttan 100 µL alınarak 3.0 mL FRAP reaktifi ile reaksiyona tabii tutulmuş, 15 dakika sonunda 593 nm dalga boyunda spektrofotometre (Optima SP-3000 nano UV-Vis Spektrofotometre, OPTIMA Tokyo, Japonya) ile absorbans okunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda (0-500 µmol/L etanol) troloks solüsyonları (100 µL)

kalibrasyon için kullanılmıştır. Ekstraktın demir iyonlarını indirgeme yeteneğine dayanarak antioksidan kapasitesi hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak μmol Trolox eşdeğerinin 1 gram kuru madde ($\mu\text{mol TE/g}$ kuru madde) bazında materyale oranı olarak ifade edilmiştir. Deneyle 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Renk Tayini

Yaban mersini meyve suyu konsantresi ve mikrokapsüle toz örneklerin aydınlık değeri (L^*), kırmızılık indeksi (a^*) ve sarılık indeksi (b^*) değerleri CIE Lab sisteminde HunterLab ColorFlex (A60-1010-615 Model Colorimeter, Hunter Lab, Reston, VA) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Cihaz her seferinde beyaz ve siyah seramik plakalar ($L_0=93.01$, $a_0=-1.11$ ve $b_0=1.30$) kullanılarak standardize edilmiştir. Ölçümler Daylight Color (D65/10*)'da gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümü 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Çözünürlük

Toz ürünlerin çözünürlüğü, Eastman ve Moore [27] tarafından geliştirilen ve Cano-Chauca ve ark. [28] tarafından uyarlanan prosedür kullanılarak ölçülmüştür. Kuru madde bazında 1 gram toz ürün, 100 mL distile suda, 5 dakika boyunca homojenizatörde (T18 digital ULTRA-TURRAX®, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Almanya) yüksek hızda (13,000 rpm) karıştırılarak çözülmüş ve yine 5 dakika boyunca 865.3 g'de santrifüj (Hettich-EBA 20, Tuttlingen, Almanya)

$$\varepsilon = \frac{\rho_p - \rho_T}{\rho_p} \times 100 \quad (4)$$

$$CI = \frac{\rho_T - \rho_B}{\rho_T} \times 100 \quad (5)$$

$$HR = \frac{\rho_T}{\rho_B} \quad (6)$$

Tablo 2. Toz ürünlerin akabilirlik (Carr index) ve yapışkanlığının (Hausner Ratio) sınıflandırılması

Parametre	Değer	Akabilirlik-Yapışkanlık
CI	<15	Çok iyi
	15-20	İyi
	20-35	Orta
	35-45	Kötü
	>45	Çok kötü
HR	<1.2	Düşük
	1.2-1.4	Orta
	>1.4	Yüksek

Higroskopisite

Toz ürünün higroskopisitesi Santhalakshmy ve ark., [29]'nın önerdiği şekilde belirlenmiştir. 1 g toz ürün içerisinde doymuş NaCl çözeltisi (%75.29 RH) bulunan ağız kapaklı kavanozun içerisinde 1 hafta bekletilmiş ve son ağırlığı belirlenmiştir. Higroskopisite 100 gram kuru maddenin nem alışı (g) olarak ifade edilmiştir. Deneyle 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Camsı Geçiş Sıcaklığı

Elde edilen toz ürünün camsı geçiş sıcaklığı (T_g) diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) (Perkin Elmer DSC-6, Norwalk, CN, ABD) kullanılarak Santhalakshmy

edilmiştir. Çökeltmenin sağlanması için 30 dakika beklenmiş ve üst fazdan 25 mL süzüntü dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla önceden tartılmış alüminyum petrilere transfer edilerek, 5 saat boyunca 105°C'deki fırında kurutulmuştur. Toz ürünün çözünürlüğü yüzde ağırlık farkı alınarak hesaplanmıştır. Deneyle 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir.

Yığın Yoğunluk, Parçacık Yoğunluğu ve Sıkıştırılmış Yoğunluk

Toz örneklerin yığın yoğunluğu (ρ_B) ve parçacık yoğunluğu (ρ_p) Santhalakshmy ve ark. [29], sıkıştırılmış yoğunluk (ρ_T) ise Suhag ve ark. [30] önerdiği prosedür uygulanarak belirlenmiştir. Deneyle 3 tekrar yapılmış ve ortalamaları sonuç olarak verilmiştir.

Gözeneklilik, Akabilirlik ve Yapışkanlık

Toz ürünün gözenekliliği, akışkanlığı ve yapışkanlıkları Jinapong ve ark. [31] önerdiği şekilde sırasıyla aşağıdaki eşitlikler (4, 5 ve 6) kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplamalardan elde edilen sonuçlar, akabilirlik için Carrl index (CI), yapışkanlık için ise Hausner oranı (HR), Tablo 2'ye göre değerlendirilmiştir. Deneyle 3 tekrar yapılmış ve ortalaması sonuç olarak verilmiştir. Denklem 4, 5 ve 6'da ρ_B , ρ_p ve ρ_T sırasıyla yığın yoğunluk ve parçacık yoğunluğu ve sıkıştırılmış yoğunluğu ifade etmektedir.

ve ark., [29]'nın önerdiği şekilde belirlenmiştir. Öncelikle 5 mg toz ürün 50 μL DSC alüminyum kapsüllerin (Perkin-Elmer) içine alınarak içerisinde doymuş magnezyum klorür çözeltisi (%32.8 RH) bulunan ağız kapaklı kavanozda 25°C de 1 hafta bekletilerek dengeye getirilmiştir. Dengeye ulaşan numuneler hava sızdırmaz bir biçimde kapatılmış ve 10 K/dk. ısıtma hızı ile 10°C den 150°C'ye ısıtılmış ve akabinde 25°C 'ye 10 K/dk. hız ile soğutulmuştur. Elde edilen DSC termogramında gözlemlenen endotermik geçişin orta noktası sıcaklığı (mid-point) belirlenerek T_g 'si bulunmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA**Modelleme**

Kurutma verimi ve fenolik madde geri kazanımı için istatistiksel modelleme, çoklu regresyon ve geri eleme yöntemiyle RSM kullanılarak yapılmış ve en uygun model olarak kurutma verimi için kuadratik model, fenolik geri kazanımı için ise lineer model seçilmiştir. Modeller %99 güvenilirlik aralığında kayda değer bulunmuştur. Kurutma verimi (7) ve fenolik geri kazanımı (8) için istatistiksel olarak önemli olan terimler ile oluşturulan model denklemleri aşağıdaki gibidir:

$$Y_1 = 61.89 + 28.25MD - 11.44MD^2 \quad (7)$$

$$Y_2 = 58.46 + 32.54MD \quad (8)$$

Modellerde; Y1: Tepki (Kurutma Verimi, %) ; Y2: Tepki (TFM geri kazanımı, %) , MD: Maltodekstrin yüzdesini ifade etmektedir.

Kurutma Parametrelerinin Verim ve Fenolik Geri Kazanımı Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Kurutma verimi ve fenolik geri kazanımı için elde edilen ANOVA sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Görüldüğü üzere bağımsız değişkenlerden maltodekstrin yüzdesinin püskürtmeli kurutma proses verimi açısından istatistiksel olarak önemli derecede pozitif bir etkisi olduğu bulunurken hava giriş sıcaklığının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Maltodekstrin miktarının kuadratik etkisinin negatif çıkması bu parametrenin çalışılan aralık içerisinde bir optimum değerinin olduğunu göstermektedir. Bağımsız değişkenlerin etkileşimlerinin yani sıcaklık*maltodekstrin miktarı etkileşiminin de verim üzerine istatistiksel bir etkisi gözlenmemiştir. Kurutma parametrelerinin fenolik geri kazanımı üzerine etkilerine bakıldığında fenolik geri kazanımında kurutma veriminde olduğu gibi hava giriş sıcaklığı etkisiz bulunurken maltodekstrin miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Tablo 3. Kurutma verimi ve fenolik geri kazanımı için ANOVA tablosu

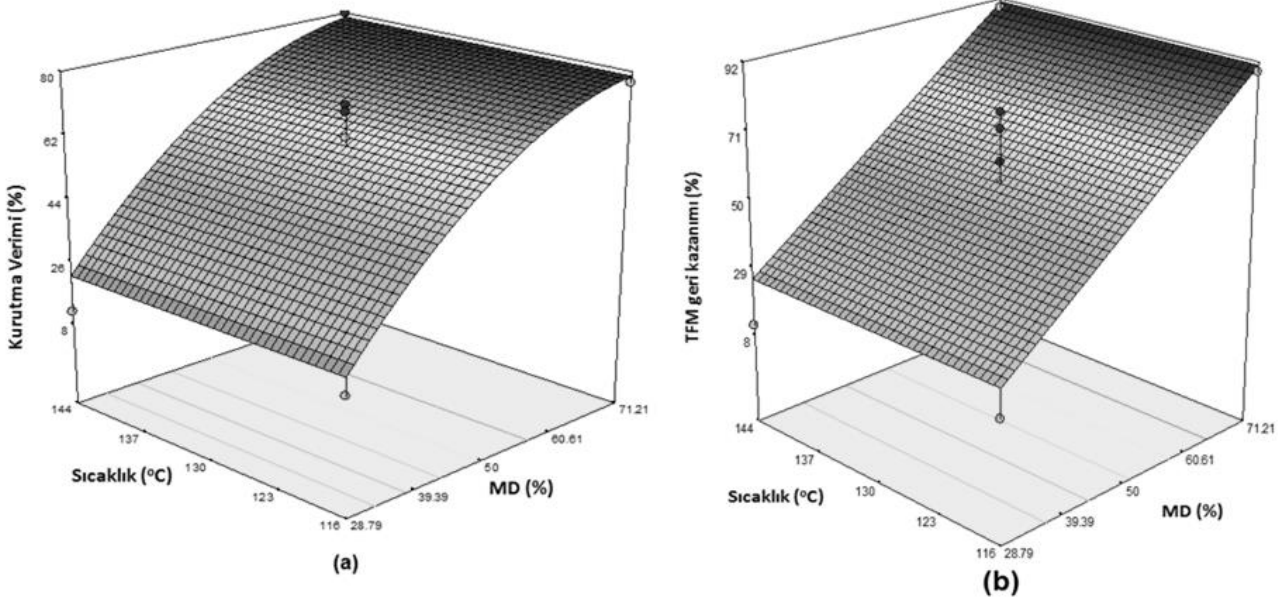
Tepkiler	Değişkenler	Tahmini Katsayılar	Standart Hata	P- değeri Prob>F
Kurutma Verimi (%)	MD	28.25	2.91	< 0.0001 ^a
	MD ²	-11.44	3.09	0.0042 ^b
TFM geri kazanımı (%)	MD	32.54	4.30	< 0.0001 ^a

^a 0.001'de önemlidir; ^b 0.01'de önemlidir; MD: Maltodekstrin

Meyve suları, meyve suyu konsantreleri veya meyvelerden elde edilen ekstraktların şeker ve asit içeriğinin yüksek olması ve bu bileşenlerin camsı geçiş sıcaklık (T_g) değerlerinin kurutma işlemleri için oldukça düşük olması kuruma esnasında çökme ya da yapışmaya neden olmakta ve kurutma verimi oldukça düşükmektedir [32]. Dolayısıyla bunlardan toz elde edilmesinde kurutma ajanı yani yüksek T_g'ye sahip maddelerin kullanılması gerekliliği bilinmektedir. Bununla bağlantılı olarak püskürtmeli kurutmada düşük DE'li maltodekstrin kullanıldıkça kurutma veriminin arttığı da bilinmektedir [33]. Bu çalışmada da bu fayda göz önünde bulundurularak özellikle düşük DE'ye sahip maltodekstrin (8DE) kullanılmıştır. Yukarıdaki açıklamalar göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmada da besleme karışımında maltodekstrin miktarının artmasıyla kurutma veriminin artmış olması beklenen bir sonuçtur. Benzer eğilim gösteren başka birçok çalışma mevcuttur [8, 9, 11, 14]. Böylelikle maltodekstrinin püskürtmeli kurutma ile toz ürün elde edilmesinde kullanılan etkili bir kurutma ajanı olduğu bir kez daha ortaya konulmuştur. Fakat bu çalışmada olduğu gibi hava giriş sıcaklığının kurutma verimi üzerine etkisiz olduğunu gösteren az sayıda çalışmaya rastlanmıştır [15]. Diğer birçok çalışmada hava giriş sıcaklığı kurutma verimi üzerine etkili bulunmuştur [9, 13, 14, 29]. Bulgular arasındaki hava giriş sıcaklığının etkisine yönelik bu farklılıklar çalışılan sıcaklık aralıklarının ve kullanılan maltodekstrinin dekstroz eşdeğerliğinin farklı olması ile açıklanabilir. Örneğin, bu

çalışmada hem DE'si düşük maltodekstrin (DE8) kullanılmış hem de çalışılan sıcaklık aralığı (110-150°C) yapılan ön çalışmalarla daraltılmış ve yüksek verim alınması muhtemel sıcaklıklar üzerine yoğunlaşmıştır. Dolayısıyla bu durumda hava giriş sıcaklığı etkisiz gibi görülmektedir. Oysaki sıcaklığın etkili ve/veya bir noktadan sonra etkili olduğunu gösteren çalışmalarda [9, 30, 34] daha geniş sıcaklık aralığının test edildiği veya DE'si yüksek maltodekstrin kullanıldığı görülmektedir. Çünkü DE'si düşük maltodekstrin kullanılan sistemlerde yüksek hava giriş sıcaklıklarında (180°C) bile yapışma olmadan kurutma yapılabileceği görülmüştür [16].

Şekil 1'de deneysel veriler kullanılarak maltodekstrin miktarının ve hava giriş sıcaklığının kurutma verimi ve fenolik geri kazanımı üzerine etkilerini gösteren 3 boyutlu yanıt yüzey grafikleri verilmiştir. Grafikler ANOVA sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Sıcaklığın herhangi bir etkisinin olmadığı ve maltodekstrin miktarının yaklaşık %65-70 gibi optimum değere ulaştığı ve bu noktadan sonra ise maltodekstrin miktarındaki artışın verim üzerine pek fazla etkisinin olmadığı açıkça ortadadır. Fenolik geri kazanımı açısından ise maltodekstrin miktarının arttıkça fenolik geri kazanımının arttığı görülmektedir. Bu etki kurutma esnasında maltodekstrinin camsı geçiş sıcaklık değerlerinin altında katı bir matris oluşturması ve bu matris içine hapsolan fenolik bileşenlerin dış etkenlerden korunmasıyla açıklanabilir [8].



Şekil 1. Yaban mersini toz ürünü için tepki yüzey grafikleri (a) Püskürtmeli kurutma proses verimi, (b) Üründeki toplam fenolik madde miktarı geri kazanımı

Optimizasyon ve Modelin Doğrulanması

En iyi verimin ve en yüksek fenolik geri kazanımının olduğu koşullar (optimum koşullar) tepki-yüzey yönteminden tahminlenen eşitlikler ile belirlenmiştir. Bu amaçla optimizasyon set değerleri bağımsız değişkenler için çalışılan aralıkta tutulurken bağımlı değişkenlerin, kurutma verimi ve fenolik geri kazanımının, en yüksek olduğu koşullar bulunmaya çalışılmıştır. Bu koşullarda yapılan optimizasyon çözümlemesinden elde edilen sonuçlara göre hava giriş sıcaklığı 130°C, maltodekstrin miktarı ise %71 olarak set edildiği takdirde tahmini kurutma veriminin %79, fenolik geri kazanımının ise %89 olabileceği öngörülmüştür. Yapılan modellemenin doğrulanması amacıyla bu tahmini optimum koşullarda 3 bağımsız deney yapılmıştır. Bu 3 deney sonucunda ortalama kurutma verimi %75.8 ve ortalama fenolik geri kazanımı %86.1 olarak bulunmuştur. Bu optimum çalışma koşullarında hava çıkış sıcaklığı 76°C olarak okunmuştur. Püskürtmeli kurutma proseslerinde siklondan %50 ve üzeri ürün geri kazanımının kritik nokta olarak kabul edildiği [32] göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmada elde edilen %76 ürün verimi başarılı bir sonuç olarak kabul edilebilir. Diğer benzer meyvelerden püskürtmeli kurutma ile elde edilen toz ürünlerin kurutma verimi %35 ile %86 arasında değişmektedir. Örneğin Fang ve Bhandari'nin [11] defne meyvesi suyunu kuruttıkları çalışmada verim %53, Tan ve ark.'nın [13] acı kavundan elde ettikleri sulu ekstraktı kuruttıkları çalışmada verim %71.4, Igual ve ark., [9] naranjilla meyve posasından ürettikleri toz üründe verimi %35, Fazaeli ve ark.'nın [14] kara dut suyunu kuruttıkları çalışmada verim %82, Bakowska-Barczak ve Kolodziejczyk'nın [15] kuş üzümü ekstraktını kuruttıkları çalışmada ise verim %86 bulunmuştur. Bu çalışmada da elde edilen verim önceki çalışmalarla karşılaştırılabilir niteliktedir. Bu çalışmada fenolik bileşenlerin yüksek oranda muhafaza edilebilmesi (%86.1) sıcaklığa duyarlı bu bileşenlerin çalışmada

belirlenen optimum hava giriş ve çıkış sıcaklıklarından çok fazla zarar görmediğini ortaya koymuştur. Benzer çalışma koşullarında yüksek fenolik muhafazası sağlandığına dair bulgulara diğer çalışmalarda da rastlanmıştır [4, 16].

Toz Ürünün Özellikleri

Optimum koşullarda üretilen toz ürünün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 4'te özetlenmiştir. Toz ürünlerin kalitesi higroskopisite, akabilirlik, yapışkanlık, çözünürlük, camsı geçiş sıcaklığı ve renk gibi parametreler açısından irdelenmelidir. Örneğin toz ürünlerin depolama esnasında ortamındaki oransal nemden ne derece etkileneyeceği veya ne tür bir paketleme malzemesi kullanılarak paketlenmesi gerektiği toz ürünün higroskopisitesi ile ilişkilidir. Higroskopisitesi yüksek ürünler daha çok nem alacağı için fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan bozulmaya daha yatkındırlar [5]. Genellikle püskürtmeli kurutma ile elde edilen toz ürünlerin higroskopisite değerleri kurutma parametrelerine ve kullanılan kurutma ajanına bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte literatürde var olan değerler %5.55 ile %50 arasında değişmektedir. Örneğin Saikia ve ark.'nın [35] ürettikleri yıldız meyvesi ekstraktı tozunda %6.82, Caparino ve ark.'nın [36] ürettikleri mango tozunda %16.5, Igual ve ark.'nın [9] naranjilla meyve posasından ürettikleri toz üründe %54, Jiménez-Aguilar ve ark.'nın [18] ürettikleri yaban mersini ekstraktı tozunda %26.5, Santhalakshmy ve ark.'nın [29] ürettikleri java eriği suyu tozunda %17 ile %25 arasında, Cai ve Corke'un [37] horoz ibiği çiçeği betasiyanin pigmentlerinden ürettikleri toz üründe ise %45.3 ile %49.5 arasında bulunmuştur. Bu çalışmada üretilen yaban mersini meyve tozunun higroskopisitesi (%14.49) literatürle karşılaştırıldığında higroskopisitesi düşük olanlar arasındadır. Toz ürünler için akabilirlik ve yapışkanlık ise üretim alanlarında kullanılabilirliği açısından önem arz etmektedir. Bu çalışmada elde

edilen yaban mersini tozunun akabilirliği ve yapışkanlığı sırasıyla Carr Index (CI) ve Hunsen Ratio (HR) değerlerine göre değerlendirilmiştir. Ürünün yüksek CI'a sahip olması akabilirliğinin zayıf olduğu anlamına gelirken HR'sinin yüksek oluşu ürünün yapışkan olduğunu göstermektedir. Yaban mersini meyve suyu konsantresi tozunun distile suda oldukça iyi çözündüğü (%97.2) gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen toz ürünün toplam fenolik madde miktarı (TFM), toplam antosiyanin miktarı (TACN) ve antioksidan kapasitesi (AOK) (Tablo 4) literatürde rapor edilen yaban mersininden üretilen toz ürünlerle kıyaslandığında düşük gibi görülmektedir. Fakat, bu çalışmalar genellikle yaban mersini meyvesinden elde edilen biyoaktif ekstraktların kurutulması üzerinedir. Örneğin Flores ve ark.'nın [17] gerçekleştirdiği yaban mersininden ekstrakte edilen antosiyaninlerin püskürtmeli kurutucu ile kurutulduğu çalışmada toz ürünlerin TFM, TACN ve AOK değerleri sırasıyla 0.22-0.35 mg GAE/ mg ekstrakt, 0.04-0.14 mg Cyn3glu/ mg ekstrakt ve 3900-4640 nmol Fe(II) eşdeğeri/ mg ekstrakt olarak bulunmuştur. Jiménez-Aguilar ve ark.'nın [18] yapmış olduğu benzer bir çalışmada ise TFM, TACN ve AOK değerleri sırasıyla 18.24-23.69 mg GAE/g yaban mersini ekstraktının çözünür katı maddesi, 11.98- 15.70 mg Cyn3glu/g yaban mersini ekstraktının çözünür katı maddesi ve 95.89 – 102.22 µmol TE/g yaban mersini ekstraktının çözünür katı maddesi olarak bulunmuştur. Bulgular arasındaki farklılıkların diğer bir nedeni de kullanılan

kurutma ajanı miktarının farklılık arz etmesidir. Örneğin Turan ve ark.'nın [19] gerçekleştirdiği yaban mersini meyve suyundan püskürtmeli kurutma ile toz ürün elde edilen benzer bir çalışmada %10 kurutma ajanı kullanılmıştır. Bu çalışmadan üretilen toz ürünlerin TFM, TACN ve AOK değerleri ise sırasıyla 7.68-9.07 mg GAE/g kuru madde, 17.71-19.27 mg Cyn3glu/g kuru madde ve 0.11-0.13 µmol TE/g kuru madde olarak bulunmuştur.

Optimum koşulda elde edilen yaban mersini meyve suyu konsantresi tozunun yüksek camı geçiş sıcaklığına ($T_g=85.6^\circ\text{C}$) sahip olması çalışmada yüksek miktarda DE'si düşük maltodekstrin kullanılmasıyla açıklanabilir. Püskürtmeli kurutma ile elde edilen toz ürünlerin renk parametrelerinin kurutma sıcaklığı ve kullanılan maltodekstrin miktarıyla önemli ölçüde değiştiği bilinmektedir. Bu çalışmada optimum koşullarda elde edilen toz ürünün renk parametreleri (Tablo 4) kurutmada kullanılan yaban mersini meyve suyu konsantresinin renk parametreleri ($L^*= 7.74$; $a^*= 11.63$; $b^*= 4.49$) ile kıyaslandığında daha açık renkli toz ürün elde edildiği görülmektedir. Toz üründe aydınlık değerini gösteren L^* da ciddi bir artış gözlenirken kırmızılık (a^*) değerinde düşüş, sarılık (b^*) değerinde ise bir değişim görülmemiştir. Benzer sonuçlara diğer çalışmalarda da rastlanmış ve yüksek miktarda eklenen beyaz renge sahip maltodekstrinin buna neden olmasıyla açıklanmıştır [38].

Tablo 4. Optimum şartlarda üretilen toz ürünün özellikleri

Parametre	Değeri
Nem (%)	3.51 ± 0.006
Çözünürlük (%)	97.2 ± 0.13
Yığın yoğunluk (g/mL)	0.40 ± 0.01
Sıkıştırılmış yoğunluk (g/mL)	0.74 ± 0.02
Partikül yoğunluğu (g/mL)	2.02±0.25
Higroskopisite (g alınan nem/100g kuru madde)	14.49±0.03
Gözeneklilik (%)	63.3±5.44
Akabilirlik (%)	45.9±2.8
Yapışkanlık (Cohesiveness)	1.85±0.1
Tg (°C)	85.6±0.58
Toplam fenolik madde (mg GAE/g kuru madde)	1.57±0.01
Toplam antosiyanin (mg Cyn3glu/g kuru madde)	0.35±0.003
Antioksidan kapasitesi	
DPPH (IC ₅₀ , mg/mL)	38.6±0.43
FRAP (µmol TE/g kuru madde)	9.4±0.34
Renk değişkenleri	
L*	82.6±0.15
a*	9.09±0.06
b*	4.64±0.02

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları yaban mersini suyu konsantresinden püskürtmeli kurutucu kullanılarak maltodekstrin varlığında yüksek verim ve fenolik geri kazanımı ile mikroenkapsüle toz ürün üretilmesinin mümkün olduğunu göstermektedir. TYY sonuçları, yaban mersini meyve suyu konsantresinden toz ürün üretilmesinde maltodekstrin miktarının hem kurutma

verimi hem de fenolik geri kazanımında önemli rolü olduğunu, çalışılan aralıkta hava giriş sıcaklığının ise etkisiz olduğunu göstermiştir. Bu çalışma ile püskürtmeli kurutma sonrası elde edilen yaban mersini meyve tozlarının fenolik içerik, antosiyanin miktarı, antioksidan aktivitesi, çözünürlük, higroskopisite, Tg, yoğunluk, gözeneklilik ve renk açısından oldukça iyi kalitede olduğu ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Koca, I., Karadeniz, B., 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. *Scientia Horticulturae* 121(4): 447-450.
- [2] de Souza, V.R., Pereira, P.A.P., da Silva, T.L.T., de Oliveira Lima, L.C., Pio, R., Queiroz, F., 2014. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry* 156: 362-368.
- [3] Cho, M.J., Howard, L.R., Prior, R.L., Clark, J.R., 2005. Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85(13): 2149-2158.
- [4] Fang, Z., Bhandari, B., 2011. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chemistry* 129(3): 1139-1147.
- [5] Koç, M., Kaymak-Ertekin, F., 2016. Şeker İçeriği Yüksek Gıdaların Püskürtülerek Kurutulması: Ürün Kazanımı ve Toz Ürün Özelliklerinin Geliştirilmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 4(5): 336-344.
- [6] Shahidi, F., Han, X.Q., 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical reviews in Food Science and Nutrition* 33(6): 501-47.
- [7] Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International* 40(9): 1107-1121.
- [8] Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, M., Kobarfard, F., Zbicinski, I., 2015. Developing spray-drying powders containing anthocyanins of black raspberry juice encapsulated based on fenugreek gum. *Advanced Powder Technology* 26(2): 462-469.
- [9] Igual, M., Ramires, S., Mosquera, L., Martínez-Navarrete, N., 2014. Optimization of spray drying conditions for lulo (*Solanum quitoense* L.) pulp. *Powder Technology* 256: 233-238.
- [10] Patil, V., Chauhan, A., Singh, R., 2014. Optimization of the spray-drying process for developing guava powder using response surface methodology. *Powder Technology* 253: 230-236.
- [11] Fang, Z., Bhandari, B., 2012. Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. *Food Research International* 48(2): 478-483.
- [12] Kosaraju, S.L., Labbett, D., Emin, M., Konczak, I., Lundin, L., 2008. Delivering polyphenols for healthy ageing. *Nutrition & Dietetics* 65(3): 48-52.
- [13] Tan, S., Kha, T., Parks, S., Stathopoulos, C., Roach, P., 2015. Effects of the spray-drying temperatures on the physicochemical properties of an encapsulated bitter melon aqueous extract powder. *Powder Technology* 281: 65-75.
- [14] Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Ashtari, A., Omid, M., 2012. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and Bioprocess Technology* 90(4): 667-675.
- [15] Bakowska-Barczak, A., Kolodziejczyk, P., 2011. Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Industrial Crops and Products* 34(2): 1301-1309.
- [16] Ersus, S., Yurdagel, U., 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering* 80(3): 805-812.
- [17] Flores, F.P., Singh, R.K., Kerr, W.L., Pegg, R.B., Kong, F., 2014. Total phenolics content and antioxidant capacities of microencapsulated blueberry anthocyanins during in vitro digestion. *Food Chemistry* 153: 272-278.
- [18] Jiménez-Aguilar, D.M., Ortega-Regules, A.E., Lozada-Ramírez, J.D., Pérez-Pérez, M.C.I., Vernon-Carter, E.J., Welti-Chanes, J., 2011. Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis* 24(6): 889-894.
- [19] Turan, F.T., Cengiz, A., Kahyaoglu, T., 2015. Evaluation of ultrasonic nozzle with spray-drying as a novel method for the microencapsulation of blueberry's bioactive compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 32: 136-145.
- [20] Flores, F.P., Singh, R.K., Kerr, W.L., Phillips, D.R., Kong, F., 2015. In vitro release properties of encapsulated blueberry (*Vaccinium ashei*) extracts. *Food Chemistry* 168: 225-232.
- [21] Flores, F.P., Singh, R.K., Kong, F., 2014. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. *Journal of Food Engineering* 137: 1-6.
- [22] Candia-Muñoz, N., Ramirez-Bunster, M., Vargas-Hernández, Y., Gaete-Garretón, L., 2015. Ultrasonic Spray Drying vs High Vacuum and Microwaves Technology for Blueberries. *Physica Procedia* 70: 867-871.
- [23] Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Oxidants and Antioxidants Part A Methods in Enzymology* 299: 152-178.
- [24] Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E., 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 88(5): 1269-1278.
- [25] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25-30.
- [26] Benzie, I., Strain, J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* 239(1): 70-76.
- [27] Eastman, J.E., Moore, C.O. 1984. "Cold-water-soluble granular starch for gelled food compositions. U.S. Patent No. 4,465,702.

- Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [28] Cano-Chauca, M., Stringheta, P., Ramos, A., Cal-Vidal, J., 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 6(4): 420-428.
- [29] Santhalakshmy, S., Bosco, S., Francis, S., Sabeena, M., 2015. Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. *Powder Technology* 274: 37-43.
- [30] Suhag, Y., Nayik, G.A., Nanda, V., 2016. Effect of gum arabic concentration and inlet temperature during spray drying on physical and antioxidant properties of honey powder. *Journal of Food Measurement and Characterization* 10(2): 350-356.
- [31] Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P., 2008. Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering* 84(2): 194-205.
- [32] Bhandari, B.R., Datta, N., Howes, T., 1997. Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technology* 15(2): 671-684.
- [33] Papadakis, S.E., Gardeli, C., Tzia, C., 2006. Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technology* 24(2): 173-180.
- [34] Vardin, H., Yasar, M., 2012. Optimisation of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice spray-drying as affected by temperature and maltodextrin content. *International Journal of Food Science & Technology* 47(1): 167-176.
- [35] Saikia, S., Mahnot, N.K., Mahanta, C.L., 2015. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry* 171: 144-152.
- [36] Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R., Fellman, J.K., 2012. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. *Journal of Food Engineering* 111(1): 135-148.
- [37] Cai, Y., Corke, H., 2000. Production and properties of spray-dried Amaranthus Betacyanin pigments. *Journal of Food Science* 65(7): 1248-1252.
- [38] Tuyen, C.K., Nguyen, M.H., Roach, P.D., 2010. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. *Journal of Food Engineering* 98(3): 385-392.
-

Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması

Fatih Bakırcı¹, Ergun Köse²¹Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa²Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa

Geliş Tarihi (Received): 27.03.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 17.07.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fatih@fatihbakirci.com (F. Bakırcı)

☎ 0 236 201 22 51 📠 0 236 241 21 43

ÖZ

Gıda tüketiminde önemli bir yere sahip olan ekmeğin, son yıllarda raf ömrünü uzatmak ve besin kalitesini arttırmak için zengin aroma ve doğal mikrofloraya sahip ekşi hamur ile üretimleri tercih edilmektedir. Bu çalışmada, İzmir ilinde bulunan 10 farklı yerel fırından alınan 10 farklı ekşi hamur örneğinden izole edilen laktik asit bakterisi (LAB) ve maya suşlarının tanımlanması amaçlanmıştır. Ekşi hamur örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar biyokimyasal özelliklerine göre Vitek 2 Compact (Biomeriux, Fransa) cihazı ile tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda 8 farklı LAB türü (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. paralimentarius*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. sanfranciscensis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*) ve 4 farklı maya türü (*Candida humulis*, *Torulasporea delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii* ve *Saccharomyces cerevisiae*) tanımlanmıştır. İzmir ve Manisa'da üretilen ekşi hamurlarda en fazla rastlanılan (dominant) türlerin *L. mesenteroides* ve *D. hansenii* olduğu görülmüştür. *L. mesenteroides* ve *D. hansenii* türleri için sırasıyla 23S rRNA ve ITS1 gen bölgelerine ait spesifik primer ve prob dizaynları yaptırılarak, real-time PCR cihazı ile tür identifikasyon-doğrulama çalışmaları yapılmıştır. Sonuç olarak raf ömrü uzun, zengin aromaya sahip ekşi mayalı ekmeklerin üretimi için mikrofloranın doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ekşi hamur, Mikroflora, Laktik asit bakterisi, Maya

Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Sourdough

ABSTRACT

In recent years, sourdough with rich aroma and natural microflora has been used to extend the shelf life and increase the quality of bakery foods, which have an important place in food consumption. In this study, the aim was to identify lactic acid bacteria (LAB) and yeast strains isolated from 10 different sourdough samples obtained from 10 different local bakeries in İzmir. Microorganisms in sourdough products were identified by the Vitek 2 Compact (Biomeriux, France) device according to their biochemical properties. As a result, 8 different lactic acid bacteria strains (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. paralimentarius*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. sanfranciscensis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*) and 4 different yeast strains (*Candida humulis*, *Torulasporea delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii* ve *Saccharomyces cerevisiae*) were determined. The most common (dominant) species in sourdoughs produced in the cities of İzmir and Manisa (Turkey) were *L. mesenteroides* and *D. hansenii*. Species identification of *L. mesenteroides* and *D. hansenii* detected in this study was also carried out by real-time PCR using primers and probes specific for 23S rRNA and ITS1 gene regions. In conclusion, correct identification of microflora is required for the production of sourdough bread that has rich aroma, has a long shelf life.

Keywords: Sourdough, Microflora, Lactic acid bacteria, Yeast

GİRİŞ

Dünya genelinde günlük kalorinin büyük bir kısmını sağlayan ekmek, temel bir besin maddesi ve iyi bir enerji kaynağı olması nedeniyle gıda tüketiminde önemli bir yere sahiptir [1].

Ülkemizde, üreticiler kısa sürede ve kapasitenin üzerinde ekmek üretmeyi hedeflediklerinden, tüketiciyi geleneksel ekmek lezzetinden uzaklaştırmaktadırlar. Günümüzde, hamur hazırlamada kullanılan ekmek mayası miktarının %2-3'ten %5-6 oranına çıkartılması, ekşi maya kullanımından vazgeçilmesi ve fermantasyon sürelerinin en aza indirilmesi sonucunda, alışılmış ekmek aromasından uzak, sünger yapısında ve kek benzeri ürünler tüketime sunulmaktadır. Oysaki ekmeğin zengin bir aromaya sahip olabilmesi için, yeterli bir süre fermantasyona ihtiyaç vardır [2].

Ekşi hamur 5000 yıldır kullanılan, buğday unu ve su karışımının laktik asit bakterisi (LAB) ve maya ile fermente edilmesi sonucu elde edilen bir üründür [3]. Ekmek yapımında ekşi hamur kullanılması ekmeğin hacmini, yapısını ve duyu kalitesini geliştirir, ekmeğin fiziksel ve mikrobiyolojik olarak raf ömrünü de uzatır [4].

Ekşi hamurla ortaya çıkan asidik koşullar, proteoliz ve nişastanın mikrobiyal hidrolizi ekmeğin raf ömrü süresince bir takım fiziko-kimyasal değişikliklere neden olur ve bunun sonucu da ekmeğin bayatlaması yavaşlar [5].

Ekmek ve unlu mamullerde ortaya çıkan en önemli mikrobiyolojik bozulmalar sünme (rope) hastalığı ve küflenmedir. Uygun olmayan hammadde kullanımı, üretim sırasında hijyene gerekli önemin verilmemesi ve üretimden tüketime kadar geçen süre içinde bulaşmanın engellenememesi, üründe mikrobiyolojik bozulmaya sebep olmaktadır. Mikrobiyolojik bozulmanın önlenmesinde kimyasal koruyucu ve laktik starter kültür kullanımı oldukça yaygındır.

LAB endüstriyel olarak önem arz eden başlıca bakterilerdir ve gıda üretimi, sağlığı düzenleme, makromoleküllerin, enzim ve metabolitlerin üretiminde kullanılmaktadır [6]. LAB, et ve balık ürünleri (sucuk vb.), süt ürünleri (yoğurt, kefir vb.), tahıl ürünleri (ekmek, boza vb.), şarap ve sebzeler (lahana ve salatalık turşusu vb.) gibi pek çok gıdada doğal veya starter kültür olarak ilave edilerek, gıdaların olgunlaştırılması, üretimi, dayanıklılığının artırılmasında önemli rol oynarlar [7].

LAB; oldukça fazla soy ve türe sahip çubuk, kok ve kokobasil şeklinde, Gram pozitif, hareketsiz, spor şekillerini oluşturmayan, katalaz negatif, mikroaerofilik veya anaerobik, aside dayanıklı, kuvvetli fermentatif özelliğe sahip, nitratları indirgemeyen, büyüme ve gelişimleri için glikoz ve amonyum yanında bazı vitamin ve aminoasitlere ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır [8].

Günümüze kadar laktobasiller, fermentatif özellikleri dikkate alınarak; obligat homofermentatifler, fakültatif heterofermentatifler ve obligat heterofermentatifler olmak üzere gruplandırılmıştır. Grup 1 ve 2'deki

bakterilerin çoğu grup 3'teki bazı bakteriler fermente gıdalarda kullanılmış, fakat grup 3 genelde gıda bozulmaları ile ilişkilendirilmiştir [9].

Ekşi hamur mayası, homo- ve heterofermentatif LAB'leri ve mayaları değişen oranlarda ve bileşimlerde içermektedir. Homofermentatif LAB'ler, şekeri fermente ederek laktik asit oluştururken; heterofermentatifler laktik asidin yanı sıra önemli miktarda CO₂, etil alkol, asetik asit ve diğer uçucu bileşikler de meydana getirmektedir [10].

Ekşi hamur fermantasyonunda mayalar ve laktik asit bakterilerinin sürdürdükleri simbiyotik yaşam sonucunda mayalar ve heterofermentatif LAB'leri hamurun kabarmasından sorumlu olurken, homofermentatif LAB'leri ekmeğin elastisitesini, asitliğini ve lezzetini etkilemektedir [5].

Lönnner ve Preve-Akesson [11] yaptıkları bir araştırmada, ekşi hamur yönteminde bazı heterofermentatif *Lactobacillus* spp. ile yapılan denemede homofermentatif türlere göre daha yüksek asitlik ve daha düşük pH değerine ulaşıldığını ve ekmekte daha güçlü, aromatik bir lezzet hissedildiğini tespit etmişlerdir. Martinez-Anaya ve ark. [12], beş maya ve altı LAB türünün etkileşimi ve ekmek kalitesi üzerine faydaları konusunu araştırmışlardır. *S. cerevisiae* içeren tüm maya kombinasyonları yüksek kaliteli ekmek üretimine uygun sonuçlar vermiştir. Ayrıca *Candida boidinii* ve *Saccharomyces fructuum* ile *S. cerevisiae* karışımları, *Hansenula subpelliculosa* ya da *Candida guilliermondii* ile *S. cerevisiae* karışımlarından daha iyi sonuç vermiştir. Mayalarla birlikte LAB'lerin kullanıldığı kombinasyonlar arasında yalnızca *S. cerevisiae* ile olan karışımlar pişme yeteneğini artırmışlardır.

LAB ve mayaların, fenotipik tanımlama yöntemleri genotipik yöntemlere nazaran daha ucuzdur. Fenotipik tekniklerin bazı LAB için kullanışlı olduğu düşünülse de, sonuçların benzer genotip gösteren türler arasında hatalı sonuç verdiği iddia edilmektedir. Otomatize tanılamalar hızlı, yüksek doğrulukta, tekrarlanabilir tanımlama yaparlar ve daha az teknik iş gücü gerektirirler. Pahalı olması, bakteri morfolojisini önceden bilmenin gerekliliği, çok uygun yoğunlukta bakteri süspansiyonu hazırlama zorunluluğu, biyokimyasal özellikleri yakın benzerlik gösteren türlerin identifiye edilerek birbirinden ayrılmasının zorluğu gibi dezavantajları da vardır. Bu nedenle, genotipik tanımlama yöntemlerinin kullanılması daha doğru sınıflandırma ve ayırım sağlamak amacıyla uygun görülmektedir [13].

MATERYAL ve METOT

Materyal

Araştırmada, İzmir'de bulunan yerel fırınlardan aseptik koşullarda alınan ve +4°C'de laboratuvara getirilen 10 adet ekşi hamur örneği kullanılmıştır. Örneklerin aseptik koşullarda maya ve LAB analizleri gerçekleştirilmiştir. Örnekler analizler sonuçlanıncaya kadar +4°C'de bekletilmiştir.

Metot

Ekşi Hamurdan LAB ve Mayaların Sayım ve İzolasyonu

Örneklerden LAB ve maya izolasyonu için sırasıyla ISO 15214 [14] ve FDA BAM Chapter 18 [15] tarafından önerilen yöntemler kullanılmıştır. Analiz örneklerinden aseptik koşullarda 25 g tartılmış, maya analizleri için 225 mL'lik %1'lik (w/v) pepton çözeltisi (Merck-107214) ile LAB analizleri için 225 mL'lik tamponlanmış peptonlu su (Merck-107228) çözeltileri kullanılarak örnekler 2 dakika stomacher ile homojenize edilmiştir. Homojenattan %1 peptonlu su ile ardışık seyreltiler hazırlanmış ve aşağıdaki besiyerlerine aşılanmıştır. İlgili metotlara göre; maya analizleri için örnekler 0.95'den daha az su aktivitesi içerdiği için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) agara (Merck-100466) üzerine yayma yöntemi, LAB analizleri için de *Lactobacillus* Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE (MRS) agara (Merck-110660) dökme yöntemi kullanılarak, ekimler iki paralel olarak yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri LAB ve maya gelişimi için sırasıyla 30°C'de 3 gün ve 25°C'de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu takiben gelişme görülen ve sayım aralığındaki besiyerlerinde toplam LAB ve maya sayısı hesaplanmıştır. Besiyerinde gelişen tipik kolonilerden edilen izolatlarda ise daha sonra tanılama testleri yapılmıştır.

Tanılama Testleri

Seçilen maya ve LAB izolatların tanımlanması amacıyla Gram boyama ve katalaz testi uygulanmış, ayrıca izolatların biyokimyasal ve moleküler düzeyde tür tanımlamaları ve doğrulaması Vitek 2 biyokimyasal ve real-time PCR yöntemi ile yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda besiyerinde gelişen tipik maya ve LAB kolonilerinden 2 veya daha fazla temsili koloni seçilmiştir. Seçilen farklı maya ve LAB kolonileri sırasıyla genel bir besiyeri olan Potato Dextrose Agar (Merck-110130) üzerinde 25°C'de 2 gün; Nutrient Agar (Merck-105450) üzerinde 30°C'de 3 gün boyunca geliştirilerek, saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar, Vitek 2 Compact (Biomeriux, Fransa) cihazı ile biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanmıştır. En çok tanımlanan türlerden seçilen 7 adet maya ve 7 adet LAB izolatının DNA izolasyonu innuPREP Bacteria DNA Kit metoduna göre gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA'ların LAB türleri için ITS1 ve maya türleri içinse 23S rRNA gen bölgelerine ait spesifik primer ve prob dizaynı yapılarak, real-time PCR (Stratagene-Agilent, Agilent, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı ile moleküler düzeyde identifikasyonu yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Analiz sonucunda İzmir'de bulunan yerel fırınlardan alınan 10 adet ekşi hamur örneğinin LAB ve maya yükleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Örneklerden elde edilen maya ve LAB yüklerinin birbirlerine yakın olduğu görülmüştür.

Tablo 1. Ekşi hamur örneklerindeki maya ve laktik asit bakterisi yükleri (kob/g)

Örnek No	Maya Sayısı	Laktik Asit Bakterileri Sayısı
1 (Menderes)	7.2x10 ⁷	5.0x10 ⁷
2 (Menderes)	2.1x10 ⁷	2.5x10 ⁸
3 (Seferihisar, Orhanlı Köyü)	2.3x10 ⁷	7.8x10 ⁷
4 (Urla, Germiyan Köyü)	6.4x10 ⁷	1.7x10 ⁸
5 (Güzelbahçe)	9.8x10 ⁶	1.2x10 ⁷
6 (Güzelbahçe)	8.2x10 ⁷	6.0x10 ⁷
7 (Çeşme)	2.8x10 ⁷	9.5x10 ⁷
8 (Çeşme)	5.4x10 ⁷	5.7x10 ⁷
9 (Seferihisar, Bademler Köyü)	8.4x10 ⁷	9.7x10 ⁷
10 (Dalyan)	1.8x10 ⁷	9.6x10 ⁶

Konu ile ilgili bir çalışmada Gobetti [16] ekşi hamurun ekme mayalarından *S. cerevisiae*, *S. inustatus*, *T. holmii*, laktik asit bakterilerinden ise *L. brevis*, *L. sanfrancisco*, *L. plantarum*, *L. pontis*, *L. fructivorans*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum* içerdiğini ve oldukça stabil olan bu bileşimde laktobasillerin 10⁹ kob/g, mayaların ise laktobasillerden 10-100 kat daha az olduğunu belirtmiştir.

Ekşi hamur örneklerinden izole edilen ve saflaştırılan LAB ve maya izolatlarının Gram boyama ve katalaz testleri yapıldıktan sonra tür düzeyinde identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. 10 adet ekşi hamur örneğinden izole edilen türlerin Vitek 2 Compact cihazı ile yapılan tür düzeyinde tanımlamaları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Vitek 2 Compact cihazı ile yapılan çalışma sonucunda, 8 farklı LAB türü ve 4 farklı maya türü tespit edilmiştir. Tespit edilen LAB'ler *L. plantarum* (%21.74), *L. casei* (%8.696), *L. paralimentarius* (%4.30), *L. acidophilus* (%8.696), *L. brevis* (%8.696), *L. sanfranciscensis* (%8.696), *Pediococcus pentosaceus* (%8.696), *Leuconostoc mesenteroides* (%30.43) olarak tanımlanmış iken, maya türleri ise *Candida humilis* (%18.75), *Torula delbrueckii* (%6.25), *Debaromyces hansenii* (%43.75) ve *Saccharomyces cerevisiae* (%31.25) olarak tanımlanmıştır. Araştırma sonucunda ekşi hamur örneklerinde en çok tespit edilen laktik asit ve maya türlerinin (dominant türlerin) *L. mesenteroides* (%30.43) ve *D. hansenii* (%43.75) olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Ekşi hamur örneklerinin VITEK 2 Compact analiz sonuçları

Örnek No	VITEK 2 GP Card	VITEK 2 YST Card
1	<i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i>	<i>D. hansenii</i>
2	<i>L. mesenteroides</i> , <i>L. casei</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. humulis</i>
3	<i>L. plantarum</i> , <i>L. sanfranciscensis</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>D. hansenii</i>
4	<i>P. pentosaceus</i> , <i>L. mesenteroides</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. humulis</i>
5	<i>L. mesenteroides</i> , <i>P. pentosaceus</i>	<i>D. hansenii</i>
6	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paralimentarius</i>	<i>D. hansenii</i>
7	<i>L. plantarum</i> , <i>L. mesenteroides</i> , <i>L. casei</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>T. delbrueckii</i>
8	<i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. mesenteroides</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>D. hansenii</i>
9	<i>L. plantarum</i> , <i>L. mesenteroides</i> , <i>L. brevis</i>	<i>D. hansenii</i> , <i>C. humulis</i>
10	<i>L. mesenteroides</i> , <i>L. acidophilus</i>	<i>D. hansenii</i>

Manini ve ark. [17] çalışmalarında, buğday kepeğinden elde edilen ekşi hamur örneklerinden izole edilen LAB'lerin fenotipik ve moleküler identifikasyonunu yapmışlardır. Örneklerdeki LAB mikroflorasını belirlemek için MRS broth içinde 30°C'de 24 saat LAB türlerinin gelişimini sağlamışlardır. İnkübasyon sonucunda *L. plantarum*, *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. citreum*, *L. brevis*, *P. pentosaceus* ve *L. mesenteroides* türleri tespit edilmiştir. Ayrıca *L. mesenteroides* suşları için optimum sıcaklığın 30°C' olduğu belirlenmiştir [17].

Nuobariene ve ark. [18] ekşi hamur üzerine yaptıkları çalışmada *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum*, *P. pentosaceus* türlerinin dominant türler olduğunu belirlemişlerdir. Lhomme ve ark. [19] ise ekşi hamurdan *L. plantarum*, *L. mesenteroides* ve *L. sanfranciscensis* laktik asit bakterilerini ve *C. Humulis* ve *S. cerevisiae* maya türlerini izole etmişlerdir [19].

Buna benzer ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada, Isparta yöresindeki farklı fırınlardan toplanan 14 adet ekşi hamur örneğinden izole edilen LAB ve mayaların identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Tanımlama çalışmaları sonucunda izolatların; *L. divergens* (%6.1), *L. brevis* (%15.1), *L. amylophilus* (%6.1), *L. sake* (%6.1), *L. acetotolerans* (%6.1), *L. plantarum* (%3.0), *P. halophilus* (%3.0), *P. pentosaceus* (%6.1) ve *P. acidilactici* (%6.1) bakterileri ile *S. cerevisiae* (%27.0), *S. delbrueckii* (%2.7), *T. holmii* (%10.8) ve *T. unisporus* (%2.7) maya türleri olduğu belirtilmiştir [20].

Farklı coğrafi bölgelerde ekşi hamurlar üzerine yapılan benzer identifikasyon çalışmalarının [21-23] sonuçları karşılaştırıldığında araştırma sonucunun elde edilen veriler ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu durum ekşi hamur mikroflorası ile örnekleme bölgesi arasında doğrusal bir ilişki olmadığını göstermektedir. Ekşi hamur mikroflorasının endüstriyel uygulamaları düşünüldüğünde, araştırmaların en temel amacı kullanılacak olan LAB ve maya suşlarının seçimidir. Bu nedenle, herhangi bir suşun spesifik ve belirgin olarak

ayrımını sağlayan güvenilir yöntemlerin uygulanması oldukça önemlidir. Çalışmamızda bu amaçla, Vitek 2 Compact ile en çok tespit edilen 7 adet *L. mesenteroides* LAB türünün ve 7 adet *D. hansenii* maya türünün moleküler düzeyde tür identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen *L. mesenteroides* ve *D. hansenii* DNA'ları için sırasıyla 23S rRNA ve ITS 1 gen bölgelerine ait spesifik primer ve probler kullanılarak (Tablo 3 ve 4) moleküler düzeyde tanımlama yapılmıştır. Moleküler düzeyde tanımlanan suşlar için elde edilen sonuçlar (Şekil 1 ve 2), VITEK 2 Compact analiz ile elde edilen fenotipik tanımlama sonuçlarıyla karşılaştırıldığında tanımlama sonuçlarının tür düzeyinde aynı olduğu belirlenmiştir.

Nuobariene ve ark. [18] ekşi hamur örneklerinden LAB izolasyonu ve identifikasyonu için yaptıkları çalışmada LAB türlerinin, modifiye MRS agar üzerinde 30°C'de 72 saat boyunca anaerobik ortamda inkübasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Gelişen kolonileri modifiye MRS broth içerisinde 30°C'de 48 saat geliştirerek saflaştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda farklı yüklerde 168 LAB türü tespit etmişlerdir. 8 LAB türü üzerinde 16S rRNA gen bölgesine ait PCR analizleri yapmışlardır [18].

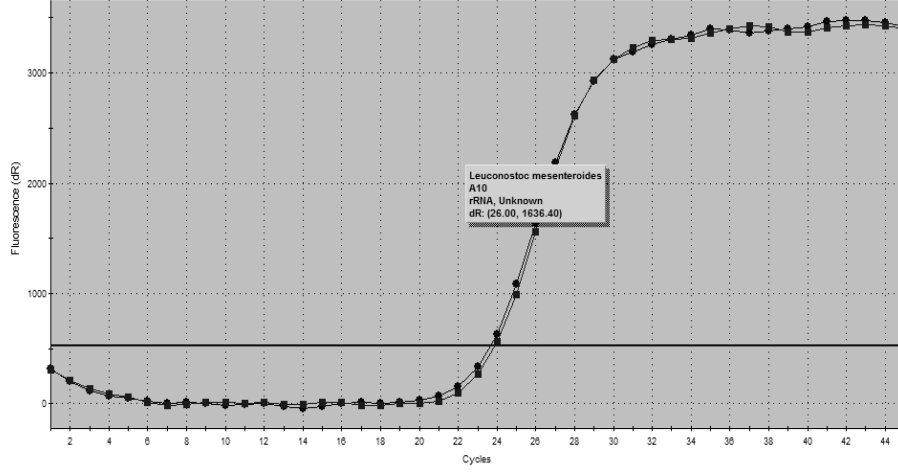
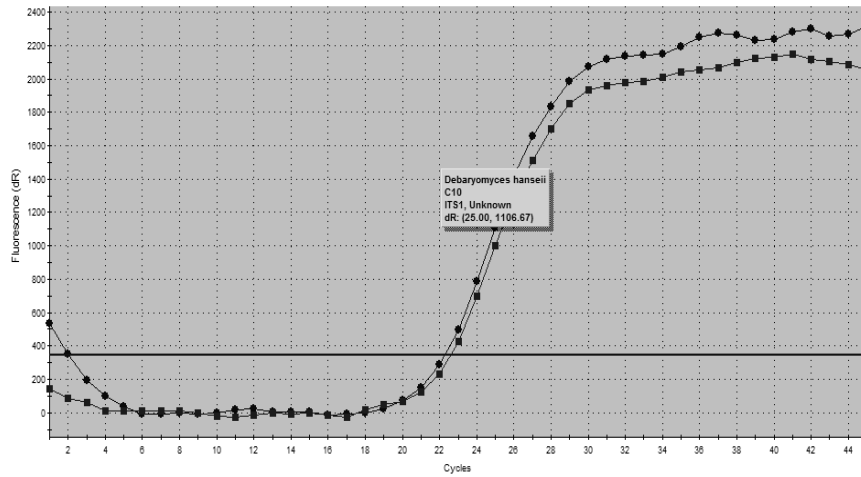
Lhomme ve ark. [19] organik ekşi hamur örneklerinden en çok izole ettikleri *L. sanfranciscensis* LAB türünün moleküler identifikasyonu için 16S rRNA gen bölgesine ait PCR analizleri yapmışlardır [19]. Benzer sonuçların elde edildiği diğer bir çalışmada Lee ve ark. [24] ekşi hamur örneklerinden izole ettikleri 30 LAB kolonisinin önce VITEK 2 Compact ile biyokimyasal identifikasyonun gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen türlerin çoğunun *L. sanfranciscensis* türü olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca tanımlanan türlerin moleküler identifikasyonu için 16S rRNA gen bölgesine ait PCR analizlerini yaparak tür identifikasyonunu doğrulamışlardır [24].

Tablo 3. *Leuconostoc mesenteroides* 23S rRNA gen bölgesine ait spesifik primer/prob dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

Primer/Probe	Sekans	Sıcaklık (°C)
LcmesS	CCA GTT GTA ATG CGT TAT TAC C	63
LcmesA	CAC AGC TTG TCC TTA TAG AAA A	63
TaqMan-Probe	5'FAM-TTC ACT CTT TTC AAG ACT TAC TG-3'TAMRA	63

Tablo 4. *Debaryomyces hansenii* ITS 1 gen bölgesine ait spesifik primer/prob dizileri ve bağlanma sıcaklıkları

Primer/Probe	Sekans	Sıcaklık (°C)
ITS1 Fw	TGA ACC TGC GGA AGG ATC AT	59
ITS2 Rev	TCC GTT GTT GAA AGT TTT GAA GAT T	59
TaqMan-Probe	5'FAM-TTG TTA TTA CAA GAA CTT TTG C-3'TAMRA	70

Şekil 1. *L. mesenteroides* 23S rRNA gen bölgesine ait real-time PCR görüntüsüŞekil 2. *D. hansenii*'nin ITS 1 gen bölgesine ait Real-Time PCR görüntüsü

SONUÇ

Araştırmamızda ekşi hamur izolatlarının doğru tespiti için biyokimyasal tür identifikasyonu yapılmış ve bu çalışmalar daha kesin ve hassas sonuçlar veren moleküler çalışmalar ile de desteklenmiştir. Araştırma sonuçları, ileride yapılacak ekşi hamur çalışmalarında mikrofloraların doğru tespiti, izolasyonu ve tanımlanmasına kaynak oluşturacaktır. Çünkü endüstriyel alanda raf ömrü uzun olan, duyuşal olarak zengin aromaya sahip ekmeğin üretimi için uygun mikrofloraların doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Menteş, Ö., Akçelik, M., Recal, E., 2004. Türkiye'de üretilen ekşi hamurlardan *Lactobacillus* suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve bu suşların temel endüstriyel özellikleri. *Gıda* 29(5): 347-355
- [2] Coda, R., Di Cagno, R., Rizzello, C.G., Nionelli, L., Edema, O.M., Gobbetti, M., 2011. Utilization of African grains for sourdough bread making. *Journal of Food Science* 76(6): M329-35.
- [3] Vogel, R.F., Pavlovic, M., Eehrmann, M.A., Wiezer, A., Liesegang, H., Offschanka, S., Voget, S., Angelov, A., Böcker, G., Liebl, W., 2011. Genomic analysis reveals *Lactobacillus sanfranciscensis* as a stable element in traditional sourdoughs. *Microbial Cell Factories* 10 (Suppl. 1): 6.
- [4] Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., 2005. Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. *Process Biochemistry* 40: 2813-2819.
- [5] Sıkılı, Ö.H., Karapınar, M., 2002. Ekşi maya ekmeğinin mikroflorası ve aromatik karakteristikleri.

- Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 3-4 Ekim 2002, Gaziantep, 165-175.
- [6] Tangüler H., Erten H., 2006. Gıdalarda bulunan bir laktik asit bakterisi: Weissella. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı Sayfa: 179-182, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- [7] Pfeiler, E.A., Klaenhammer, T.R., 2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiology* 15: 546-553.
- [8] Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (Suppl. 2): 365-373.
- [9] Stiles, M.E., Holzaphel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.
- [10] Göçmen, D., 2001. Ekşi hamur ve laktik starter kullanımının ekmekte aroma oluşumu üzerine etkileri. *Gıda* 26(1): 13-16.
- [11] Lönner, C., Preve-Akesson, K., 1988. Acidification of lactic acid bacteria in rye sour doughs. *Food Microbiology* 5: 43-58.
- [12] Martinez-Anaya, M.A., Pitarch, B., Bayarri, P., Benedito De Barber, C., 1990. Microflora of the sourdoughs of wheat flour bread. X. Interactions between yeasts and lactic acid bacteria in wheat doughs and their effects on bread quality. *Cereal Chemistry* 67: 85-91.
- [13] Yerlikaya, O., 2014. Laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında kullanılan başlıca fenotipik ve moleküler yöntemler. *Gıda ve Yem Bilimi – Teknolojisi Dergisi* 14: 8-22.
- [14] ISO 15214, 1998. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at degrees C.
- [15] FDA BAM Chapter 18, 2001. Division Microbiology Center for Food Safety and Applied Nutrition. US. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual Online.
- [16] Gobbetti, M., 1998. The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends in Food Science and Technology* 9: 267-274.
- [17] Manini, F., Casiraghi, M.C., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D., Plumed-Ferrer, C., 2015. Characterization of lactic acid bacteria isolated wheat bran sourdough. *Food Science and Technology* 66: 275-283.
- [18] Nuobariene, L., Cizeikiene, D., Gradzeviute, E., Hansen, S.A., Rasmussen, K.S., Judeikiene, G., Vogensen, K.F., 2015. Phytase-active lactic acid bacteria from sourdoughs: Isolation and identification. *Food Science and Technology* 63: 766-772.
- [19] Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B., Gobbetti, M., 2015. Lactic acid bacterium and yeast microbiota of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology* 215: 161-170.
- [20] Akgün, F.B., 2007. Ekşi Hamur Tozu Eldesi ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilme Olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.
- [21] Lattanzi, A., Minervini, F., Di Cagno, R., Diviccaro, A., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., De Angelis, M., Gobbetti, M., 2013. The lactic acid bacteria and yeast microbiota of eighteen sourdoughs used for the manufacture of traditional Italian sweet leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology* 163: 71-79.
- [22] Hamad, S.H., Dieng, M.C., Ehrmann, M.A., Vogel, R.F. 1997. Characterization of bacterial flora of Sudanese sorghum flour and sorghum sourdough. *Journal of Applied Microbiology* 83: 764-770.
- [23] Meroth, C.B., Hammes, W.P., Hertel, C., 2003. Identification and population dynamics of yeasts in sourdough fermentation processes by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* 69(12): 7453.
- [24] Lee, H., Baek, H., Lim, S.B., Hur, J.S., Shim, S., Shin, S., Han, N.S., Seo, J., 2015. Development of species-specific PCR primers and polyphasic characterization of *Lactobacillus sanfranciscensis* isolated from Korean sourdough. *International Journal of Food Microbiology* 200: 80-86.

Soğuk Pres Ayçiçeği Yağının Farklı Depolama Koşullarındaki Oksidatif Stabilitesi

S. Sezer Kıralan¹, Mustafa Kıralan²¹Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya²Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu

Geliş Tarihi (Received): 30.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 15.06.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sezertrhn@gmail.com (S.S. Kıralan)

☎ 0 264 295 55 85 📠 0 264 295 56 01

ÖZ

Soğuk pres ayçiçeği yağı termal ve fotooksidasyona tabi tutulmuştur. Bu koşullar altında oksidasyonun izlenmesinde peroksit değeri (PD) ve konjuge dien değeri (K_{232}) kullanılmıştır. Bu klasik oksidasyon testleri yanında, termal ve fotooksidasyon süresince yağlardaki uçucu oksidasyon bileşenleri verileri tepe boşluğu-katı faz mikro-ekstraksiyon (HS-SPME) ve gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemi kullanılarak toplanmıştır. 60°C sıcaklıkta termal oksidasyon koşullarında depolama sonunda, PD ve K_{232} değerleri sırası ile 79.68 meq O_2/kg ve 20.03'e kadar arttığı bulunmuştur. Termal oksidasyon süresince 6 uçucu oksidasyon bileşeni (hekzenal, 2-hekzenal, 2-heptenal, E-2-oktenal, E,Z-2,4-dekadienal ve E,E-2,4-dekadienal) belirlenmiştir. Fotooksidasyon sonunda, PD ve K_{232} değerleri sırası ile 116.97 meq O_2/kg ve 22.53 olarak tespit edilmiştir. Fotooksidasyon koşulları süresince belirlenen tek uçucu oksidasyon bileşeni hekzenal da en azından diğer bulgular ile aynı derece önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği yağı, Soğuk pres yağı, Termal oksidasyon, Foto-oksidasyon

Oxidative Stability of Cold Pressed Sunflower Oil under Different Storage Conditions

ABSTRACT

Cold pressed sunflower oil was exposed to thermal and photooxidation, and under these conditions, the values of peroxide (PV) and conjugated diene (K_{232}) were used to follow lipid oxidation. In addition to the classical oxidation tests, the data of volatile oxidation compounds in the oils throughout the thermal and photooxidation were collected by employing HS-SPME (headspace–solid phase microextraction) coupled with GC-MS (gas chromatography–mass spectrometry). Under the thermal oxidation conditions at 60°C, the values of PV and K_{232} increased up to 79.68 meq O_2/kg and 20.03 at the end of storage, respectively. Six volatile compounds (hexanal, 2-hexenal, 2-heptenal, E-2-octenal, E, Z-2,4-decadienal and E,E-2,4-decadienal) were determined during the thermal oxidation. At the end of photooxidation conditions, PV and K_{232} values of oils were detected as 116.97 meq O_2/kg and 22.53, respectively. It is at least equally important as the other findings that the hexanal was only detected volatile oxidation compound under photooxidation conditions.

Keywords: Sunflower oil, Cold pressed oil, Thermal oxidation, Photooxidation

GİRİŞ

Dünyada bitkisel ham yağ üretiminin büyük bir kısmı (%98'den fazlası) çözücü ekstraksiyonu ile elde

edilmektedir. Çok az da olsa yağlı tohumlardan ve zeytinden herhangi bir çözücü kullanılmadan pres yöntemi ile yağ üretilmektedir [1]. Ekstraksiyon sonunda çözücünün geri kazanılması sırasında geri

kazanılmayan çözücü buharlarının havaya karışması çevreyi olumsuz etkilemektedir. Bunun yanı sıra son üründe kalan çözücü kalıntıları da çeşitli problemlere yol açabilmektedir [2].

Tüketicilerin gıda güvenliği açısından güvenilir olan ürünleri tercih etmesinden dolayı son yıllarda "üretimde yeşil yaklaşımlar" olarak ifade edilen bir kavram türemiştir. Bu kavram, güvenilir, ekonomik ve çevre dostu terimlerini kapsamaktadır. Bu ürünler, piyasaya bu özellikleri vurgulanarak sunulmakta ve gün geçtikçe pazar paylarını artırmaktadırlar. Soğuk pres yağlar da bu yeşil teknoloji kullanılarak üretilmektedir. Bu yağlar oldukça kıymetli yağlardır [2, 3].

ABD Tarım Bakanlığı (USDA) verilerine göre, dünyada bitkisel ham yağ üretimi 2015/2016 döneminde yaklaşık 178 milyon ton olarak bildirilmiştir. Ham yağ üretiminin büyük kısmını (61.72 milyon ton) palm yağı oluşturmaktadır. Bunu 52.01 milyon ton ile soya yağı, 26.38 milyon ton ile kanola yağı ve 15.08 milyon ton ile ayçiçeği yağı arzı oluşturmuştur[4].

Ayçiçeği dünyada olduğu gibi Türkiye için de önemli yağlı tohumlardan biridir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nin 2015 yılı verilerine göre Türkiye'de 1.5 milyon ton yağlık ayçiçeği tohumu üretilmiştir [5]. Diğer taraftan Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği'nin 2014 yılı verilerine göre, yaklaşık 1.5 milyon ton ham ayçiçeği yağı arzı oluşmuştur. Arz edilen yağların 742 bin tonu iç tüketimde kullanılmıştır. Toplam yaklaşık 2.8 milyon ton yağ tüketimi olan Türkiye'de bahsi geçen rakam ile ayçiçeği yağı bitkisel yağlar içerisinde önemli bir kaynak olarak gösterilmektedir [6].

Lipit oksidasyonu, bitkisel yağların raf ömrünün kısılmasında önemli bozulma etmenlerinden biridir. Bitkisel yağların oksidasyonunda; yağ asitleri bileşimi, antioksidan ve prooksidan etki gösteren minör bileşenlerin miktarı, ayrıca depolama koşulları gibi birçok faktör etkili rol oynamaktadır [7]. Depolama koşullarında en önemli unsur oksijendir, ambalaj tepe boşluğu miktarı, kullanılan ambalaj materyalinin özellikleri, özellikle meyve ham yağlarında lipoksigenaz enziminin varlığı oksidasyonda önemli faktörlerdir. Bitkisel yağların bozulmalarda özellikle bu iki faktör etkili olmaktadır.

Lipit oksidasyonunun verdiği zararlardan en önemlisi yağlarda kanserojen bileşiklerin oluşması ve aynı zamanda duyuşal özelliklerin bozulmasıdır. Oksidasyon sonucunda oksidasyonun derecesine göre birincil ve ikincil oksidasyon ürünleri meydana gelir. Birincil oksidasyon ürünlerinden olan hidroperoksitler renksiz tatsız ve kokusuz bileşiklerdir ve stabil değildirlir. Ancak hidroperoksitlerin parçalanması sonucu oluşan ikincil oksidasyon ürünleri toksiktir ve yağda arzu edilmeyen tat ve kokuya neden olurlar. Yağların oksidasyonun ilerlemesine bağlı olarak değişik parçalanma ürünleri ortaya çıkmakta ve bu bileşenler çok düşük miktarda bulunsalar bile istenmeyen aroma oluşumuna neden olabilmektedir [8].

Ayçiçeği yağının yağ asitleri bileşiminin büyük bir kısmını çoklu doymamış yağ asitleri, özellikle linoleik

asit oluşturmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyona karşı hassas olması, ayçiçeği yağının da oksidasyona karşı duyarlı olmasına neden olur [9]. Literatür çalışmaları ele alındığında özellikle rafine ayçiçeği yağı üzerine çeşitli çalışmaların yapıldığı görülmektedir [10-12]. Buna karşın soğuk pres yöntemi ile üretilen yağlar özellikle ayçiçeği yağı [13] üzerine sınırlı sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür.

Bu çalışmada, yeşil üretim yaklaşımı kapsamında değerlendirilen soğuk pres yöntemi ile üretilen ayçiçeği yağı kullanılmış, ısı ve ışık etkisi altında oksidasyon gerçekleşen yağ örneklerinde, peroksit değeri ve özgül soğurma değerlerindeki değişim incelenmiştir. Bunun yanında oksidasyon sırasında oluşan uçucu bileşenlerdeki değişim de HS-SPME (Tepe Boşluğu-Katı Faz Mikro-ekstraksiyon)/GC-MS (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometre) sistemi ile belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Materyal olarak soğuk pres ayçiçeği yağı, (Esenyurt, İstanbul) sadece soğuk pres yağ üretimi yapan yerel bir firmadan temin edilmiştir. Yağ örneği analiz edilinceye kadar yaklaşık -18°C'da saklanmıştır.

Metot

Peroksit Değeri

Peroksit değeri, AOCS Official Method Cd8-53'e [14] göre belirlenmiştir. Sonuçlar, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijenin mili eşdeğer oksijen cinsinden hesaplanarak verilmiştir (meq O₂/kg). Analizler iki paralel halinde yapılmıştır.

Konjuge Dien Değeri

Konjuge dien (K₂₃₂) değeri, AOCS Ch5-91'e [14] göre yapılmıştır. Örneklerde absorban ölçümü 232 nm'de Hitachi U-2800A UV/VIS spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. Analizler iki paralel halinde yapılmıştır.

Uçucu Oksidasyon Ürünlerinin Belirlenmesi

Uçucu oksidasyon ürünlerinin belirlenmesinde Kıralan ve ark. [15]'un bildirdiği yöntem kullanılmıştır. GC/MS analizleri yapılan bileşenlerin kütle spektrumları, standartlar sisteme enjekte edilerek hem alıkonma süreleri hem de kütle spektrumlarından yararlanılarak tanımlama yapılmıştır. Ayrıca Wiley ve NIST kütüphanelerindeki bilgiler ile karşılaştırma yapılarak teşhisler yapılmıştır. Bununla beraber alifatik hidrokarbon standart maddeleri (C₈-C₂₀) verilerek Kovats indeks (KI) değerleri hesaplanmış ve bu da tanımlamada ayrıca kullanılmıştır. Analizler iki paralel halinde yapılmıştır.

Hızlandırılmış Oksidasyon Testleri Termal Oksidasyon

Termal oksidasyonda fırın testi (Schaal Oven testi) kullanılmıştır. Yağların her birinden yaklaşık 3 g örnek alınarak kahverengi küçük şişelere (tepe boşluğu vialleri) konulmuş ve ağızları hava almayacak şekilde kapatılmıştır (Her depolama süresi için ayrı ayrı şişelere örnek alınmıştır). Örnekler, etüvde 60°C'da 6 gün tutulmuştur [16].

Örneklerin oksidasyon seviyelerinin tespitinde, peroksit değeri ve özgül soğurma değeri değişimleri takip edilmiştir. Depolama süresince ayrıca uçucu oksidasyon ürünleri de belirlenmiştir.

Fotooksidasyon

Fotooksidasyon için ışık kabini (Test 742, Türkiye) kullanılmıştır. Yağların her birinden yaklaşık 3 g örnek alınarak şeffaf küçük şişelere (tepe boşluğu vialleri) konulmuş ve ağızları hava almayacak şekilde kapatılmıştır (Her depolama süresi için ayrı ayrı şişelere örnek alınmıştır). Örnekler ışık kabininde oda koşullarında 3000 lüks şiddetinde beyaz ışık altında (ışık

kaynağı ile örnek şişeleri arasındaki mesafe 25 cm olacak şekilde) 6 gün süre oksidasyona bırakılmıştır [16]. Depolama süresince oksidasyon parametreleri olarak peroksit değeri ve özgül soğurma değerleri ile izlenmiştir. Bunun yanında oluşan uçucu oksidasyon ürünleri de belirlenmiştir.

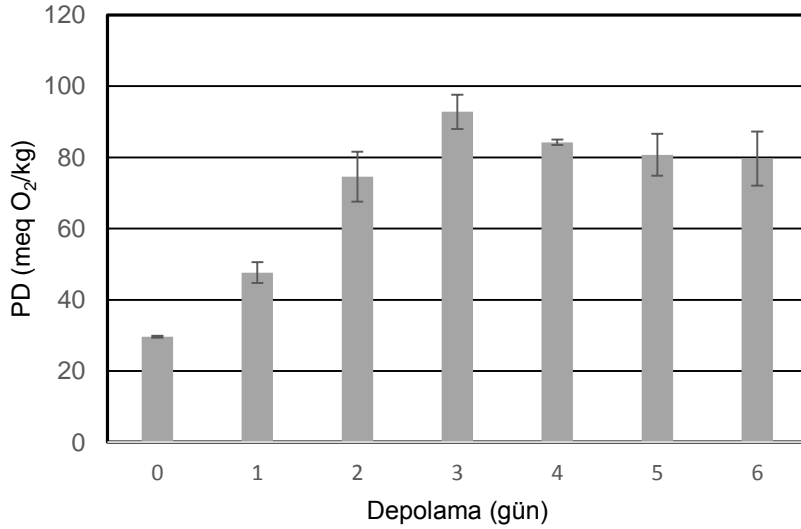
İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar, SPSS paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizi tekniği ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki fark belirlenmiştir ($p < 0.05$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Termal Oksidasyon Süresince Değişimler

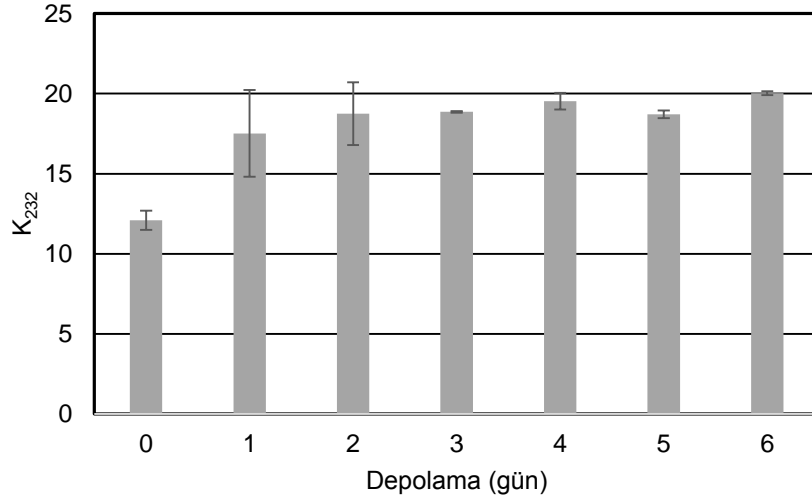
Peroksit değeri depolamanın başlangıcında 29.58 meq O_2/kg değerinden 6 gün sonunda 79.68 meq O_2/kg değerine ulaşmıştır (Şekil 1). Peroksit değeri 3. güne kadar sürekli bir artış sergilemiştir ve en yüksek peroksit değeri (92.79 meq O_2/kg) bu günde tespit edilmiştir. Yağ örneklerinin peroksit değerleri 3. günden sonra ise kısmen bir azalma göstermiştir.



Şekil 1. 60°C'da depolamada yağ örneklerinin peroksit değerlerindeki değişim

Termal oksidasyon süresince konjuge dien (K_{232}) değerlerindeki değişim Şekil 2'de gösterilmiştir. K_{232} değeri başlangıçta 12.09 iken 6 günlük depolama sonunda 20.03 değerine ulaşmıştır. K_{232} değeri örneklerde depolamanın başlangıcından itibaren bir artış sergilemiş ve depolama süresince dalgalanmalar gösterse de genel bir artış belirlenmiştir.

İtalya'da yetiştirilen ayçiçeği tohumlarından soğuk presleme ile elde edilen yağlarında peroksit değeri 8.9 meq O_2/kg ve K_{232} değeri 2.11 olarak bildirilmiştir [17]. Yine İtalya'da yerel marketlerde satılan 13 adet soğuk pres ayçiçeği yağında peroksit değeri 2.76-22.00 meq O_2/kg aralığında değiştiği bildirilmiştir [18]. Makedonya'da yetiştirilen ayçiçeği tohumlarının soğuk presle yağa işlendiği çalışmada peroksit değeri 2.6 meq O_2/kg ve K_{232} değeri 2.42 olarak tespit edilmiştir [19].



Şekil 2. 60°C'da depolamada yağ örneklerinin konjuge dien değerlerindeki değişim

Çalışmada kullanılan soğuk pres ayçiçeği yağının gerek peroksit değeri gerekse de K_{232} değerleri, De Leonardis ve ark. [17], Bendini ve ark. [18] ve Kostadinović Veličkova ve ark. [19]'un bildirdiği değerlere kıyasla oldukça yüksek bulunmuştur. Firmadan elde edilen bilgiye göre elde edilen tohumlar Ukrayna menşelidir. Elde edilen tohumların kabukları çıkartılarak Türkiye'ye getirilmiştir. Ayçiçeği yağlarında peroksit değerlerinin yüksek olmasının nedenini uzun bir süre kabuksuz olarak yolculuk geçirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmada ileri derecede bozulma ürünlerinden oluşan uçucu bileşenlerin incelenmesi amaçlandığından peroksit değeri yüksek olan bir örneğin kullanılması çalışma açısından faydalı görülmüştür.

Rafine ayçiçeği yağının kullanıldığı bir termal oksidasyon çalışmasında, örnekler 25 g alınarak 380 mL'lik cam şişelere konulmuş ve 60°C'da şişelerin ağzı alüminyum folyo ile kapalı halde depolamaya bırakılmıştır. Yağ örneğinde başlangıç dien değeri 0.042'den 25 günlük depolama sonunda 1.064 değerine erişmiştir [10]. Suja ve ark. [11] yaptıkları çalışmada, rafine ayçiçeği yağının 60°C'da başlangıçta peroksit değeri 1.5 meq O_2/kg 'dan depolama sonunda (15. günde) 84.9 meq O_2/kg 'a kadar artış göstermiştir. Aynı şartlar altında dien değeri başlangıçta 4.4 değerinden 15 günlük depolama sonunda 13.9 değerine kadar artış göstermiştir. Zhang ve ark. [12] yaptıkları çalışmada, rafine edilmiş ayçiçeği yağı 250 mL'lik kahverengi şişelerde 60°C'da inkübatörde 21 gün depolanmış ve depolama sonunda peroksit değeri 272 meq O_2/kg değerine eriştiği görülmüştür. Yapılan diğer bir çalışmada ise soğuk pres ayçiçeği yağı renksiz cam şişelerin yaklaşık $\frac{3}{4}$ 'ünü dolduracak şekilde ve ağızları kapalı 63°C'da etüvde 20 gün termal oksidasyona bırakılmıştır. Depolamanın 4. gününde peroksit değeri en yüksek değere ulaşmış (yaklaşık 35 meq O_2/kg) ve depolama sonuna kadar bu değer yakın değerler sergilemiştir [13].

Abdalla ve Roozen [10], Suja ve ark. [11], Zhang ve ark. [12] ve Wroniak ve ark. [13]'ün çalışmalarında bildirdikleri sonuçlar ile çalışmamızda elde edilen veriler arasında farklılıklar gözlenmiştir. Wroniak ve ark. [13]'ün araştırması dışında çalışmalarda rafine ayçiçeği yağı kullanılmıştır. Bunun yanında her denemede seçilen sıcaklıklar benzer olmasına karşın alınan örnek miktarları farklılık göstermektedir. Bu nedenlerden dolayıdır ki literatür ile yapılan bu çalışmada yer alan örneklerin sonuçları arasında farklılıklar gözlenmiştir.

Depolama süresince oluşan uçucu oksidasyon ürünleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Depolama süresince 6 uçucu oksidasyon ürünü belirlenmiştir. Hekzanal, depolamanın başlangıcından itibaren oluşmuştur ve oksidasyon süresince artış sergilemiştir. Depolamanın son gününde hekzanal 116.13×10^6 AU (Arbitrary Unit) alan taramıştır. 2-heptenal ve E-2-oktenal depolamanın ikinci gününde, 2-hekzanal ise üçüncü gününde tespit edilen oksidasyon ürünleri olmuştur. E,Z-2,4-dekadienal ve E,E-2,4-dekadienal ise depolamanın daha ileri dönemlerinde tespit edilmiştir.

Çin'de yerel marketten temin edilen iki ayçiçeği yağının uçucu bileşiminde hekzanal (6.78 ve 18.19×10^6 AU pik alanı), E-2-heptenal (sadece 1 örnekte 1.80×10^6 AU pik alanı), (E)-2-oktenal (2.95 ve 13.20×10^6 AU pik alanı) ve E,E-2,4-dekadienal (5.79 ve 4.50×10^6 AU pik alanı) belirlenmiştir [20]. İspanya'da yerel marketten satın alınan 2 rafine ayçiçeği yağında hekzanal 1.16 ve 1.66×10^6 AU pik alanı taramıştır [21]. Makedonya'da ayçiçeği tohumları 40-50°C'da ön ısıtma uyguladıktan sonra presle yağa işlenmiş ve uçucu bileşenleri belirlenmiştir. Farklı bileşen gruplarının belirlendiği çalışmada aldehitler içerisinde en fazla hekzanal belirlenmiştir (15.65×10^6 AU pik alanı) [22].

Tablo 1. 60°C'da depolamada yağ örneklerinden oluşan uçucu oksidasyon ürünleri ($\times 10^6$ AU)

Depolama süresi (gün)	Bileşenler					
	Hekzanal (838)*	2-hekzenal (906)	2-heptenal (1012)	E-2-oktenal (1117)	E,Z-2,4-dekadienal (1368)	E,E-2,4-dekadienal (1394)
0	11.06±0.07e**	TE***	TE	TE	TE	TE
1	16.52±1.37e	TE	TE	TE	TE	TE
2	41.73±7.47d	TE	6.58±1.80d	0.64±0.04c	TE	TE
3	50.76±4.72d	0.91±0.16d	8.49±0.41cd	1.02±0.17bc	TE	TE
4	76.51±1.97c	1.56±0.16c	12.13±1.87c	2.10±0.03b	TE	TE
5	101.76±0.17b	2.49±0.28b	18.81±2.72b	4.83±0.87a	0.38±0.03	0.44±0.06
6	116.13±5.69a	3.55±0.38a	24.80±3.64a	5.37±1.00a	0.63±0.25	0.89±0.40

*Bileşenlerin KI değerleri parantez içerisinde verilmiştir. **Ortalama±standart sapma. Aynı sütun içinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p<0.05$). ***TE: Tespit edilememiştir.

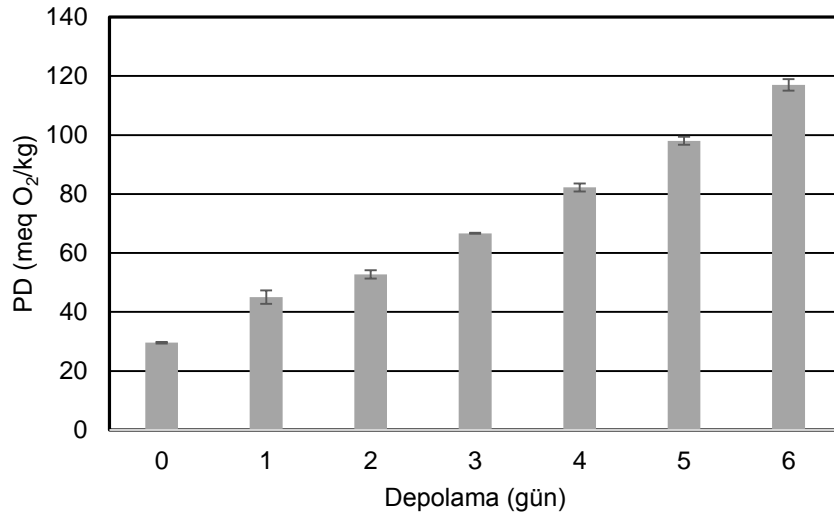
İspanya'da yerel bir firmadan satın alınan ayçiçeği yağı petri kaplarına 10 g olarak ilave edilerek 70°C'da oksidasyona bırakılmıştır. Yağlarda 8 gün depolama sonunda uçucu oksidasyon ürünlerinden hekzanal 16.507×10^6 AU pik alanı, E-2-hekzenal 0.147×10^6 AU pik alanı, E-2-heptenal 2.078×10^6 AU pik alanı, E-2-oktenal 2.865×10^6 AU pik alanı ve E,E-2,4-dekadienal 25.631×10^6 AU pik alanına ulaşmıştır [23]. Almanya'dan bir firmadan temin edilen ayçiçeği yağı örnekleri 100 mL'lik kahverengi cam şişelere ilave edilerek 80°C'da depolanmıştır. Örneklerde başlangıçta hekzanal 0.227×10^6 AU pik alanı belirlenmiş, 9 günlük depolama sonunda hekzanal 9.189×10^6 AU pik alanına kadar artış göstermiş ve bunun yanında depolama ile E-2-hekzenal (1.876×10^6 AU pik alanı), E-2-heptenal (14.456×10^6 AU pik alanı), E-2-oktenal (1.363×10^6 AU pik alanı), E,Z-2,4-dekadienal (0.104×10^6 AU pik alanı) ve E,E-2,4-dekadienal (0.288×10^3 AU pik alanı) belirlenen uçucu oksidasyon ürünlerindedir [24].

Çalışmada materyal olarak kullanılan soğuk pres ayçiçeği yağında başlangıçta belirlenen uçucu bileşen

hekzanaldır. Soğuk pres ayçiçeği yağının hekzanal içeriği Mildner-Szkudlarz ve ark. [20] ve Ivanova-Petropulos ve ark. [22]'nin bildirdiği değerlere benzer iken, Uriarte ve ark.[21]'nin bildirdiği değerden daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın üretilen ayçiçeği tohumları menşeinin farklı olmasından ve üretim prosesindeki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmada oksidasyon sonucunda oluşan bileşenlerin taradığı alanlar Guillén ve ark. [23] ve Petersen ve ark. [24]'nin oksidasyon çalışmalarında bildirdiği verilerden farklılıklar göstermesinin nedeni denemelerde kullanılan sıcaklık farklılıklarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Fotooksidasyon Süresince Değişimler

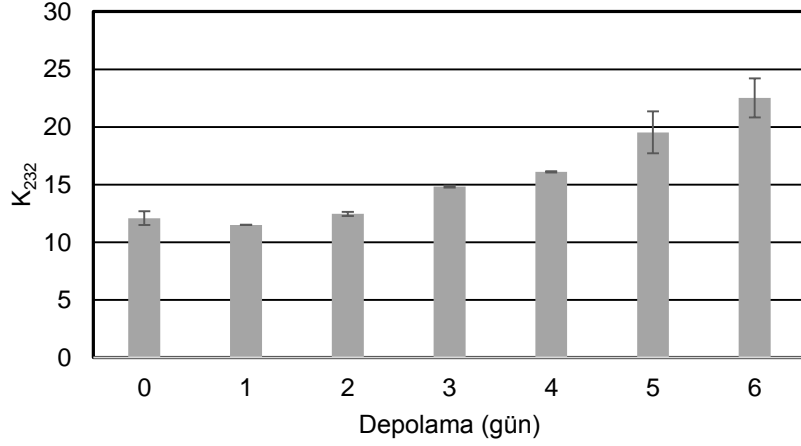
Işık altında yapılan fotooksidasyon sürecindeki peroksit değerindeki değişimler Şekil 3'de gösterilmiştir. Başlangıçta 29.58 meq O_2/kg olan peroksit değeri, depolama süresince artarak 6 gün sonunda 116.97 meq O_2/kg değerine erişmiştir.



Şekil 3. Işık altında depolamada yağ örneklerinin peroksit değerlerindeki değişim

Işık altında depolanan örneklerin K_{232} değerlerindeki değişim Şekil 4'de gösterilmiştir. Depolama süresince K_{232} değerlerinde artışlar sergilenmiş ve başlangıçta

12.09 olan değer depolama süresi olarak belirlenen 6. günde 22.53 değerine ulaşmıştır.



Şekil 4. Işık altında depolamada yağ örneklerinin konjuge dien değerlerindeki değişim

Küçük ve Caner [25]'in yaptığı çalışmada PET (polietilen tereftalat) ve cam şişelerde floresan ışık altında ayçiçeği yağlarında 9 ay depolama sonunda peroksit değeri, başlangıçta 0.230 meq O₂/kg'dan PET şişe örneklerinde 14.85 meq O₂/kg ve cam şişelerde ise 10.60 meq O₂/kg'a ulaşmıştır. Al-Dalain ve ark. [26] yaptığı çalışmada, ayçiçeği yağı şeffaf cam şişe içinde oda koşullarında gün ışığına tabi tutulmuş, peroksit değerleri ve konjuge dien değerleri ile oksidasyon izlenmiş, peroksit değeri 0.750 meq O₂/kg'dan 8 haftalık depolama sonunda yaklaşık 3 meq O₂/kg değerinin üzerine çıkmıştır. Konjuge dien değeri ise başlangıçta 1.3 değerinde iken depolama sonunda yaklaşık 5.0 değerine ulaşmıştır. Ahmed ve ark. [27] tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise gün ışığında depolanan ayçiçeği yağında peroksit değeri başlangıçta 5.32 meq O₂/kg iken, 5 hafta depolama sonunda 110.54 meq O₂/kg değerine erişmiştir.

Manzocco ve ark. [28] yaptıkları çalışmada, ayçiçeği yağından 3 g örnek alınarak 10 mL'lik şeffaf viallere konulmuştur. Bu viallerden bir tanesi karanlıkta tutulmuş diğerleri ise 600, 1400, 2000, 2700, 5300 ve 8000 lüks ışık şiddetlerine tabi tutulmuştur. Yağ örneğinin başlangıç değeri yaklaşık 5 meq O₂/kg iken 2 gün sonunda 2700, 5300 ve 8000 lüks ışık şiddetlerine tabi tutulan örneklerde peroksit değeri sırası ile yaklaşık 28, 30 ve 35 meq O₂/kg'a erişmiştir. 4 günlük depolamanın sonunda ise 1400 ve 2000 lüks ışık şiddetlerine tabi tutulan örneklerde peroksit değeri yaklaşık 32 meq O₂/kg değerine, 600 lüks ışık şiddetlerine tabi tutulan örneklerde ise yaklaşık 25 meq O₂/kg değerine ulaşmıştır.

Upadhyay ve Mishra [29] yaptıkları çalışmada ışık yoğunluğunun 600 lüks ve çalışma sıcaklığının 60°C (farklı bağıl nemlerin kullanıldığı) olduğu depolama çalışmasında ayçiçeği yağlarında peroksit değeri başlangıçta 1.33 meq O₂/kg'dan depolama sonunda yaklaşık 45 meq O₂/kg'a kadar ulaştığı bildirilmiştir. Elde edilen bulgularda peroksit değerinde Küçük ve Caner [25], Al-Dalain ve ark. [26], Manzocco ve ark. [28] ve Upadhyay ve Mishra [29]'nın bildirdiği değerlerden oldukça yüksek bulunmasına karşın Ahmed ve ark. [27]'nin bildirdiği değerlere benzer bulunmuştur.

Çalışmada yağ örneklerinin konjuge dien değerleri, Al-Dalain ve ark. [26]'nın bildirdiği değerlerden daha yüksek belirlenmiştir. Küçük ve Caner [25]'in çok fazla miktarda yağ ile çalışmasından dolayı, Al-Dalain ve ark. [26]'nın gün ışığından yararlanma miktarının düşük olabileceğinden, Manzocco ve ark. [28]'nin denemesinde hava boşluğunun daha az olmasından, Upadhyay ve Mishra [29]'nin düşük ışık yoğunluğu kullanılmasından dolayı elde edilen veriler ile literatür verileri arasında farklılıklar olabileceği düşünülmektedir. Işık altında oksidasyon sırasında sadece hekzanal oksidasyon ürünü olarak tespit edilmiştir. Ayçiçeği yağında başlangıçta hekzanal için 11.06 x10⁶ AU pik alanı belirlenirken, 6 gün depolama sonunda hekzanal için 19.34x10⁶ AU pik alanı taramıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Işık altında depolamada yağ örneklerinden oluşan uçucu oksidasyon ürünleri (x10⁶ AU)

Depolama süresi (gün)	Hekzanal (838)*
0	11.06±0.07d**
1	9.52±0.63d
2	11.49±0.11d
3	13.59±0.83c
4	17.98±1.76ab
5	16.94±0.77b
6	19.34±0.29a

*Bileşenin KI değeri parantez içerisinde verilmiştir.
**Ortalama±standart sapma. Aynı sütun içinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.05).

UV ışık altında ayçiçeği yağlarının fotooksidasyonu sırasında oluşan hekzanal/E-2-nonenal bileşenleri arasındaki oran incelenmiş ve bu oranın uzun bir süre sabit kaldığı ve 18 saatlik uygulama sonunda ise artış gösterdiği tespit edilmiştir. 24 saat sonunda ise bu oranının ani düşüş gösterdiği bildirilmiştir [30]. Işık altında depolama sırasında hekzanal oluşumu sınırlı düzeyde gerçekleşmiştir ve buna benzer eğilim Gromadzka ve ark. [30]'nın çalışmasına benzerlik göstermektedir.

SONUÇ

Soğuk pres ayçiçeği yağı oldukça kıymetli bir yağdır. Bu tür yağların ısıtma işlemi ve ışık altında oksidasyonu

sırasında peroksit değeri ve konjuge dien değerindeki değişimler yanında, uçucu oksidasyon ürünleri de belirgin değişimlere uğramaktadır. Yapılan çalışma ile ısıl işlem oksidasyonu sırasında peroksit ve konjuge dien değeri depolamanın başlangıcında hızlı bir şekilde yükselme eğilimi göstermiştir. Diğer taraftan oksidasyonun ilerlemesine bağlı olarak depolama sırasında 6 farklı uçucu oksidasyon ürününün (hekzenal, 2-hekzenal, 2-heptenal, E-2-oktenal, E,Z-2,4-dekadienal ve E,E-2,4-dekadienal) olduğu belirlenmiştir. Işık altında oksidasyon koşullarında ise peroksit değeri ve konjuge dien değeri zamana bağlı olarak artış göstermiştir. Bu oksidasyon koşullarında uçucu oksidasyon ürünü olarak sadece hekzenal tespit edilmiş ve depolama süresince ısıl işlem uygulanan örneklerle göre daha sınırlı artışlar gözlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü 2015.09.04.922 nolu "Bazı soğuk pres yağlarının farklı depolama koşullarında oksidasyon stabiliteilerinin araştırılması" başlıklı projesi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Gunstone, F., 2005. Vegetable oils. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Edited by F. Shahidi, John Wiley and Sons Inc., New York, 217–218p.
- [2] Farr, W.E., Proctor, A., 2014. Green Vegetable Oil Processing: Revised First Edition. AOCS Press, Urbana, IL, USA, 302p.
- [3] Siger, A., Kaczmarek, A., Rudzińska, M., 2015. Antioxidant activity and phytochemical content of cold-pressed rapeseed oil obtained from roasted seeds. *European Journal of Lipid Science and Technology* 117(8): 1225-1237.
- [4] USDA, 2016. Vegetable Oils and Animal Fats. <https://www.ers.usda.gov/data-products/oil-crops-yearbook/oil-crops-yearbook/#>. Erişim tarihi: 25.12.2016.
- [5] TÜİK, 2016. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. Erişim tarihi: 25.12.2016.
- [6] Büyükhelvacıgil, T., 2015. Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı, 3 Eylül 2015, İstanbul, Türkiye.
- [7] Crapiste, G.H., Bredvan, M.I., Carelli, A.A., 1999. Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 76(12): 1437-1443.
- [8] Kochhar, S.P., 1996. Oxidative pathways to the formation of off-flavors. In: Food Taints and Off Flavors, Edited by M.J. Saxby, Blackie Academic and Professional/Springer, New York, 168-225p.
- [9] Jeleń, H.H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak, R., Wasowicz, E., 2000. Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6): 2360-2367.
- [10] Abdalla, A.E., Roozen, J.P., 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry* 64(3): 323-329.
- [11] Suja, K.P., Abraham, J.T., Thamizh, S.N., Jayalekshmy, A., Arumughan, C., 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry* 84(3): 393-400.
- [12] Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., Liu, F., 2010. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry* 118(3): 656-662.
- [13] Wroniak, M., Florowska, A., Rękas, A., 2016. Effect of oil flushing with nitrogen on the quality and oxidative stability of cold-pressed rapeseed and sunflower oils. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 15(1): 79-87.
- [14] Anonymous. 2006. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, Fourth Edition. Champaign, IL: AOCS Press, USA, Methods: Cd8-53 and Ch5-91.
- [15] Kıralan, M., Ozkan, G., Koyluoglu, F., Ugurlu, H. A., Bayrak, A., Kiritsakis, A., 2012. Effect of cultivation area and climatic conditions on volatiles of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114(5): 552-557.
- [16] Özkan, G., Kıralan, M., Karacabey, E., Çalik, G., Özdemir, N., Tat, T., Bayrak, A., Ramadan, M.F., 2016. Effect of hazelnut roasting on the oil properties and stability under thermal and photooxidation. *European Food Research and Technology* 242(12): 2011-2019.
- [17] De Leonardis, A., Macciola, V., Di Rocco, A., 2003. Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83(6): 523-528.
- [18] Bendini, A., Barbieri, S., Valli, E., Buchecker, K., Canavari, M., Toschi, T. G., 2011. Quality evaluation of cold pressed sunflower oils by sensory and chemical analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113(11): 1375-1384.
- [19] Kostadinović Veličkovska, S., Brühl, L., Mitrev, S., Mirhosseini, H., Matthäus, B., 2015. Quality evaluation of cold-pressed edible oils from Macedonia. *European Journal of Lipid Science and Technology* 117(12): 2023-2035.
- [20] Mildner-Szkudlarz, S., Jeleń, H.H., Zawirska-Wojtasiak, R., Wąsowicz, E., 2003. Application of headspace—solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chemistry* 83(4): 515-522.
- [21] Uriarte, P.S., Goicoechea, E., Guillen, M.D., 2011. Volatile components of several virgin and refined oils differing in their botanical origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(10): 1871-1884.
- [22] Ivanova-Petropulos, V., Mitrev, S., Stafilov, T., Markova, N., Leitner, E., Lankmayr, E., Siegmund, B., 2015. Characterisation of traditional Macedonian edible oils by their fatty acid

- composition and their volatile compounds. *Food Research International* 77: 506-514.
- [23] Guillén, M.D., Cabo, N., Ibarra, M.L., Ruiz, A., 2005. Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic oxygenated aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(4): 1093-1101.
- [24] Petersen, K.D., Kleeberg, K.K., Jahreis, G., Fritsche, J., 2012. Assessment of the oxidative stability of conventional and high-oleic sunflower oil by means of solid-phase microextraction-gas chromatography. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 63(2): 160-169.
- [25] Kucuk, M., Caner, C., 2005. Effect of packaging materials and storage conditions on sunflower oil quality. *Journal of Food Lipids* 12(3): 222-231.
- [26] Al-Dalain, S.Y., Al-Fraihat, A.H., Al Kassabeh, E.T., 2011. Effect of aromatic plant essential oils on oxidative stability of sunflower oil during heating and storage. *Pakistan Journal of Nutrition* 10(9): 864-870.
- [27] Ahmed, T., Atta, S., Sohail, M., Khan, A.R., Akhter, S., 2011. Effect of fluorescent light on quality and stability of edible fats and oils. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 33(2): 233-237.
- [28] Manzocco, L., Panozzo, A., Calligaris, S., 2012. Accelerated shelf life testing (ASLT) of oils by light and temperature exploitation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89(4): 577-583.
- [29] Upadhyay, R., Mishra, H.N., 2016. Effect of relative humidity and light conditions on the oxidative stability of sunflower oil blends stabilised with synthetic and natural antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology* 51(2): 293-299.
- [30] Gromadzka, J., Wardencki, W., Pawłowicz, R., Muszyński, G., 2010. Photoinduced and thermal oxidation of rapeseed and sunflower oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* 112(11): 1229-1235.
-

Vakumlu Emdirim (İmpregnasyon) Teknolojisinin Fonksiyonel Meyve ve Sebze Ürünlerinin Geliştirilmesinde Kullanımı

Fatih Mehmet Yılmaz¹, Seda Ersus Bilek²¹Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09010, Efeler, Aydın²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 26.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 16.05.2017

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): fatih.yilmaz@adu.edu.tr (F.M. Yılmaz)

☎ 0 256 213 75 03 📠 0 256 213 66 86

ÖZ

Vakumlu emdirim, meyve ve sebze gibi gözenekli yapıya sahip gıdanın kapiler yapısı ile içinde bulunduğu bir sıvı arasında kütle transferinin gerçekleştiği bir temel işlemdir. Vakumlu emdirim işleminde 'hidrodinamik mekanizma' ve 'deformasyon gevşeme olayları' ile açıklanan birtakım süreçler gerçekleşmektedir ve bu süreçlerde basınç farkından kaynaklanan kapiler yapının şişmesi, büzülmesi ile kapiler yapıdan gaz çıkışı ve emdirim çözeltisinden kapiler yapıya sıvı geçişi gerçekleşmektedir. Vakumlu emdirim, her ne kadar başlangıçta ozmotik dehidrasyonu hızlandıran bir işlem olarak ortaya çıkmış olsa da, son yıllarda meyve ve sebzelerin dokularının fonksiyonel maddeler ile zenginleştirilmesinde kullanılan oldukça popüler bir yöntem olmuştur. Vakumlu emdirim, meyve ve sebzelere mineral, vitamin, fenolik madde, antimikrobiyal madde, esmerleşmeyi önleyici madde, enzim vb. maddelerin aktarılmasında kullanılan faydalı bir teknoloji olarak tanımlanmaktadır. Bu derleme kapsamında konuyla ilgili güncel çalışmalar da takip edilerek vakumlu emdirim tekniğinin uygulaması, hidrodinamik mekanizma ve deformasyon gevşeme olayları, işlem parametrelerini etkileyen faktörler ile fonksiyonel meyve ve sebze ürünleri geliştirmede kullanımı özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Vakumlu emdirim (impregnasyon), Meyve ve sebze, Mikroyapı, Fonksiyonel gıda

The Use of Vacuum Impregnation Technology for Development of Functional Fruit and Vegetable Products

ABSTRACT

Vacuum impregnation is a unit operation where a mass transfer occurs between a liquid phase and a capillary of foods with a porous structure, like fruits and vegetables. In vacuum impregnation, a couple of processes take place explained by 'hydrodynamic mechanism' and 'deformation-relaxation phenomena' and during the processes, gas outlet from capillaries and liquid inlet from impregnation solution to capillaries are observed by swelling or shrinking of capillaries due to a pressure difference. Vacuum impregnation, however, previously developed to fasten the osmotic dehydration process, has become a popular method to enrich fruit and vegetable tissues with functional substances. Vacuum impregnation is described as a useful technique to transfer mineral, vitamin, phenolic compound, antimicrobial, anti-browning compounds, enzyme, etc. into fruit and vegetable tissues. In this review, the application of vacuum impregnation, hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena, factors affecting process parameters and its use for the development of functional fruit and vegetable products are summarized by presenting results of the latest studies.

Keywords: Vacuum impregnation, Fruit and vegetable, Microstructure, Functional food

GİRİŞ

Vakumlu emdirim tekniği, meyve ve sebzelerin gözenekli yapılarının vitamin, mineral, antimikrobiyal madde, fenolik madde, organik asit gibi maddelerle zenginleştirilmesinde ve fonksiyonel yeni ürün geliştirmede kullanılan faydalı bir teknoloji olarak tanımlanmaktadır [1, 2]. Vakumlu emdirim tekniğinin gıda teknolojisinde uygulaması ikiye ayrılmaktadır. Birincisi, diğerine göre daha eskiye dayanan ozmotik dehidrasyon işlemini hızlandırma amaçlı olan uygulamadır. İkincisi ise, gözenekli yapıya sahip meyve ve sebzelerin amacına uygun maddelerle zenginleştirilmesidir [3]. Bu kapsamda yapılan çalışmaların özellikle son yıllarda gerçekleştirildiği ve sınırlı sayıda yayınlanmış çalışma bulunduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmanın amacı ise vakumlu emdirim işleminin meyve ve sebze teknolojisinde kullanımıyla ilgili literatür çalışmalarının bulgularını baz alarak bir derleme sunmaktır. Bu kapsamda, vakumlu emdirim işleminin uygulaması, etkileyen faktörleri, fonksiyonel meyve ve sebze ürünleri geliştirmede kullanımı ve yeni teknolojiler ile birlikte kullanımı konularına değinilmiştir.

OZMOTİK DEHİDRASYON VE VAKUMLU EMDİRİM TEKNOLOJİSİ

Vakumlu emdirim işlemi, meyve ve sebzelere uygulanan 'ozmotik dehidrasyon' işlemine alternatif olarak geliştirilmiş yeni bir teknoloji olarak nitelendirilmektedir. Ozmotik dehidrasyon, ozmotik çözelti içerisinde bitki dokusundan suyun belli oranlarda uzaklaştırılması için kullanılan yaygın bir yöntemdir ve dondurma, dondurarak kurutma, mikrodalga kurutma, havalı kurutma, vakumlu kızartma gibi işlemler uygulanacak meyve ve sebzelere besinsel, duyu ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmek ve bütünlüklerini korumak için uygulanan ön işlemdir [4]. Ozmotik işlemde, gıdadan ozmotik çözeltiye su geçişi ve çözeltiden gıdaya çözünen geçişi olmak üzere karşılıklı bir akış söz konusudur. Bunların haricinde, üçüncü akış olarak da gıdadan çözeltiye şeker, organik asit, renk maddesi, mineral ve vitaminler geçebilir; ancak bu geçişler oransal olarak önemsiz görülmektedir [3]. Vakumlu emdirim tekniği, ozmotik dehidrasyon işleminin belirli bir süre vakum altında gerçekleştirilmesidir. Bu teknik sayesinde ozmotik dehidrasyon işleminin verimliliğinin arttığı; böylece işlem süresinin kısaldığı bilinmektedir [5]. Vakumlu emdirim tekniğinde işlem, gıda maddesi çözeltiye daldırıldıktan sonra iki adımda gerçekleşmektedir. İlk adımda, sistem kapatılır ve vakum bir süreliğine uygulanır. Böylece, ürün içerisindeki gazın genişlemesi ve ürün dışına çıkışı kolaylaşır. İkinci adımda, vakum kesilir ve kapalı sistem atmosferik basınçta bir süre bekletilir. Bu aşamada kalan gazın sıkışması ve gözeneklerde yer alan gazın hacminde hızlı bir azalma meydana gelir, böylece dışarıdaki sıvının gözenekli yapıya geçişi gerçekleşir [6, 7]. Bu olaylar hidrodinamik mekanizma ve deformasyon – gevşeme olayları teorilerine göre gerçekleşmektedir [8]. Vakumlu emdirim işleminin ozmotik dehidrasyona kıyasla avantajı, katı-sıvı arafaz alanının artması ve her iki fazda kütle transferinin artmasıdır [9, 10]; ayrıca

uçucu bileşenlerin ve ürün renginin kaybı daha azdır ve kütle transfer hızı yüksektir [3].

HİDRODİNAMİK MEKANİZMA VE DEFORMASYON GEVŞEME OLAYI TEORİLERİ

Vakumlu emdirim işleminde, gıda maddesi emdirim çözeltisine daldırıldığında kapiler yapının içindeki ve dışındaki basınç atmosferik basınca eşit durumdadır. Bu anda kapiler yapının içi gazla doludur. İlk durumda, yani vakum sağlanarak basıncın düşmesiyle kapiler borudaki gaz dışarı çıkar. Basıncın düşmesi, aynı zamanda kapiler yapının deformasyonuna ve genişlemesine neden olur. Bu olay, deformasyon – gevşeme olayının (DRP) ilk aşamasıdır. Kapiler yapının hacmi artar ve bu durum basınç dengelenene dek devam eder. Sonrasında, hidrodinamik mekanizma (HDM) sonucu kapiler borular yavaş yavaş sıvı ile dolmaya başlar, kapiler yapının iç basıncı yavaşça yükselir ve serbest hacim azalır. Vakumlu emdirim işleminde vakum kesilip atmosferik basınca dönüldüğünde, DRP gevşeme aşamasına geçilmiş olur. Kapiler borular büzülmeğe başlar ve bu büzülme sonucu oluşan hacim, gıdanın ilk andaki kapiler yapısının hacminden daha düşük seviyelere gelir. Bu anda, kapiler yapının iç basıncının yükselmesi ve büzülme sonucu, dışardan içe doğru yoğun şekilde sıvı akışı meydana gelir [11]. Gevşeme olayı, uygulama açısından çok önemlidir; çünkü maddelerin emdirimi bu aşamada gerçekleşmektedir. Vakumun kesilmesi bir anda çok hızlı olmamalıdır; aksi halde kapiler boruların sıkışıp kapanması sonucu HDM gerçekleşemeyebilir [12].

VAKUMLU EMDİRİM İŞLEMİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Vakumlu emdirim işleminin uygulanması aşamasında, işlem verimliliğini ve işlemler sonunda gıda maddesinin kalitesini etkileyen faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Vakumlu emdirim işlemini etkileyen faktörleri iç ve dış faktörler olarak ikiye ayırarak açıklamak mümkündür [13]. İç faktörler, meyve ya da sebzelerin yapısal özelliklerini; dış faktörler ise emdirim çözeltisinde kullanılan maddeler ile işlem parametrelerini kapsamaktadır. Literatürde vakumlu emdirim konusunda yapılan çalışmalar derlendiğinde, hem vakumlu emdirim işlemini hem de son ürün özelliklerini etkileyen aşağıdaki faktörlerden söz edilmektedir [14 - 16]:

İç Faktörler:

- Meyve sebzelerin gözenek yapısı (kapiler yapının genişliği ve dağılımı),
- Meyve ve sebzelerin çeşidi, türü,
- Meyve ve sebzelerin yüzey alanı, kalınlığı, şekli.

Dış Faktörler:

- Vakum basıncı,
- Vakum uygulama süresi,
- Vakum sonrası restorasyon süresi,
- Emdirim çözeltisinin konsantrasyonu (izotonik, hipertonic veya hipotonik),

- Emdirim çözeltisinde kullanılan çözgenin çeşidi, moleküler ağırlığı,
- Emdirim çözeltisinin viskozitesi, sıcaklığı,
- Karıştırma işlemi,
- Emdirim çözeltisi – gıda oranı.

Öncelikle, meyve ve sebzenin gözenek yapısı vakumlu emdirim işleminin uygulanmasında en önemli parametredir, çünkü işlemin amacına ulaşması için emdirim çözeltisinin kapiler yapıya geçişinin olması gerekmektedir. Meyve ve sebzelerin kapiler yapısının çaplarının genellikle et, balık, peynir gibi gıdalara kıyasla çok daha geniş olması onların vakumlu emdirim işleminde kullanılmasına olanak sağlamaktadır [13]. Kütle transfer hızını etkilediği bilinen yüzey alanı ve yüzey kalınlığı, vakumlu emdirim işlemini etkileyen diğer faktörlerdendir. Dolayısıyla, meyve sebzelerin işlem öncesi hazırlanmasında vakumlu emdirim işleminin amacına yönelik bu faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Çalışmalarda aynı zamanda meyve ve sebzenin mekanik özelliklerinin de emdirim işlemini en az gözenek yapısı kadar etkilediğine vurgu yapılmaktadır [16]. Gras ve ark. [17], emilim oranının, dokunun yapısal ve mekanik özelliklerine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Meyve ve sebzenin aynı çeşit ve türleri kullanıldığında dahi farklılıklar gözlemlenmektedir. Bu farklılıklar, meyve ya da sebzelerin hasat olgunluğu, yetiştiği coğrafya, depoda bekleme süresi gibi birçok faktörden kaynaklanabilmektedir. Buna örnek olarak, Anino ve ark. [18], aynı çeşit elmanın (Granny Smith) farklı zamanlarda elde edilmesi ile elma dilimlerine kalsiyum emdirilmesinde farklı sonuçlar gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Her iki elma örneğinin başlangıçta 11 ppm olan kalsiyum miktarının aynı işlem koşullarında birinde 1150 diğerinde 2050 ppm'e kadar yükseltilmiş olduğunu göstermişlerdir.

Hücreler arası boşluk, emilim oranını belirleyen en önemli faktörlerdendir [19]. Dolayısıyla, farklı meyve ve sebzeler yapıca farklılık gösterdiği için vakumlu emdirim tekniğine uygunlukları incelenmekte ve optimum işlem koşulları belirlenmektedir. Vakumlu emdirim işleminde vakum basıncı, vakum süresi ve vakum sonrası restorasyon süresi gıdaya emdirilen madde(ler)in miktarını, emdirim sonrası gıdanın hücre yapısını ve gıdanın işlem sonrası fiziksel, kimyasal kalite özelliklerini etkileyen en önemli işlem parametreleridir. Bu parametrelerin birbiriyle ilişkili olduğu; özellikle vakum basıncı ile vakum süresinin son ürün özellikleri ve ürün hücre yapısı üzerinde oldukça etkili olduğu vurgulanmaktadır [10, 20]. Dolayısıyla her iki parametrenin optimum koşulları ayarlanarak vakumlu emdirim işlemlerinde parametrelerinin belirlenmesi önemlidir. Hironaka ve ark. [21], iki farklı çeşit bütün patateslerin askorbik asit ile zenginleştirilmesinde 15, 30 ve 60 dakika vakum sürelerinin etkilerini incelemişler ve 60 dakika vakum süresinin diğerlerine kıyasla askorbik asit geçişini 2.5 ila 5 kat artırdığını bildirmişlerdir. Panarese ve ark. [20] vakumlu emdirim tekniğinde kütle transferinin ve gaz çıkışının gerçekleşmesinde basınç eşliğinin belirlenmesi için mikroskobik yöntem geliştirmişlerdir. Ürün gözeneklerine emdirim çözeltisinin geçişinin olduğu HDM aşamasının vakum sonrası

atmosferik basınçta gerçekleşen restorasyon süresince gerçekleştiği bildirilmektedir [21]. Literatür incelendiğinde, vakum basıncının genellikle 100 – 650 mmHg basınç aralığında, vakum süresinin 1 – 10 dakika ve vakum sonrası restorasyon süresinin de 5 – 30 dakika aralığında seçildiği görülmektedir. Bazı çalışmalarda bu aralıkların çok daha ötesinde sürelerin seçildiğine de rastlanılmaktadır. Örneğin, bütün patates diliminin askorbik asit ile zenginleştirilmesinde 180 dakika [21]; mantarın pH değerini düşürmede toplam 720 dakikaya kadar restorasyon süresi denenmiştir [6].

Vakumlu emdirim işleminde diğer bir faktör de emdirim çözeltisinin konsantrasyonudur. İzotonik; çözeltide yer alan çözünenin konsantrasyonunun, çözelti içinde bulunan gıdanın hücre içindeki konsantrasyonu ile aynı olmasıdır. Hipotonik; çözeltide yer alan çözünenin konsantrasyonunun, hücre içi konsantrasyonundan daha düşük olmasıdır. Hipertonik ise; çözeltide yer alan çözünenin konsantrasyonunun, hücre içi konsantrasyonundan daha yüksek olmasıdır. İzotonik çözeltide, hücrede değişim gözlenmezken; hipotonik çözeltide suyun hücre içine girmesi ile hücre şişer ve hipertonik çözeltide ise hücre su kaybederek büzülür. Dolayısıyla, vakumlu emdirim işleminde kullanılması gereken emdirim çözeltisinin seçimi ve amacına yönelik konsantrasyonunun hazırlanması da önemlidir. Ozmotik dehidrasyon işleminde hipertonik çözeltiler kullanılırken [22]; zenginleştirme işlemlerinde ise gıda maddesinden emdirim çözeltisine geçiş sınırlandırılması amacıyla izotonik çözeltiler tercih edilmektedir [7, 20].

Meyve-sebzelerin işlenmesinde vakumlu emdirim işleminde daha çok düşük moleküler ağırlıklı karbonhidratlar seçilir, çünkü çözünenler daha hızlı emilebilmektedir. Örneğin, sakarozun difüzyon hızı glikozdan düşüktür, çünkü glikozun moleküler ağırlığı sakarozun yaklaşık yarısı kadardır [23]. Glikoz, mısır şurubu, meyve suyu konsantreleri meyve sebzelerin vakumlu emdirim işleminde en yaygın kullanılan emdirim çözeltileridir [18, 24, 25]. Emdirim çözeltisine belirli miktarda tuz eklenmesi de ozmotik dehidrasyon işleminde meyve ve sebzelerde maksimum su kaybı ve minimum çözücü emilimi sağladığı gösterilmiştir [3].

Çözelti viskozitesi, sıcaklığı, karıştırma işleminin varlığı ozmotik dehidrasyon işleminde olduğu gibi, vakumlu emdirim işleminde de etkili faktörlerdir. Emdirim çözeltisi olarak hipertonik çözelti kullanıldığında çözelti viskozitesi de doğal olarak artmaktadır ve bu artış sonucu emdirim çözeltisinden kapiler yapıya geçişin sınırlandırıldığı, dolayısıyla emdirim işleminde maddelerin geçişinin sınırlandırıldığı rapor edilmektedir [13, 26]. Sıcaklığın kütle transfer kinetiğini etkilediği bilinmektedir. Genel olarak, ozmotik dehidrasyon işleminde sıcaklığın artışıyla gıdanın ağırlık kaybının arttığı; ancak gıdaya çözünen geçişinin önemli oranda değişmediği rapor edilmektedir [9, 27]. Emdirim çözeltisinin sıcaklığının artışı aynı zamanda çözeltinin viskozitesini düşürmektedir. Bu nedenle, sıcaklığın kütle transferine etkisi açıklanırken çözelti viskozitesindeki azalma da gösterilmektedir [28]. Vakumlu emdirim uygulamalarında karıştırma işleminin türbülent akış oluşturması nedeniyle her iki fazla kütle transferinin arttığı bildirilmektedir [10].

Emdirim çözeltilisinin gıdaya oranı da önemli bir parametredir. Bu oranın yüksek olması çözelti konsantrasyonunun işlem süresince benzer olmasını sağlamakta; ancak yüksek oran daha çok çözelti harcanmasına yol açtığından daha yüksek maliyeti de beraberinde getirmektedir [13].

MEYVE VE SEBZE DOKULARININ ZENGİNLEŞTİRİLMESİNDE VAKUMLU EMDİRİM TEKNİĞİNİN KULLANILMASI

Vakumlu emdirim tekniği fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesinde ve minimum işlem görmüş gıdaların muhafazasında meyve ve sebzelerin canlı hücrelerine çeşitli maddelerin aktarılmasında denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmış bir teknolojidir [29]. Literatür incelendiğinde, vakumlu emdirim tekniği kullanılarak meyve ve sebzelere çeşitli vitaminlerin, minerallerin, probiyotiklerin, pH düşürücü ajanların, aroma maddelerinin, fenolik maddelerin, enzimlerin, antimikrobiyal maddelerin, kriyoprotektanların aktarıldığı çalışmalar bulunmaktadır [6, 7, 14, 21, 25, 30, 31].

Vakumlu emdirim tekniği kullanılarak ilk önce meyve ve sebzelerin mineral maddeler ile zenginleştirilmesi çalışmalarına rastlanılmaktadır [18, 32]. Özel tüketici gruplarını ve tavsiye edilen günlük mineral tüketim miktarını hedef alarak meyve ve sebzelerin dokularına demir, çinko, kalsiyum gibi minerallerin aktarıldığı çalışmalar mevcuttur [24, 33].

Tüketime hazır taze meyve ve sebzelerin kabuk soyma, dilimleme gibi işlemleri olduğundan üründe esmerleşme ve mikrobiyal bozulma riskleri bulunmaktadır. Aynı zamanda, raf ömrü süresince dokuda istenmeyen bozulmalar meydana gelebilmektedir [34]. Söz konusu olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla, vakumlu emdirim tekniği ile meyve ve sebzelere esmerleşmeyi önleyici ajanlar, antimikrobiyal maddeler ve dokunun korunmasını sağlayacak kalsiyum tuzlarının aktarılması pratik bir yöntem olarak değerlendirilmektedir [35]. Tüketime hazır taze meyve ve sebzelere aktarılan maddeler yalnızca raf ömrünü uzatmak amacıyla değil aynı zamanda besin değerini ya da fonksiyonel özelliğini artırmaya yönelik de olabilmektedir. Vitaminler, mineraller, aroma maddeleri, probiyotik bakteriler, fenolik maddeler bunlara örnektir [25, 31, 36]. Burada ürünün taze olması ve hücrenin de canlı olmasından dolayı işlem parametrelerinden özellikle vakum basıncı ve vakum süresinin kontrollü uygulanması gerekmektedir [29].

Perez-Cabrera ve ark. [7], minimum işlem görmüş armut dilimlerini bazı esmerleşmeyi önleyici ajanlarla (trisodyum sitrat, sodyum L-askorbat, EDTA, 4-heksilresorkinol sitrat) vakumlu emdirim işlemine tabi tutmuşlar ve kontrole kıyasla bu ürünlerin mikrobiyolojik, duyuşsal, mekanik özelliklerinin ve raf ömrünün yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Raf ömrü süresince ürünlerin renk, doku ve mikrobiyolojik kalitelerini dikkate alarak en uygun emdirim çözüneni olarak askorbatı belirlemişlerdir. Vakumlu emdirim işlemi ile üretilmiş meyve ve sebzelerde depolama boyunca mikrobiyal kalitenin daha çok korunduğu ve ürünlerin raf ömrünün

arttığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [7, 31]. Park ve ark. [31], Fuji çeşidi elma dilimlerine farklı emdirim çözeltileri kullanarak E vitamini, kalsiyum ve çinko aktarmışlardır. Vakum basıncının 100 mmHg, vakum süresinin 15 dakika ve restorasyon süresinin 30 dk olarak belirtildiği çalışmada, vakumlu emdirim işlemi ile üretilmiş elma örneklerinin taze elmaya kıyasla yaklaşık 100 kat yüksek E vitamini ve 20 kat yüksek kalsiyum ve çinko içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir. Yedi gün soğukta depolamanın sonunda 1 gram elmada toplam canlı sayısını 2.6 log Koloni Oluşturma Birimi (KOB) olarak tespit etmişler ve bu değer endüstriyel standartların çok altında olduğunu rapor etmişlerdir. Vakumlu emdirim işleminin, üç haftalık soğukta depolama süresince elmalarda toplam renk değişimini önemli oranda azalttığı; ayrıca elmaların mekanik özellikleri arasında olan 'sıklık' değerini korumada yardımcı olduğu rapor edilmiştir.

Meyve ve sebzelerin dokularına çeşitli maddelerin aktarıldığı bazı çalışmalara ait temel veriler Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'de ürün çeşidi, emdirilmesi amaçlanan madde(ler), emdirim çözeltisi özelliği ve işlem koşulları incelenmiştir.

Vakumlu emdirim işleminin her ne kadar birçok avantajı bulunsa da, işlemler sonunda meyve ve sebzelerin fenolik madde miktarlarında, dolayısıyla ürün antioksidan kapasitelerinde azalma meydana gelebilmektedir [43, 44]. Bu durumu göz önünde bulundurarak meyve ve sebzelerin fenolik maddeler ile zenginleştirilmesi çalışmaları da bulunmaktadır [45]; ancak literatürde bu konuda sınırlı sayıda çalışma olduğu söylenebilir. Schulze ve ark. [36], atık olarak görülen elma kabuklarından özütleyerek elde ettikleri kuarsetin türevlerinin kabuğu soyulmuş elmanın paransima hücrelerine geçişini sağlamak amacıyla vakumlu emdirim tekniğini uygulamışlar ve uygun işlem koşullarında vakumlu emdirim tekniğinin kabuğu soyulmuş elma dilimlerinin kuarsetinle zenginleştirilmesinde etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Vakumlu emdirim işlemine tabi tutulan meyve ya da sebzelerin çözeltiyle teması sonucu dokuda istenmeyen değişimler de gözlenmektedir. Buna çözüm olarak da emdirim çözeltilisine kalsiyum tuzları eklenmektedir. Kalsiyum tuzlarının dokuya aktarılarak pektin moleküllerini çapraz bağlayarak dokunun yumuşaması önlenmektedir. Kalsiyum tuzları olarak kalsiyum glukonat, kalsiyum klorür, kalsiyum laktat, kalsiyum kazeinat kullanılmaktadır; ancak bunlar arasında çözünürlüğünün yüksek olması ve üründe istenmeyen tat değişimine neden olmadığı için kalsiyum laktat daha çok tercih edilmektedir [18, 46].

Meyve ve sebzelerin pastörizasyona uygun ısıl işlem koşullarını sağlamak amacıyla ürünlerin pH'larının düşürülmesinin (pH<4.6) hedeflendiği çalışmalar da bulunmaktadır. Derossi ve ark. [6, 40], iki farklı çalışmada, mantarın ve biberin laktik asit ile pH değerlerini düşürebilmek amacıyla vakumlu emdirim tekniğinden yararlanmışlar ve vakumlu emdirim tekniğinin bu ürünlerin asitliğinin artırılmasında

kullanılabilecek bir yöntem olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarda farklı vakum basınçları (460-610 mmHg), vakum süreleri (2 ve 5 dakika) ve restorasyon süreleri

(10, 15 ve 30 dakika) denenmiş ve vakum basıncının ürünlerin pH değerlerini düşürmede çok önemli bir parametre olduğu rapor edilmiştir.

Tablo 1. Vakumlu emdirim tekniği ile meyve ve sebzelere çeşitli maddelerin aktarıldığı literatür çalışmaları

Hammadde	Emdirilen madde	Emdirim Çözeltisi / Çözelti : ürün oranı	İşlem koşulları	Sonuç	Kaynak
Elma Çilek Ahududu	Pektinmetilesteraz (PME) ve kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	%35 sakaroz çözeltisi içerisinde %0.6 PME ve %1 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / 1:1	50 mmHg vakum basıncı, 2 dk. vakum süresi + pastörizasyon	PME ve CaCl_2 sinerjik etki ile ürünlerin sıklılığını artırmıştır	[37]
Çilek (<i>Totem</i>)	Kriyoprotektanlar: Yüksek fruktozlu mısır şurubu (YFMS) ve yüksek metoksi pektin (YMP); ayrıca mineraller (kalsiyum ve çinko)	1. % 50 YFMS içinde %12 Ca-glukonat – Ca-laktat karışımı ve %0.04 Zn-laktat 2. %3 YMP içinde %12 Ca-glukonat – Ca-laktat karışımı ve %0.04 Zn-laktat / 3:1	Vakum basıncı = 50 mmHg Vakum süresi = 15 dk. Restorasyon süresi = 30 dk.	Dondurulmuş çözündürülmüş çileğin dokusal özelliklerinin korunmasında etkili olmuştur. Mineraller de besinsel içeriğin artırılmasında etkili olmuştur.	[38]
Trabzon hurması (<i>Diospyros kaki</i> L.)	-	24 'Bx sakaroz çözeltisi / -	Vakum basıncı = 722.5 mmHg Vakum süresi = 5 dk. Restorasyon süresi = 5 dk.	Duyusal, mekanik ve optik özelliklerinde kontrole kıyasla olumlu değişim gözlenmiştir.	[39]
Biber	Laktik asit	Suyun pH değerini 2.70'e düşürecek kadar laktik asit ilavesi / 5:1	Vakum basıncı = 460 ve 610 mmHg Vakum süresi = 2 ve 5 dk. Restorasyon süresi = 10, 15 ve 30 dk.	pH değişim değeri (RpH) 460 ve 610 mmHg vakum basınçları için sırasıyla 0.894 ve 0.929 olarak bulgulanmıştır. Vakum uygulanmadığında bu değer 0.968 olarak kalmıştır.	[40]
Kabak (<i>Cucurbita pepo</i> , L.)	Kalsiyum klorür (CaCl_2)	%10 maltodekstrin çözeltisi içerisinde %0 – 5 NaCl ve 0 – 1000 mM CaCl_2 / 3.3:1	Vakum basıncı = 741.25 mmHg Vakum süresi = 10 dk. Restorasyon süresi = 30 dk.	Örneklere çözünen madde ve su geçişi hızlanmıştır. Kalsiyum sayesinde doku korunmuştur.	[41]
Elma (<i>Golden delicious</i>)	Sorbitol, glikoz, sakaroz, trehaloz, maltoz	İlk aşama: saf su İkinci aşama: %13'lük farklı izotonik çözeltiler (sorbitol, glikoz, sakaroz, trehaloz ve maltoz) / her iki aşamada da 4:1	İlk aşama: 642.8 ve 37.5 mmHg arasında değişen vakum basınçları (10 s vakum süresi) ve 642.8, 553.5 ve 464.3 mmHg vakum basınçları (100 ve 1000 s vakum süresi) İkinci aşama: 553.5 mmHg vakum basıncı, 10 s vakum süresi 1 dk. restorasyon süresi (her aşamada)	553.5 mmHg vakum basıncı ve 10 s vakum süresi en az çözünen kaybının olduğu ve renk değerlerinin en çok korunduğu işlem koşulu olarak belirlenmiştir. İzotonik karbonhidratların kullanımının (özellikle sorbitol, trehaloz ve sakaroz) ürünün duyusal özelliklerini ve raf ömrünü artırmada katkıları olmuştur.	[42]

Meyve suyu sanayinde, meyvelerin hücre duvarını parçalamak ve pres verimini artırmak amacıyla çeşitli enzimlerin kullanıldığı bilinmektedir [47]. Guillemin ve ark. [30], ise pektinmetilesteraz enzimini vakumlu emdirim işlemi ile elma dokusuna aktararak enzimatik işlem uygulamanın meyve suyu sanayi için verimi artırmada yeni potansiyel bir yöntem olabileceğini yaptıkları çalışmanın sonuçlarıyla bildirmişlerdir.

Vakumlu emdirim işlemi ile meyve ve sebzelerin çeşitli maddeler ile zenginleştirilmesinin ardından kurutma işlemi uygulanarak kurutulmuş atıştırmalık meyveler de üretilebilmektedir [2, 48]. Castagnini ve ark. [2], elma dilimlerine vakumlu emdirim işlemi ile yaban mersini suyunu aktardıktan sonra konvektif ve dondurarak kurutma işlemleri ile atıştırmalık elma dilimi üretmişlerdir. Konvektif kurutma işleminin farklı sıcaklıklarının (30, 40 ve 50°C) ve dondurarak kurutma işleminin karşılaştırıldığı çalışmada ürünlerin antosiyanin, fenolik madde ve antioksidan kapasiteleri dikkate alındığında en uygun yöntemlerin dondurarak kurutma ya da 40°C'de konvektif kurutma olduğunu bildirmişlerdir.

VAKUMLU EMDİRİM İLE BİRLİKTE YA DA EŞ ANLI UYGULANAN YENİ TEKNOLOJİLER

Vakumlu emdirim uygulamalarında ön işlem ya da son işlem olarak birlikte uygulanan ya da vakumlu emdirim işlemi esnasında eş anlı uygulanan teknolojilerin yer aldığı çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, yeni (novel) teknolojilerin vakumlu emdirim işleminin etkinliğini artırmada etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Vakumlu emdirim ile birlikte ohmik ısıtma, vurgulu elektrik alanı, elektron demeti ışınlama ve ultrases teknolojilerinin kullanıldığı görülmektedir. Konuyla ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunsa da, söz konusu teknolojilerin vakumlu emdirim işleminin etkinliğini artırmada oldukça etkili oldukları görülmektedir. Çalışmaların tamamının son yıllarda gerçekleştirildiği ve her çalışmanın sonucunda da eş anlı işlemlerin etkisini gösteren ve açıklayan çok daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği vurgulanmaktadır [25, 49].

Moreno ve ark. [50], çileklerin ozmotik dehidrasyonu aşamasında vakumlu emdirim işlemine eş anlı olarak ohmik ısıtmanın etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, ozmotik dehidrasyon/ohmik ısıtma ve vakumlu emdirim/ohmik ısıtma işlemleri uygulanmış ve son ürünlerin su aktivitesi, renk, sıklık ve mikro yapısı dikkate alınarak eş anlı uygulanan işlemler karşılaştırılmıştır. Çalışmada ayrıca, 50 günlük depolama süresince mikrobiyal değişim de incelenmiştir. Ohmik ısıtma; 70, 100 ve 130 V değerlerine karşılık gelen 9.2, 13 ve 17 V/cm elektrik alan kuvvetlerinde uygulanmıştır. En yüksek çözünen geçişi, dokuda en az kayıp ve en az renk kaybı 13 V/cm vakumlu emdirim/ohmik ısıtma işleminin uygulandığı ozmotik dehidrasyon işleminde gözlenmiştir. Aynı işlemin sonunda elde edilen ürünlerin 5°C'de depolanması ile raf ömrünün kontrole kıyasla 12 günden 25 güne uzadığı bulgulanmıştır. Ohmik ısıtmanın vakumlu emdirim işlemi ile eş anlı uygulanmasında, ohmik

ısıtmanın elektrik alan yaratarak ozmotik çözümlerden çözünen geçişini artırdığı düşünülmektedir.

Moreno ve ark. [51], armutların ozmotik dehidrasyonunda ohmik ısıtmanın (100 V) vakumlu emdirim işlemi ile eş anlı uygulanmasının dehidrasyon kinetiği ve ürün mikro yapısına etkisini incelemişlerdir. Ohmik ısıtmanın vakumlu emdirim ile eş anlı uygulanması işlem süresini %40'lara kadar kısaltmış ve ürün dokusunda sıklığın çok daha az kaybolduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ohmik ısıtma uygulamasının hücreye madde geçirgenliğini artırdığı ve böylece işlem süresinin kısaltıldığı yorumu yapılmıştır.

Donma dayanıklılığını artırmak amacıyla bir kriyoprotektan olan trehalozun vakumlu emdirim ile ıspanağa aktarılması çalışmasında, ön işlem olarak vurgulu elektrik alan (Pulsed electric field; PEF) uygulaması yapılmış ve yalnızca vakumlu emdirim işlemi uygulamasına kıyasla farkı değerlendirilmiştir [52]. PEF uygulaması ile hücre duvarının etkilenmesi sağlanmış (iyon sızıntısı değeri artmış), dolayısıyla trehalozun hücre içine geçişi sağlanmıştır. Vakumlu emdirimin tek başına uygulanması ile trehalozun yalnızca hücreler arası boşluğa aktarıldığı gözlenmiştir. Bundan dolayı, yalnızca vakumlu emdirim uygulamasına kıyasla PEF ön işleminin ıspanakların donma dayanımını artırdığı sonucuna ulaşılmıştır.

Dilimlenmiş mantarlara farklı esmerleşme önleyici ajanlar vakumlu emdirim tekniği ile aktarılmış ve işlem sonunda elde edilen mantarlar iki gruba ayrılarak bir grup mantara 'elektron demeti ışınlama' işlemi uygulanmış; diğer grup ise 'kontrol' olarak değerlendirilmiştir. Kontrol örneklerinin ışınlama işlemi görmüş örneklere kıyasla depolama süresince dokusal kayıplara uğradıkları gözlenmiştir. Depolama sonunda, yalnızca ışınlama işlemi uygulanmış mantar dilimlerinin kabul edilebilir renge sahip olduğu bildirilmiştir. Işınlama ile mikrobiyal gelişim sınırlandırıldığından, ışınlama işlemi görmüş mantar dilimleri duyu analizi panelistlerince beğenilmiştir [49].

Vakumlu emdirim işleminde vakum sonrası restorasyon süresince ultrases uygulamasının elma dokusuna aroma maddelerinin aktarılmasına etkisinin incelendiği bir çalışmada [25], ultrasesin uygulandığı durumda restorasyon süresinin 5. dakikasında en yüksek aroma emdiriminin gerçekleştiği bulgulanmıştır.

Vakumlu emdirim işleminde restorasyon süresince ultrasesin uygulandığı diğer bir çalışmada, muz dilimlerine kurkumin renk maddesinin (zerdeçalın pigmenti) aktarılmasında, kontrole kıyasla ultrases uygulamasının daha çok kurkumin aktarımına, örneklerin daha az sıkıştırıcı basınç değerine sahip olmasına ve en yüksek toplam renk farkı değerine sahip olmasını sağlamıştır. Ayrıca, ultrases varlığında örneklerin dehidrasyonunda kurkuminin daha çok korunduğu rapor edilmiştir [45].

SONUÇ

Vakumlu emdirim ilk olarak 25 yıl kadar önce ortaya çıkmış bir teknoloji olsa da günümüzde bu konu üzerinde çalışmaların sürüyor olması ve farklı potansiyel uygulamalarının bulunması sebebiyle hâlihazırda yeni teknoloji olarak nitelendirilmektedir. Vakumlu emdirim tekniğinin, meyve ve sebze teknolojisinde başlı başına kullanılmasının haricinde ön işlem ya da son işlem olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır. Vakumlu emdirim işleminde etkili birçok parametrenin bulunması ve son ürün özelliklerinin de bu parametrelerden etkilendiğinin bilinmesinden ötürü konuyla ilgili daha çok çalışmanın yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Ayrıca, özel tüketici gruplarını göz önünde bulundurarak vakumlu emdirim tekniği ile meyve ve sebzelere çeşitli maddelerin aktarıldığı ve gıda endüstrisinde uygulaması olabilecek yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna ulaşılabilmektedir.






KAYNAKLAR

- [1] Mao, J., Zhang, L., Chen, F., Lai, S., Yang, B., Yang, H., 2017. Effect of Vacuum Impregnation Combined with Calcium Lactate on the Firmness and Polysaccharide Morphology of Kyoho Grapes (*Vitis vinifera* x *V. labrusca*). *Food and Bioprocess Technology* 10(4): 699 – 709.
- [2] Castagnini, J.M., Betoret, N., Betoret, E., Fito, P., 2015. Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix. *LWT-Food Science and Technology* 64(2): 1289-1296.
- [3] Zhao, Y., Xie, J., 2004. Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Food Science & Technology* 15(9): 434 – 451.
- [4] Maran, J.P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., Sridhar, R., 2013. Artificial neural network and response surface methodology modeling in mass transfer parameters predictions during osmotic dehydration of *Carica papaya* L. *Alexandria Engineering Journal* 52(3): 507 – 516.
- [5] Fito, P., Chiralt, A., 2000. An approach to the modeling of solid food-liquid operations: Application to osmotic dehydration. *Food engineering* 231-252.
- [6] Derossi, A., Pilli, T.D., Severini, C., 2013. Application of pulsed vacuum acidification for the pH reduction of mushrooms. *LWT - Food Science and Technology* 54(2): 585 – 591.
- [7] Perez-Cabrera, L., Chafer, M., Chiralt, A., Gonzalez-Martinez, C., 2011. Effectiveness of antibrowning agents applied by vacuum impregnation on minimally processed pear. *LWT - Food Science and Technology* 44(10): 2273 – 2280.
- [8] Fito, P., Chiralt, A., Barat, J.M., Andres, A., Martinez-Monzo, J., Martinez Navarrete, N., 2001. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering* 49(4): 297 – 302.
- [9] Lombard, G., Oliveira, J., Fito, P., Andres, A., 2008. Osmotic dehydration of pineapple as a pre-treatment for further drying. *Journal of Food Engineering* 85(2): 277 – 284.
- [10] Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., Lopez-Malo, A., Palou, E., Welti-Chanes, J., 2003. Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of Food Engineering* 57(4): 305 – 314.
- [11] Radziejewska-Kubzdela, E., Biegańska-Marecik, R., Kidoń, M., 2014. Applicability of vacuum impregnation to modify physico-chemical, sensory and nutritive characteristics of plant origin products—a review. *International journal of Molecular Sciences* 15(9): 16577-16610.
- [12] Yılmaz, F.M., 2017. Vakumlu emdirim tekniğinin tüketime hazır taze elmanın doğal renk maddesi ve bazı katkı maddeleri ile zenginleştirilmesi amacıyla kullanılması. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- [13] Derossi, A., De Pilli, T., Severini, C., 2012. The application of vacuum impregnation techniques in food industry. In *Scientific, health and social aspects of the food industry*. InTech, Croatia.
- [14] Martínez-Monzó, J., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A., Fito, P., 1998. Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science* 63(3): 499-503.
- [15] Tappi, S., Tylewicz, U., Romani, S., Siroli, L., Patrignani, F., Dalla Rosa, M., Rocculi, P., 2016. Optimization of vacuum impregnation with calcium lactate of minimally processed melon and shelf-life study in real storage conditions. *Journal of Food Science* 81(11): 2734 - 2742.
- [16] Salvatori, D., Andres, A., Chiralt, A., Fito, P., 1998. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering* 21(1): 59-73.
- [17] Gras, M., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A., Fito, P., 2003. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation: Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering* 56(2): 279 – 284.
- [18] Anino, S.V., Salvatori, D.M., Alzamora, S.M., 2006. Changes in calcium level and mechanical properties of apple tissue due to impregnation with calcium salts. *Food Research International* 39(2): 154 – 164.
- [19] Fito, P., Pastor, R., 1994. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering* 21(4): 513 – 519.
- [20] Panarese, V., Dejmek, P., Rocculi, P., Galindo, F.G., 2013. Microscopic studies providing insight into the mechanisms of mass transfer in vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 18: 169 – 176.
- [21] Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., Yasuda, K., Mori, M., Tsuda, S., 2011. Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food Chemistry* 127(3): 1114-1118.

- [22] Azoubel, P.M., Murr, F.E.X., 2004. Mass transfer kinetics of osmotic dehydration of cherry tomato. *Journal of Food Engineering* 61(3): 291 - 295.
- [23] Panagiotou, N.M., Karathanos, V.T., Maroulis, Z.B., 1999. Effect of osmotic agent on osmotic dehydration of fruits. *Drying Technology* 17(1-2): 175 - 189.
- [24] Xie, J., Zhao, Y., 2003. Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 54(5): 387 - 398.
- [25] Comandini, P., Blanda, G., Mujica Paz, H., Valdez Fragoso, A., Gallina Toschi, T., 2010. Impregnation techniques for aroma enrichment of apple sticks: A preliminary study. *Food and Bioprocess Technology, Springer-Verlag* 3(6): 861-866.
- [26] Barat, J.M., Chiralt, A., Fito, P., 2001. Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pretreatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Science and Technology International* 7(5): 451 - 456.
- [27] Sereno, A.M., Moreira, R., Martinez, E., 2001. Mass transfer coefficients during osmotic dehydration of apple in single and combined aqueous solutions of sugar and salt. *Journal of Food Engineering* 47(1): 43 - 49.
- [28] Khoyi, M.R., Hesari, J., 2007. Osmotic dehydration kinetics of apricot using sucrose solution. *Journal of Food Engineering* 78(4): 1355 - 1360.
- [29] Yilmaz, F.M., Ersus Bilek, S., 2017. Natural colorant enrichment of apple tissue with black carrot concentrate using vacuum impregnation. *International Journal of Food Science & Technology* 52(6): 1508-1516.
- [30] Guillemin, A., Degraeve, P., Guillon, F., Lahaye, M., Saurel, R., 2006. Incorporation of pectinmethylesterase in apple tissue either by soaking or by vacuum-impregnation. *Enzyme and Microbial Technology* 38(5): 610-616.
- [31] Park, S. I., Kodihalli, I., Zhao, Y., 2005. Nutritional, sensory, and physicochemical properties of vitamin e and mineral-fortified fresh-cut apples by use of vacuum impregnation, *Journal of Food Science* 70(9): 593-599.
- [32] Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., Andres, A., Vidal, D., 2001. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering* 49(2): 175-183.
- [33] Xie, J., Zhao, Y., 2003. Improvement of physicochemical and nutritional qualities of frozen Marionberry by vacuum impregnation pretreatment with cryoprotectants and minerals. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78(2): 248 - 253.
- [34] Perera, C.O., 2007. Minimal processing of fruits and vegetables. In: *Handbook of Food Preservation*, Edited by S. Rahman, CRC Press, Second Edition, 137 - 138p.
- [35] Day, L., Seymour, R.B., Pitts, K.F., Konczak, I., Lundin, L., 2009. Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science & Technology* 20(9):388 - 395.
- [36] Schulze, B., Peth, S., Hubbermann, E.M., Schwarz, K., 2012. The influence of vacuum impregnation on the fortification of apple parenchyma with quercetin derivatives in combination with pore structures X-ray analysis. *Journal of Food Engineering* 109(3): 380 – 387.
- [37] Degraeve, P., Saurel, R., Coutel, Y., 2003. Vacuum impregnation pretreatment with pectin methyl esterase to improve firmness of pasteurized fruits. *Journal of Food Science* 68(2): 716 - 721.
- [38] Xie, J., Zhao, Y., 2004. Physical and physicochemical characteristics of three US strawberry cultivars grown in the Pacific Northwest. *Journal of Food Quality* 27(3): 181 - 194.
- [39] Igual, M., Castelló, M.L., Ortolá, M.D., Andrés, A., 2008. Influence of vacuum impregnation on respiration rate, mechanical and optical properties of cut persimmon. *Journal of Food Engineering* 86(3): 315 - 323.
- [40] Derossi, A., Pilli, T.D., Severini, C., 2010. Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. *Journal of Food Engineering* 99(1): 9 – 15.
- [41] Occhino, E., Hernando, I., Llorca, E., Neri, L. and Pittia, P., 2011. Effect of vacuum impregnation treatments to improve quality and texture of zucchini (Cucurbitapepo L.). *Procedia Food Science* 1: 829 - 835.
- [42] Neri, L., DiBiase, L., Sacchetti, G., DiMattia, C., Santarelli, V., Mastrocola, D., Pittia, P., 2016. Use of vacuum impregnation for the production of high quality fresh-like apple products. *Journal of Food Engineering* 179: 98 - 108.
- [43] Rößle, C., Brunton, N., Gormley, T.R., Butler, F., 2011. Quality and antioxidant capacity of fresh-cut apple wedges enriched with honey by vacuum impregnation. *International Journal of Food Science & Technology* 46(3): 626-634.
- [44] Blanda, G., Cerretani, L., Bendini, A., Cardinali, A., Scarpellini, A., Lercker, G., 2008. Effect of vacuum impregnation on the phenolic content of Granny Smith and Stark Delicious frozen apple cvv. *European Food Research and Technology* 226(5): 1229-1237.
- [45] Bellary, A.N., Rastogi, N.K., 2014. Effect of selected pretreatments on impregnation of curcuminoids and their influence on physico-chemical properties of raw banana slices. *Food and Bioprocess Technology* 7(10): 2803-2812.
- [46] Moraga, M., Moraga, G., Fito, P., Martínez-Navarrete, N., 2009. Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. *Journal of Food Engineering* 90(3): 372 – 379.
- [47] Bilek, S.E., Yilmaz, F.M., Özkan, G., 2017. The effects of industrial production on black carrot concentrate quality and encapsulation of anthocyanins in whey protein hydrogels. *Food and Bioprocess Processing* 102: 72 - 80.
- [48] Martínez-Monzó, J., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A., Fito, P., 1998. Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science* 63(3): 499-503.

- [49] Karacaoğlu, C., Gürsoy, O., Yılmaz, Y., 2016. Ultrasonikasyon destekli vakum impregnasyon (emdirme) tekniği ile muamele işleminin kivi dilimlerinin kuruma kinetiği üzerine etkisi. *Akademik Gıda* 14(3): 256-266.
- [50] Yurttas, Z.S., Moreira, R.G., Castell-Perez, E., 2014. Combined vacuum impregnation and electron-beam irradiation treatment to extend the storage life of sliced white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Food Science* 79(1): 39 - 46.
- [51] Moreno, J., Simpson, R., Pizarro, N., Parada, K., Pinilla, N., Reyes, J.E., Almonacid, S., 2012. Effect of ohmic heating and vacuum impregnation on the quality and microbial stability of osmotically dehydrated strawberries (cv. Camarosa). *Journal of Food Engineering* 110(2): 310 - 316.
- [52] Moreno, J., Simpson, R., Sayas, M., Segura, I., Aldana, O., Almonacid, S., 2011. Influence of ohmic heating and vacuum impregnation on the osmotic dehydration kinetics and microstructure of pears (cv. Packham's Triumph). *Journal of Food Engineering* 104(4): 621 - 627.
-
-

Bakteriyofajların Antibakteriyel Ajan Olarak Kullanımı

Firuze Ergin , Gizem Yıldız , Emine Mine Çomak Göçer , Ahmet Küçükçetin  

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 03.04.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 14.06.2017

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

☎ 0 242 310 65 69 📠 0 242 310 63 06

ÖZ

Doğada en fazla bulunan biyolojik topluluklardan birini temsil eden bakteriyofajlar, kendilerine özgü hedef bakteriyi öldürebilen bakteri virüsleri olarak tanımlanmaktadır. Bakteriyofajlar, 20. yüzyılın başlarında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Ancak, penisilin keşfi ve antibiyotik endüstrisinin gelişmesi, bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımının göz ardı edilmesine neden olmuştur. Patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması, bakteriyofaj uygulamasını yeniden gündeme getirmiştir. Son yıllarda patojen bakterilere karşı bakteriyofajların kullanıldığı ve "faj terapisi" olarak adlandırılan tedavi yönteminin geliştirilmesine yönelik çalışmalar hızla artmaktadır. Bakteriyofajlar, gıdalarda patojen bakterilerin kontrolünde ve bazı ülkelerde hayvan ve insanlarda patojen bakteri enfeksiyonları ile mücadelede antibakteriyel ajan olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte bakteriyofajlar, gıdanın fizikokimyasal özellikleri, koruyucu bileşenleri, depolama koşulları ve ağız yoluyla alınmalarından sonra gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında yüksek asitlik, sindirim enzimleri ve safra gibi olumsuz etkilere maruz kalmalarından dolayı aktivitelerini kaybetmektedir. Yapılan çalışmalar bakteriyofajları, bileşenleri, fizikokimyasal özellikleri ve depolama koşulları ile gıdanın ve gastrointestinal sistemin olumsuz etkilerine karşı korumak için mikrokapsülasyon yönteminin kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bu derlemede, bakteriyofajların gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanımı ve mikrokapsüle bakteriyofajların *in vitro* gastrointestinal sistem koşullarında salınımları ile ilgili bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyofaj, Antibakteriyel ajan, Mikrokapsülasyon

Use of Bacteriophages as Antimicrobial Agents

ABSTRACT

Bacteriophages represent one of the most abundant biological populations in nature and are defined as bacterial viruses that can kill specific target bacteria. Bacteriophages had been used to treat bacterial infections at the beginning of the 20th century. However, discovery of penicillin and development of antibiotic industry caused the uses of bacteriophage as an antibacterial agent to be ignored. Gaining resistance to antibiotics of pathogenic bacteria brought up bacteriophages application again. In recent years, studies have been increasing on the uses of bacteriophages against pathogenic bacteria and the development of a treatment method called "phage therapy". Bacteriophages have been used as an antibacterial agent to control pathogenic bacteria in foods and to combat pathogenic bacteria infections in animals and humans in some countries. Moreover, bacteriophages have lost their activities because of exposure to adverse effects such as physicochemical properties, preventive components and storage conditions of food and high acidity, digestive enzymes and bile during their passage along the gastrointestinal system after taken orally. Studies have revealed that microencapsulation can be used to protect bacteriophages against adverse effects of components, physicochemical properties and storage conditions of food, and gastrointestinal system. In this study, the use of bacteriophages as antibacterial agents in foods and the releases of microencapsulated bacteriophages in the conditions of *in vitro* gastrointestinal system are reviewed.

Keywords: Bacteriophage, Antibacterial agent, Microencapsulation

GİRİŞ

Bakteriyofajların varlığı ilk kez 1896 yılında Ernest Hankin tarafından fark edilmiştir. Frederick Twort tarafından 1913 yılında "bakterileri enfekte ederek öldüren bir etmen" olarak tanımlansa da; Felix d'Herelle, 1917'de "dizanteri basilinin görünmez bir mikrobunu" keşfederek bakteriyofaj olarak adlandırmış ve bakteriyofajların antimikrobiyal etkisini dünyaya duyuran ilk kişi olmuştur. Bakteriyofajların antimikrobiyal ajan olarak kullanımı, 1928'de Alexander Fleming'in bakterilerin çoğalmasını engelleyen penisilini bulmasıyla Batı dünyası için önemini yitirmiş ve patojen bakterilere karşı antibiyotik çağı başlamıştır [1, 2]. Patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanması ve bu durum karşısında yeni geliştirilen antibiyotiklerin de yetersiz kalması, bilim insanlarını patojen bakterilere karşı yeni yöntemler geliştirmeye yönlendirmektedir [3, 4]. Son yıllarda patojen bakterilere karşı bakteriyofajların kullanıldığı ve "faj terapisi" olarak adlandırılan tedavi yöntemi hızla gelişmektedir [5]. Bakteriyofajlar antibakteriyel ajan olarak, gıdalarda patojen bakterilerin kontrolünde, gıdaların duysal özelliklerini değiştiren yüksek ve düşük sıcaklık uygulamaları, kurutma, fermentasyon işlemi ve kimyasal koruma gibi klasik yöntemlerin yerine kullanılabilir [6]. Ayrıca bakteriyofajlar bazı ülkelerde hayvan ve insanlarda patojen bakteri enfeksiyonları ile mücadelede de kullanılmaktadır. Bakteriyofajların antimikrobiyal özelliğinden faydalanabilmesi için, üretiminde kullanılan gıdanın fizikokimyasal özellikleri (sıcaklık, pH, a_w vb.), koruyucu bileşenleri ve depolama koşulları gibi olumsuzluklara karşı direnç göstermesi bir zorunluluktur. Ayrıca bakteriyofajların gıda ile birlikte vücuda alındıktan sonra gastrointestinal sistemden geçiş süresince de yüksek asitlik ile enzim ve safra gibi olumsuz koşullarda aktivitelerini koruması ve vücuttaki hedef bölgeye ulaşması gerekmektedir [7]. Bakteriyofajların gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanımlarının yanında bakteriyofajları hem gıdanın olumsuz özelliklerinden hem de tüketimleri sonucunda gastrointestinal sistemin olumsuz koşullarından korumak için mikrokapsülasyon uygulamalarına yönelik çalışmalar artmaktadır [8]. Bu derleme, bakteriyofajların gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanımı, bakteriyofajların mikrokapsülasyonu ve bakteriyofajların *in vitro* gastrointestinal sistem koşullarında mikrokapsüllerden salınımları ile ilgili bilgilerinin verilmesi amaçlanmaktadır.

BAKTERİYOFAJLAR VE ANTİBAKTERİYEL AJAN OLARAK GIDALARDA KULLANIMLARI

Bakteriyofajlar, prokaryot organizmaları enfekte eden virüsler olarak tanımlanmaktadır. Bakteriyofajlar hayat döngülerini litik ve lizogenik olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirmektedir. Lizogenik döngüde bakteriyofaj, bakteri hücresi içine girdikten sonra genetik materyalini bakteri DNA'sı ile entegre hale getirmektedir. Bakterinin içinde bulunduğu çevresel koşullar kötüleşmediği sürece bakteriyofaj etkisiz bir şekilde varlığını sürdürmektedir. Ancak bakterinin çevresel koşulları bozulduğunda, örneğin besin kaynakları tükendiğinde, bakteri içindeki bakteriyofaj

aktif hale gelmekte ve çoğalarak bakteriyi parçalamaktadır. Litik döngüde ise, bakteriyofaj bakteriyi içinde çoğalmakta, bakteriyi parçalayarak başka bakterileri de enfekte edecek yeni bakteriyofajların oluşumuna neden olmaktadır. Bakteriyofajların antimikrobiyal etkilerini gösterebilmeleri için litik döngüye sahip olmaları gerekmektedir [9].

Kimyasal antibiyotiklerle karşılaştırıldığında patojenlere karşı bakteriyofaj uygulamasının birçok avantajı bulunmaktadır. Bakteriyofajlar yalnızca kendilerine özgü bakteri türlerine karşı aktivite göstermekte ve antibiyotiklerin aksine doğal mikrobiyotayı oluşturan diğer organizmalara zarar vermemektedir. Antibiyotiklerin etkisi kullanıldıktan sonra azalmaktayken, bakteriyofajlar ortamdaki konakçı bakteriler ölene kadar çoğalmakta ve bakteriler öldüğünde inaktif hale gelerek kendi üremelerini (oto doza) kontrol etmektedir. Bakteriyofajlar çoğunlukla nükleik asit ve proteinlerden oluştuğu için toksik değildir. Bakterilerin oluşturduğu antibiyotiğe direnç mekanizması bakteriyofajların söz konusu bakteriyeye etki etmesini engelleyememektedir. Patojen bakterilere karşı etkili bakteriyofajın bulunması kolaydır. Bakteriyofajlar genellikle yüksek sayıda buldukları kanalizasyonlardan ve diğer atık maddelerinden izole edilebilmektedir. Ayrıca bakteriyofajların üretimi antibiyotiklere göre daha ucuzdur [10, 11].

Gıdalarda patojen bakterilerin kontrolünde antibakteriyel kimyasal ajanlar yerine bakteriyofaj kullanımı günümüzde mevcuttur. Özellikle, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (USFDA-United States Food and Drug Administration)'nin 2006 yılında bakteriyofajların et ve tavuk ürünlerinde patojen bakteri olan *Listeria monocytogenes*'in kontrolü için kullanımını onaylayıp gıda katkı maddesi olarak GRAS (Generally Recognized as Safe-Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan) listesine eklemesinden sonra gıdalarda patojen bakterilerin kontrolü için bakteriyofajların kullanımına dair akademik ve ticari amaçlı çalışmalar artmıştır. Ticari amaçla satılmak üzere, Intralytix şirketi tarafından gıdalarda *L.monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 ve *Salmonella enterica* sayısının azaltılmasında kullanılması için sırasıyla ListShield, EcoShield ve SalmFresh bakteriyofaj ürünleri; Micros şirketi tarafından *L. monocytogenes*'e karşı etkili Listex P100 ürünü ve New Horizons Diagnostic tarafından diş ve ağız sağlığında kullanılmak üzere Streptococcus türlerine karşı etkili bakteriyofaj karışımını içeren sakız ve diş macunu üretilmiştir [7]. Avustralya ve Yeni Zelanda Gıda Standartları (FSANZ- Food Standards Australia New Zealand) ve İsviçre 2012 yılında ListexTM'in peynir ve diğer gıdalarda kullanımına onay vermiştir [12].

Farklı meyveler ile meyve sularında *L. monocytogenes*'in kontrolünde Listex P100'ün etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada; elma, armut ve kavun meyveleri temizlenip eşit ölçüde parçalara kesildikten ve aynı meyvelerin suları elde edilip 115°C'de 10 dakika ısıtıldıktan sonra 15 µL 1x10⁵ kob/mL düzeyinde *Listeria monocytogenes* CECT 4031, *Listeria monocytogenes* CECT 4032 ve *Listeria monocytogenes* CECT 940'i eşit hacimde içeren çözelti

ile enfekte edilmiştir. Meyve parçaları ve suları bakteri karışımı ile enfekte edildikten hemen sonra 15 µL 1x10⁸ pob (plak oluşturan birim)/mL bakteriyofaj içeren çözelti ile muamele edilmiş ve 10°C'de 8 gün süresince depolanmıştır. Çalışmanın kontrol gruplarını bakteri karışımı ile enfekte edilen, ancak bakteriyofaj uygulaması yapılmayan elma, armut, kavun parçaları ile elma, armut ve kavun suları oluşturmuştur. Bakteri ve bakteriyofaj uygulamasının hemen ardından ve depolamanın 2., 5., 8. günlerinde meyve parçaları ve meyve sularında mikrobiyolojik analiz ile pH, titrasyon asitliği ve çözünebilir kurumadde analizleri yapılmıştır. En yüksek pH değeri 5.92 ile kavun meyvesinin kullanıldığı örneklerde tespit edilirken, en düşük pH değeri 3.70 ile elma meyvesinin kullanıldığı örneklerde saptanmıştır. Depolama sonunda meyve parçalarından oluşan kontrol grubunda *L. monocytogenes* sayısının kavun, armut ve elma parçaları için sırasıyla 2.77'den 8.00 log kob/plug (faj plağı)'a, 2.94'den 6.00 log kob/plug'a ve 2.48'den 5.00 log kob/plug'a arttığı belirlenmiştir. Elma parçalarında *L. monocytogenes* sayısının tüm depolama süresince 2.20 ile 4.20 log kob/plug arasında değiştiği, patojen sayısının bakteriyofaj uygulamasından etkilenmediği ve *L. monocytogenes* sayısındaki azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* sayısında en fazla azalma yaklaşık 8.0 log ile kavun suyu örneklerinde belirlenirken, elma suyu örneklerinde patojen sayısındaki azalmanın istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır. Armut suyu örneklerinde depolama süresince bakteriyofaj sayısında değişim gözlenmediği, *L. monocytogenes* sayısında ise yaklaşık 3.0 log azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışma ile bakteriyofaj uygulamasının yüksek pH'ya sahip örneklerde patojen bakterilere karşı etkisinin yüksek olduğu; ancak düşük pH'daki ürünlerde patojen bakterilere karşı etkinliğinin zayıf olduğu ortaya konulmuştur [13]. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise tavuk işletmelerinden izole edilen 42 adet *Listeria* suşuna karşı Listex P100 bakteriyofajının antibakteriyel etkisi incelenmiş ve Listex P100'ün özellikle *Listeria monocytogenes* suşları üzerine etkili olduğu belirlenmiştir [14].

Yapılan bir çalışmada, 3 cm x 3 cm x 1 cm boyutlarında kesilen kırmızı et parçaları 10⁴ kob/cm² olacak şekilde *E. coli* O157 ile kontamine edilmiş ve kontaminasyondan 5 dakika sonra et parçalarına MOI [Multiplicity of infection-Enfeksiyon çokluğu (Bakteriyofaj sayısı/bakteri sayısının oranı)]=10 ve 1000 konsantrasyonlarında *E. coli* O157:T5-like (T5), *E. coli* O157:T1-like (T1), *E. coli* O157:T4-like (T4) ve *E. coli* O157:O1-like (O1) bakteriyofajları tek tek ve karışımlar halinde uygulanmıştır. *E. coli* O157 içerip bakteriyofaj içermeyen kontrol grubu örneklerinin ve *E. coli* O157 ile farklı bakteriyofajları içeren örneklerin mikrobiyolojik analizleri 37°C'de 3 saat, 22°C'de 6 saat ve 4°C'de 144 saat süresince yapılmıştır. Kontrol örneklerinde *E. coli* O157 sayısı tüm sıcaklıklar için belirtilen süreler sonunda sabit (10⁴ kob/cm²) kalmıştır. MOI=1000 konsantrasyonda T5 bakteriyofajı uygulanan et parçalarındaki *E. coli* O157 sayısındaki azalmanın kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında tüm inkübasyon sıcaklıkları için belirtilen sürelerin sonunda yaklaşık 3.0

log olduğu saptanmıştır. MOI=10 konsantrasyonunda T5 bakteriyofajı uygulanan et parçalarındaki *E. coli* O157 sayısındaki azalmanın kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında 4°C'de 144 saat sonunda yaklaşık 0.5 log, 22°C'de 6 saat ve 37°C'de 3 saat sonuna ise yaklaşık 1.0 log olduğu belirlenmiştir. O1 bakteriyofajı dışındaki bakteriyofajların ve bakteriyofaj karışımlarının *E. coli* O157 üzerine etkinliğinin MOI değerinin 10'dan 1000'e çıkartılmasıyla arttığı (P<0.001) tespit edilmiştir. Genel olarak *E. coli* O157 inaktivasyonunun, inkübasyon sıcaklığının yüksekliğine, MOI konsantrasyonunun artışına ve bakteriyofaja maruz kalma süresine bağlı olarak arttığı belirtilmiştir [15].

Endersen ve ark. [16] yaptıkları çalışmada, kümes, ahır ortamları ile gübre ve topraktan izole ettikleri *Mycobacterium* LE1, *Mycobacterium* LE2, *Mycobacterium* LE3, *Mycobacterium* LE4, *Mycobacterium* LE5 ve *Mycobacterium* LE6 bakteriyofajlarının sütte *Mycobacterium smegmatis* mc²155 bakterisine karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Yağsız süt tozu ile hazırlanan %10 kurumadde rekonstitüye süt içerisine 1x10³ kob/mL olacak şekilde *M. smegmatis* mc²155 inoküle edilmiştir. Bakteri ile enfekte edilen rekonstitüye süte 1x10⁹ pob/mL düzeyinde ve tek tek veya karışım halinde farklı kaynaklardan izole edilen altı bakteriyofaj eklenip 37°C'de 96 saat inkübe edilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunu bakteri içeren, ancak bakteriyofaj eklenmeyen örnekler oluşturmuştur. Inkübasyon sonunda kontrol örneklerinde *M. smegmatis* mc²155 sayısının yaklaşık 6.0 log arttığı belirlenirken, bakteriyofaj karışımı eklenen örneklerde 96. saatin sonunda *M. smegmatis* mc²155 tespit edilememiştir. *Mycobacterium* LE1 eklenen örneklerde inkübasyonun 48. saatinde *M. smegmatis* mc²155 sayısının kontrol örneği ile karşılaştırıldığında 3.0 log azaldığı; ancak inkübasyon sonunda, inkübasyonun 48. saatine göre *M. smegmatis* mc²155 sayısının 2 log arttığı saptanmıştır. Aynı çalışmada izole edilen bakteriyofajların farklı sıcaklık ve pH değerlerine karşı hassasiyeti de incelenmiştir. Farklı pH değerlerine (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10) ayarlanmış Brain Heart Infusion (BHI) sıvı besiyeri, izole edilen bakteriyofajlar 1x10⁸ pob/mL olacak şekilde eklendikten sonra 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Sıcaklık uygulaması için 37, 45, 55, 60, 72 ve 90°C'lerde inkübe edilen ve 1x10⁹ kob/mL bakteriyofaj içeren BHI sıvı besiyerinden 60 dakika süresince örnek alınarak bakteriyofaj titresi belirlenmiştir. İzole edilen altı bakteriyofajın optimum gelişme gösterdiği pH değerinin 7 olduğu belirlenirken, 30 dakika sonunda bakteriyofaj titresinin pH 4 ve 10'da 3.0 log, pH 6 ve 8'de ise 1.0 log düştüğü, bakteriyofaj titresinin 60 dakika sonunda pH 4 ve 10'da 5.0 log, pH 6'da 3.0 log ve pH 8'de 2.0 log azaldığı belirlenmiştir. Bakteriyofajların 4 ile 60°C arasındaki sıcaklıklarda aktivitesini kaybetmediği; ancak 60°C'de 30 dakika inkübasyon uygulaması ile bakteriyofaj titresinin 2.0 log azaldığı, aynı sıcaklıkta 60 dakika inkübasyon uygulaması sonunda ise azalmanın 5.0 log'a çıktığı tespit edilmiştir. Bakteriyofaj titresi 72°C'de 15 dakika inkübasyon sonunda 5.0 log azalsa da, bakteriyofajların aktivitelerini koruduğu saptanmıştır. Çalışma ile önemli süt patojenlerinden olan *Mycobacterium avium* subsp.

paratuberculosis'in kontrolünde antimikrobiyal ajan olarak *Mycobacterium* bakteriyofajlarının kullanılabileceği belirtilmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada, kırmızı et, kanatlı eti ve tüketime hazır et ürünlerinin ambalajları içerisinde kullanılan emici pedlere antimikrobiyal aktivite kazandırılması amaçlanmıştır. Tavuklardan izole edilen BFSE16, BFSE18, PaDTA1, PaDTA9, PaDTA10 ve PaDTA11 bakteriyofajlarından oluşan bakteriyofaj karışımı, 10^6 kob/mL düzeyinde *Salmonella enterica* subsp. *typhimurium* ATCC 14028 emdirilmiş ped üzerine 10^6 , 10^8 ve 10^9 pob/mL (MOI=1, 2, 3) konsantrasyonlarında ilave edilmiş ve söz konusu ped 10 ile 15°C 'de 48 saat süresince depolanmıştır. Depolama sonunda 10^6 , 10^8 ve 10^9 pob/mL konsantrasyonlarında bakteriyofaj çözeltisi ilave edilen pedlerdeki *S. enterica* subsp. *typhimurium* ATCC 14028 sayısındaki azalma 15°C 'de sırasıyla 0.87, 3.66 ve 4.36 log olarak tespit edilirken, söz konusu azalmanın 10°C 'de ortalama 0.55 log olduğu saptanmıştır. Çalışmada, depolama sıcaklığı ile kullanılan bakteriyofaj konsantrasyonunun bakteriyofaj aktivitesi üzerine etkili olduğu belirtilmiştir [17].

Cheddar peyniri üretiminde *Staphylococcus aureus*'un kontrolünde kullanılmak üzere 2 farklı bakteriyofaj karışımının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, mikrofiltrasyon uygulanan 200 mL süt 32°C 'ye ısıtılmış ve 32°C 'deki süte 0.4 g/L CaCl_2 ilave edilmiştir. CaCl_2 ilavesinden sonra süte 10^6 ve 10^7 kob/mL düzeyinde olacak şekilde *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CUC-22 ve *S. aureus* SMQ-1320 bakterileri inoküle edilmiştir. *S. aureus* Team1/*S. aureus* P68/*S. aureus* LH1-MUT (Karışım 1) ve *S. aureus* phi812/*S. aureus* 44AHJD/*S. aureus* phi2 (Karışım 2) bakteriyofajlarının eşit hacimde karıştırılmasıyla hazırlanmış olan iki farklı bakteriyofaj karışımı, bakteri inoküle edilen sütlere MOI=15, MOI=45 ve MOI=150 konsantrasyonlarında olacak şekilde eklenmiştir. Fermantasyon aşaması için süt, 32°C 'de pH'sı 6.5'e ulaşıncaya kadar bekletildikten sonra pıhtılaşma aşaması için %0.01 oranında rennet ilave edilip 32°C 'de 50 dakika inkübe edilmiştir. Oluşan pıhtı küp şeklinde kesildikten sonra peyniraltı suyu ile birlikte 38°C 'de 30 dakika tutulmuştur. Peyniraltı suyundan ayrılan pıhtının pH'sı 5.2'ye ulaştıktan sonra elde edilen teleme olgunlaştırma için vakum paketlenerek 4°C 'de iki hafta süresince depolanmıştır. Çalışmanın kontrol grubunu sadece *S. aureus* SMQ-1320 ilave edilen örnekler oluşturmuştur. Peynir yapımı süresince, başlangıç (süte bakteri ve bakteriyofaj karışımı ilavesinden hemen sonra), fermantasyon, pıhtılaşma, pıhtı ısıtma ve olgunlaştırma aşamalarından sonra örnek alınarak *S. aureus* SMQ-1320 sayısı ile bakteriyofaj titresi belirlenmiştir. Fermantasyon ve pıhtılaşma aşamalarından sonra yapılan analizlerde kontrol örnekleri ile MOI=15 konsantrasyonunda Karışım 1 içeren örneklerdeki *S. aureus* SMQ-1320 sayıları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır. Pıhtılaşma aşamasından sonra *S. aureus* SMQ-1320 sayısının Karışım 1 bakteriyofajlarını MOI=45 ve MOI=150 konsantrasyonlarında içeren örneklerde sırasıyla 1.0 ve 2.0 log azaldığı tespit edilmiştir. Karışım 1

bakteriyofajlarını MOI=45 konsantrasyonunda içeren örneklerde *S. aureus* SMQ-1320 sayısının pıhtı ısıtma ve olgunlaştırma aşamalarının sonunda sırasıyla 2.0 ve 3.0 log azaldığı; MOI=150 konsantrasyonlarında Karışım 1 bakteriyofajlarını içeren örneklerde *S. aureus* SMQ-1320 sayısının pıhtı ısıtma ve olgunlaştırma aşamalarının sonunda sırasıyla 3.0 ve 4.0 log azaldığı belirlenmiştir. Fermantasyon aşamasından sonra Karışım 2 bakteriyofajlarını MOI=45 ve MOI=150 konsantrasyonlarında içeren örneklerde *S. aureus* SMQ-1320 sayısının sırasıyla 1.0 ve 2.0 log azaldığı tespit edilmiştir. Depolama süresinin sonunda kullanılan bakteriyofaj karışımları ve konsantrasyonlarından bağımsız olarak *S. aureus* SMQ-1320 sayısının tespit edilebilir seviyenin (2.0 log kob/mL) altına indiği saptanmıştır. Pıhtı ısıtma ve peyniraltı suyu ayırma işlemlerinin bakteriyofaj etkinliğini arttırdığı belirtilmiştir [18].

Bakteriyofajlar gıdalarda patojen bakterilerin kontrolünde kullanılsa da, gıdanın fizikokimyasal özellikleri (sıcaklık, pH, a_w vb.), koruyucu bileşenleri ve depolama koşulları ile uygulanan bakteriyofaj konsantrasyonunun yetersizliği gibi bakteriyofajların etkinliğini olumsuz yönde etkileyen durumlar kullanımlarını kısıtlamaktadır [7].

BAKTERİYOFAJLARIN MİKROKAPSÜLASYONU VE *IN VITRO* GASTROİNTESTİNAL SİSTEM KOŞULLARINDA SALINIMLARI

Gıdalarda olduğu gibi hayvanların ve insanların da patojen bakterilere karşı korunması için bakteriyofajların kullanılmasında (faj terapisi) bazı engeller bulunmaktadır. Vücuda ister gıda ile ağız yoluyla isterse de damar yoluyla alınacak olsun bakteriyofajın faydalı etki gösterebilmesi için öncelikle vücuda alınma anına kadar geçen sürede aktivitesini koruması gerekmektedir. Bununla birlikte, vücuda alındıktan sonra aktif olarak hedef bölgeye ulaşması ve vücudun savunma sistemi olan mononükleer fagositik sistem tarafından vücuttan uzaklaştırılmaması zorunludur [19]. Bakteriyofajlar, ağız yoluyla vücuda alındıktan sonra gastrointestinal sistemden geçişleri süresince yüksek asitlik ile enzim ve safra gibi sindirim salgılarına maruz kalmakta ve aktivitelerini kaybetmektedir [20].

Yapılan bir çalışmada, *Esherichia coli*'nin neden olduğu ishale karşı bakteriyofaj kullanımının etkinliği araştırılmıştır. *E. coli* T4-like, *E. coli* RB49-like ve *E. coli* JS98-like bakteriyofajlarından oluşan faj karışımını 10^9 pob/mL düzeyinde ve *E. coli* K12 bakterisini ise 10^{10} kob/mL düzeyinde içeren su, 5 denek faresine oral yolla verilmiştir. Denek farelerinin dışkısından, kanından ve öldürüldükten sonra iç organlarından (mide, kör bağırsak, kalın bağırsak, ciğer ile dalak ekstrakte edilerek, ince bağırsağın kısımları olan duodenum, jejunum ile ileum şırınga yardımıyla yıkanarak) örnekler alınmış ve bakteriyofaj titresi belirlenmiştir. Farelerden alınan kan, ciğer ve dalak örneklerinde bakteriyofaj tespit edilememiştir. Farelerin midelerinden alınan örneklerde bakteriyofaj titresinin ortalama 10^4 pob/g olduğu; ince bağırsağın bölümleri incelendiğinde ise bir farenin duodeumunda $\sim 10^2$ pob/mL, iki farenin

jejunumunda $\sim 10^2$ ve $\sim 10^4$ pob/mL düzeylerinde bakteriyofaj bulunduğu belirlenmiştir. Farelerin kör bağırsağı ve kalın bağırsağından alınan örneklerde bakteriyofaj titresinin ortalama 10^6 pob/g olduğu saptanmıştır. Farelerin mide pH'sinin yaklaşık 3 düzeylerinde olduğu ve söz konusu durumun bakteriyofaj titresinin azalmasında önemli bir etken olduğu belirtilmiştir [21].

Hayvan deneylerinde, bakteriyofajları gastrointestinal sistemin olumsuz etkilerine karşı korumak için bakteriyofajların CaCO_3 gibi anti-asit maddelerin çözeltileri ile birlikte kullanımı ve yüksek konsantrasyonda bakteriyofaj kullanımı gibi yöntemler uygulanmıştır [22, 23]. Son yıllarda yapılan *in vitro* çalışmalar, mikrokapsülasyon yönteminin de bakteriyofajları olumsuz çevre koşullarına karşı korumada kullanılabileceğini göstermiştir [24, 25].

Mikrokapsülasyon; katı, sıvı ve gaz halindeki aktif bir maddenin yararlı özellikleri korunarak bir kaplama materyali içerisine paketlenip kapsül hale dönüştürülmesi ve uygun koşullarda salınımının sağlanması olarak tanımlanmaktadır. Mikrokapsülasyon teknolojisi ile elde edilen kapsüllerin genel olarak stabiliteilerinin yüksek, geçirgenliklerinin uygun, boyutlarının istenen düzeyde ve ortama uyumlu olması istenmektedir [26]. Söz konusu şartların sağlanabilmesi için farklı kaplama materyalleri ve mikrokapsülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Mikrokapsülasyonda kullanılacak kaplama materyalleri toksik olmamalı, GRAS listesinde olmalı, uygun çözünürlüğü ile aktif materyalin arzu edilen ortama istenilen düzeyde salınmasına izin vermeli, kapsüllenen faydalı bileşenleri olumsuz çevre şartlarına karşı en üst düzeyde korumalı ve ucuz olmalıdır. Bütün bu özellikleri taşıyan tek kaplama materyali olmadığı için, bir kaplama materyali diğer kaplama materyalleri ile birlikte kullanılabilmektedir [27].

Yapılan bir çalışmada, %2.2'lik sodyum aljinat çözeltisine 10^8 pob/mL düzeyinde Felix O1 bakteriyofajı ilave edildikten sonra hazırlanan karışım 300 μm çaplı nozula sahip enkapsülatörle 550 Hz frekansında 50 mM CaCl_2 çözeltisine ekstrüzyon yöntemiyle damlatılıp bakteriyofaj içeren mikrokapsüller elde edilmiştir. Mikrokapsüller sertleşmeleri için 30 dakika süresince 50 mM CaCl_2 çözeltisinde bekletildikten sonra filtre edilerek %0.4 kitosan içeren çözeltiye aktarılmış ve 20 dakika tutulmuştur. Elde edilen kitosan kaplı aljinat mikrokapsülleri %10 trehaloz çözeltisi ile karıştırılarak 22°C 'de 30 saat süresince çekerocakta laminar akıştaki hava ile kurutularak depolanmıştır. Felix O1 bakteriyofajının pH'ya karşı hassasiyetini belirleyebilmek için pH değeri 2.8, 3.2, 3.7, 4.4, 6.2 ve 7.4'e ayarlanmış %0.2'lik NaCl çözeltisi içine 10^8 pob/mL düzeyinde olacak şekilde bakteriyofaj eklenmiş ve 37°C 'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Felix O1 bakteriyofajının pH'ya karşı hassas olduğu ve bakteriyofaj titresinin pH 2.8 ile pH 3.2'de 8.0 log azaldığı saptanmıştır. Mide sıvısını simüle etmek için hazırlanan 3.2 mg/mL pepsin ve %0.2 NaCl içeren, pH değeri 2.0 ve 2.4'e ayarlanmış olan 10 mL çözelti, 160 mg kurutulmuş mikrokapsül eklendikten sonra 37°C 'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun 60. dakikasında pH değeri 2.4 olan mide sıvısında bakteriyofaj titresinin 2.58 log azaldığı belirlenirken, pH değeri 2.0 olan mide sıvısında 30 dakika sonunda bakteriyofaj tespit edilememiştir. Safra tuzunu %1.0 ve %2.0 oranlarında içeren 10 mL'lik çözeltiler, içerisine 160 mg kurutulmuş mikrokapsül veya 100 μL mikrokapsüllenmemiş serbest bakteriyofaj 10^9 pob/mL düzeyinde olacak şekilde ilave edildikten sonra 37°C 'de 3 saat süresince inkübe edilmiştir. Serbest bakteriyofaj titresinin, %1.0'lik safra tuzu çözeltisinde inkübasyonun 1. ve 3. saatleri sonunda sırasıyla 0.09 ve 1.29 log azaldığı; %2.0'lik safra tuzu çözeltisinde ise inkübasyonun 1. ve 3. saatleri sonunda sırasıyla 0.58 ve 1.69 log azaldığı belirlenirken, mikrokapsüle bakteriyofajların ise safra tuzundan etkilenmediği saptanmıştır. Simüle bağırsak sıvısından (10 mg/mL pankreatin, pH 6.8) 50 mL alınarak içine 200 mg mikrokapsül eklenip 37°C 'de 6 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon süresince bakteriyofajın mikrokapsülden salınımı incelenmiştir. Simüle bağırsak sıvısı içinde mikrokapsüllerin şiştiği ve yapılarının bozularak çözüldükleri gözlenmekle birlikte, inkübasyonun ilk 30 dakikasında bakteriyofaj titresinin 1.5×10^5 pob/mL olduğu ve 5. saatin sonunda kapsüllerin tamamen çözülerek bakteriyofaj sayısının 1.6×10^7 pob/mL düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir [24].

Dini ve ark. [28] yaptıkları çalışmada, Bakteriyofaj CA933P'yi farklı materyaller ile kaplayarak ürettikleri mikrokapsüllerin düşük pH'ya dayanımını, bakteriyofaj yükleme verimliliğini ve pepsin enzimine karşı direncini belirlemişlerdir. Mikrokapsülasyon işlemi için %3.0'lük düşük metoksili (LM) pektin ile %2.0'lik sodyum aljinat kaplama çözeltileri ve söz konusu kaplama çözeltilerine Tween 20 ile oleik asit eklenerek elde edilen emülsiyonları 1×10^8 pob/mL düzeyinde olacak şekilde bakteriyofaj CA933P ilave edildikten sonra 0.5 M CaCl_2 sertleştirme çözeltisi içerisine damlatılarak mikrokapsül oluşturulmuş ve mikrokapsüller 4°C 'de 12 saat süresince sertleştirme çözeltisinde bekletildikten sonra filtre edilerek 4°C 'de depolanmıştır. Ayrıca, 1×10^8 pob/mL düzeyinde olacak şekilde bakteriyofaj CA933P eklenen %3.0'lük LM pektin ve %2.0'lik sodyum aljinat çözeltileri, %0.2 yüksek metoksili (HM) pektin ile %0.2 guar gam içeren iki farklı 0.5 M CaCl_2 sertleştirme çözeltisine damlatılarak mikrokapsül elde edilmiş ve mikrokapsüller 4°C 'de 12 saat süresince sertleştirme çözeltisinde bekletildikten sonra filtre edilerek 4°C 'de depolanmıştır. Elde edilen mikrokapsüllerin yükleme verimliliği ile bakteriyofajı düşük pH'ya (pH=1.6) karşı koruma düzeyi belirlenerek en yüksek yükleme verimliliği ve koruma düzeyine sahip kaplama materyali seçilmiş ve seçilen kaplama materyali ile üretilen mikrokapsüllerin simüle gastrointestinal sistem koşullarındaki davranışı araştırılmıştır. Genel olarak aljinat ile üretilen mikrokapsüllerin pektin içerenlere göre; aljinat ve pektin emülsiyonları ile üretilen mikrokapsüllerin de sadece aljinat ve pektin ile üretilenlere göre daha yüksek ($P < 0.05$) yükleme verimliliğine sahip olduğu saptanmıştır. Sertleştirme çözeltisine HM pektin ve guar gam eklenmesinin mikrokapsüllerin yükleme verimliliğini olumsuz etkilediği, düşük pH'ya dayanımını ise etkilemediği belirlenmiştir. Bakteriyofajı düşük pH'ya karşı korumada, en yüksek

koruma düzeyine sahip mikrokapsüllerin yapımında pektin emülsiyonu kullanılanlar olduğu; en düşük koruma özelliğine sahip olanların ise aljinat emülsiyonu ile üretilen mikrokapsüller olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın ilerleyen bölümlerindeki analizler pektin emülsiyonu ile üretilen mikrokapsüllerle gerçekleştirilmiştir. Pepsin enziminin mikrokapsülasyon işlemi uygulanmayan serbest bakteriyofajlar ile mikrokapsüle bakteriyofaj üzerine etkisini incelenmek için pepsin enzimi içermeyen, 0.5, 1.5, 3.2 ve 4.2 mg/mL pepsin enzimi içeren pH değeri 2.5 olarak hazırlanan simüle mide sıvıları, 1.52×10^{10} pob/mL düzeyinde olacak şekilde serbest bakteriyofaj ile 1.56×10^7 pob/mikrokapsül bakteriyofaj içeren 10 adet mikrokapsül ilave edilip 37°C 'de 180 dakika süresince tutulmuştur. Pepsin enzimi içermeyen simüle mide sıvısında serbest bakteriyofaj titresinin 10 dakika sonunda 3.7 log azaldığı belirlenirken, 0.5 mg/mL pepsin enzimi içeren mide sıvısında ise bakteriyofaj tespit edilememiştir. Mikrokapsüle bakteriyofajların pepsin enzimi konsantrasyonu ve düşük pH'dan etkilenmediği, bununla birlikte bakteriyofaj titresinin de 180 dakika süresince değişmediği saptanmıştır. Çalışmada ayrıca tripsin (2.5 mg/mL) ve kimotripsin (3.0 mg/mL) içeren pH değeri 7.2 olan simüle bağırsak sıvısı, 1.52×10^{10} pob/mL düzeyinde olacak şekilde serbest bakteriyofaj eklendikten sonra 37°C 'de 24 saat bekletilmiş ve süre sonunda bakteriyofaj titresinde değişim olmadığı belirlenmiştir. Bakteriyofajın mikrokapsülden salınımını incelenmek için pH değeri 7.2 olan fosfat tamponu, içine 20 adet 1.56×10^7 pob/mikrokapsül bakteriyofaj içeren mikrokapsüllerden ilave edilip 19, 30 ve 37°C 'lerde 240 dakika tutulmuştur. Sıcaklık yükseldikçe bakteriyofaj salınımının arttığı ve 37°C 'de 240 dakika sonunda fosfat tamponu içindeki bakteriyofaj titresinin yaklaşık 10^6 pob/mL olduğu tespit edilmiştir.

Mide sıvısının düşük pH'sından korumak amacıyla Phage K'ya mikrokapsülasyon işleminin uygulandığı bir çalışmada, %2.0 sodyum aljinat ve %2.0 sodyum aljinat ile %1.0 kalsiyum karbonat içeren çözeltilere 10^8 pob/mL düzeyinde olacak şekilde Phage K ilave edilmiştir. Hazırlanan bakteriyofajlı karışım 500 μm çaplı nozula sahip enkapsülatör ile 50 mM CaCl_2 çözeltisine ekstrüzyon yöntemiyle damlatılıp bakteriyofaj içeren mikrokapsüller elde edilmiştir. Oluşan mikrokapsüller 30 dakika süresince 50 mM CaCl_2 çözeltisinde bekletildikten sonra filtre edilerek farklı konsantrasyonlardaki (%5, 10, 15 ve 20) trehaloz, sukroz, maltodekstrin ve yağsız süt tozu çözeltileri ile karıştırıldıktan sonra 22°C 'de 30 saat süresince çekerocakta laminar akıştaki hava ile kurutulmuştur. Phage K bakteriyofajının düşük pH'ya karşı hassasiyetini belirleyebilmek için pH değeri 3.8 ve 4.4'e ayarlanmış %0.2'lik NaCl çözeltisi, içine 10^8 pob/mL olacak şekilde bakteriyofaj eklenip 37°C 'de 5 dakika inkübe edilmiştir. Phage K bakteriyofajının düşük pH'ya karşı hassas olduğu, pH 3.8 ve 4.4'de desimal azalma sürelerinin sırasıyla 0.42 ve 4.9 dakika olduğu saptanmıştır. Mide sıvısını simüle etmek için 3.2 mg/mL pepsin ile %0.2 NaCl içeren ve pH değeri 2.5 olan 10 mL çözelti, içine 190 mg kurutulmuş mikrokapsül konulup 37°C 'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. Simüle mide sıvısı içinde 60 dakika sonunda, sadece

aljinat kullanılarak mikrokapsüllenen Phage K'nın titresinin 2.4 log azaldığı belirlenirken, 90 dakika sonunda ortamda bakteriyofaj varlığı tespit edilememiştir. Sodyum aljinat ve kalsiyum karbonat kullanılarak elde edilen Phage K mikrokapsüllerin düşük pH'ya direncinin yüksek olduğu ve simüle mide sıvısı içinde 120 dakika sonunda Phage K'nın titresinin sadece 0.17 log azaldığı saptanmıştır. Mikrokapsülasyon işlemi uygulanmayan serbest bakteriyofaj (10^7 pob/mL) ve mikrokapsüle bakteriyofaj %1.0 ve %2.0 safra tuzu içeren çözeltiler içinde 37°C 'de 3 saat süresince inkübe edilmiştir. Serbest bakteriyofaj titresinin %1.0'lik safra tuzu çözeltisinden etkilenmediği, %2.0'lik safra tuzu çözeltisinde ise 3. saatin sonunda 0.23 log azaldığı belirlenmiştir. Farklı materyallerle kaplanan mikrokapsüle bakteriyofajın titresinin her iki konsantrasyondaki safra tuzu çözeltisinden etkilenmediği saptanmıştır. Simüle bağırsak sıvısından (10 mg/mL pankreatin, pH 6.8) 50 mL alınarak içine 500 mg mikrokapsül eklenmiş ve 37°C 'de 12 saat süresince bakteriyofajın mikrokapsülden salınımını incelenmiştir. Simüle bağırsak sıvısı içinde 6 ve 10 saat inkübasyondan sonra sadece aljinat ile kaplanan Phage K'nın mikrokapsüllerden salınım oranlarının sırasıyla %79 ve %90 olduğu belirlenirken, aljinat ve kalsiyum karbonat ile kaplanan Phage K'nın mikrokapsüllerden salınım oranının bağırsak sıvısı içinde 12 saat sonunda %68 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada, mikrokapsüllerin kurutulması sırasında kullanılan farklı çözeltiler ile konsantrasyonlarının Phage K'nın aktivitesi üzerine etkileri de belirlenmiştir. Herhangi bir çözelti kullanılmadan kurutulan kontrol grubu mikrokapsüllerde kurutma sırasında bakteriyofaj titresinin 8.6'dan 3.0 log pob/g'a düştüğü saptanmıştır. Phage K için en iyi korumayı %20 oranında yağsız süt tozu içeren çözelti ile karıştırıldıktan sonra kurutulan mikrokapsüllerin sağladığı, bu mikrokapsüllerin kurutma sonunda bakteriyofaj titresinin başlangıca göre değişmediği tespit edilmiştir [29].

Tang ve ark. [25] yaptıkları çalışmada, farklı oranlarda sodyum aljinat (NA) ve peyniraltı suyu protein tozu (WP) içeren karışımı kullanarak Felix O1 bakteriyofajını mikrokapsüllemiş ve mikrokapsüllerin simüle gastrointestinal sistem koşullarına dayanımını incelemişlerdir. A (%0.8 NA+%3.0 WP), B (%1.5 NA+%3.0 WP) ve C (%0.8 NA+%5.0 WP) kaplama materyali karışımlarına $\sim 10^{11}$ pob/mL düzeyinde olacak şekilde Felix O1 bakteriyofajı eklenmiş ve bakteriyofaj içeren kaplama materyali karışımları 500 μm çaplı nozula sahip enkapsülatör ile 0.1 M CaCl_2 çözeltisine ekstrüzyon yöntemiyle damlatılıp bakteriyofaj içeren mikrokapsüller elde edilmiştir. Mikrokapsüller sertleşmeleri için 30 dakika süresince 0.1 M CaCl_2 çözeltisinde bekletildikten sonra filtre edilerek 4°C 'de depolanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki kaplama materyalleri kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin yükleme verimliliklerinin %99 olduğu ve bakteriyofaj titresinin 10.58 ile 10.81 log pob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Mide sıvısını simüle etmek için 3.2 mg/mL pepsin ve %0.2 NaCl içeren, pH değeri 2.0 ve 2.5'e ayarlanmış olan çözeltiler kullanılmış olup, bu çözeltiler içine mikrokapsüle bakteriyofaj konularak 41.4°C 'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda

pH değeri 2.0'ye ayarlanmış mide sıvısı içinde A, B ve C karışımları kullanılarak üretilen mikrokapsüllerde bakteriyofaj titresinin sırasıyla yaklaşık 2.0, 1.0 ve 0.5 log düzeylerinde azaldığı saptanırken, pH değeri 2.5 olan mide sıvısı içinde bakteriyofaj titresinde azalma olmadığı tespit edilmiştir. Felix O1 bakteriyofajının farklı konsantrasyondaki kaplama materyali karışımları ile üretilen mikrokapsüllerden salınımı, 10 mg/mL pankreatin içeren ve pH değeri 6.8 olan simüle bağırsak sıvısı içinde 41.4°C'de 6 saat süresince izlenmiştir. Aynı aljinat konsantrasyonuna sahip A ve C karışımları kullanılarak üretilen bakteriyofajların salınım oranları incelendiğinde, karışımlardaki WP konsantrasyonu arttıkça bakteriyofaj salınımının yavaşladığı belirlenmiştir.

Samtlebe ve ark. [30] farklı mikrokapsül üretim yöntemleri ve kaplama materyalleri kullanarak *Lactococcus phage P008* içeren mikrokapsüller üretmiş ve mikrokapsüllerin simüle mide ve bağırsak sıvıları içindeki davranışlarını incelemişlerdir. Emülsiyon yöntemiyle mikrokapsül üretmek için, yağsız süt tozu ile hazırlanan çözelti, içerisine $\sim 10^9$ pob/mL düzeyinde olacak şekilde *Lactococcus phage P008* ve 60 μ L rennet enzimi eklenip 5°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası karışım, CaCl₂ eklendikten sonra çöçek yağı içine 0.55 mm nozula sahip şırınga ile damlatılmıştır. Ekstrüzyon yöntemiyle mikrokapsül üretmek için, %1.6'lık sodyum aljinat çözeltisine ve %1.6'lık sodyum aljinat çözeltisi ile %10'luk peyniraltı suyu tozu çözeltisinin birebir oranında karıştırılmasıyla hazırlanan karışım çözeltisine $\sim 10^9$ pob/mL düzeyinde bakteriyofaj ilave edilmiştir. Bakteriyofaj ilavesinden sonra her iki çözelti 0.55 mm nozula sahip şırınga ile 100 mM CaCl₂ çözeltisine damlatılıp 30 dakika bekletilmiş ve bakteriyofaj içeren mikrokapsüller elde edilmiştir. Mikrokapsüle bakteriyofaj ile mikrokapsülasyon işlemi uygulanmayan serbest bakteriyofajların simüle mide sıvısına direncini belirleyebilmek için 3.2 mg/mL pepsin, %0.2 NaCl ve 80 mM HCl içeren, pH değeri 2.0'ye ayarlanmış olan çözelti, içine mikrokapsüle bakteriyofaj ile serbest bakteriyofaj ilave edilip 37°C'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. *Lactococcus phage P008*'in mikrokapsüllerden salınımı simüle bağırsak sıvısı (10 mg/mL pankreatin, pH 6.8) içinde belirlenmiştir. Serbest bakteriyofajın mide sıvısı içinde 1 dakika içinde inhibe olduğu, 30 dakika sonunda sadece sodyum aljinat kullanılarak ekstrüzyon yöntemi ile mikrokapsüllenen bakteriyofajların titresinin ise 10 pob/g'ın altına düştüğü saptanmıştır. Simüle mide sıvısında inkübasyon sonunda, emülsiyon yöntemiyle üretilen mikrokapsüle bakteriyofajın titresinin 2.2 log azaldığı tespit edilirken, sodyum aljinat-peyniraltı suyu tozu karışımı ile ekstrüzyon yöntemi kullanılarak kaplanan mikrokapsüle bakteriyofajın titresinin başlangıca göre değişmediği belirlenmiştir. Simüle bağırsak sıvısı içinde 1 dakika sonunda, emülsiyon yöntemiyle ve sodyum aljinat-peyniraltı suyu tozu karışımı kullanılarak ekstrüzyon yöntemiyle üretilen mikrokapsüle bakteriyofajların titresinin sırasıyla 10^5 ve 10^6 pob/mL olduğu; 120 dakika sonunda ise aynı mikrokapsüle bakteriyofajların titresinin sırasıyla 10^7 ve 10^8 pob/mL olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada, ekstrüzyon yöntemi

kullanılarak sodyum aljinat-peyniraltı suyu tozu karışımıyla üretilen bakteriyofaj mikrokapsülleri 120 dakika simüle mide sıvısında tutulduktan sonra simüle bağırsak sıvısı içine aktararak bakteriyofajın mikrokapsüllerden salınımı incelenmiştir. Bağırsak sıvısında 30. dakika ve 1. saatin sonunda mikrokapsüllerden salınan bakteriyofaj titresinin sırasıyla 10^3 ve 10^5 pob/mL düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada, sodyum aljinat (NA) ve peyniraltı suyu protein tozu (WP)'nu farklı oranlarda içeren karışım, farklı nozul çapına sahip enkapsülatörden geçirilip ekstrüzyon yöntemi ile Phage K içeren mikrokapsüller üretilmiştir. İçerisine 10^9 pob/mL düzeyinde olacak şekilde Phage K bakteriyofajı eklenen A (%0.8 NA+%3.0 WP), B (%1.5 NA+%3.0 WP) ve C (%0.8 NA+%5.0 WP) karışımları 500 μ m çaplı nozula sahip enkapsülatör kullanılarak; D (%1.5 NA+%3.0 WP) ve E (%1.5 NA+%4.0 WP) karışımları ise 300 μ m çaplı nozula sahip enkapsülatör ile 100 mM CaCl₂ çözeltisi içerisine damlatılmış ve mikrokapsüller üretilmiştir. A, B ve C karışımları ile üretilen mikrokapsüller %40'lık maltodekstrin içerisinde 22°C'de 30 saat süresince çekerecekte laminar akıştaki hava ile kurutularak, kurutulmuş A (A_K), kurutulmuş B (B_K) ve kurutulmuş C (C_K) örnekleri elde edilmiştir. Elde edilen mikrokapsüllerin yükleme verimlilikleri, partikül boyutları ile simüle mide ve bağırsak sıvılarındaki davranışları incelenmiştir. Üretilen mikrokapsüllerin yükleme verimliliklerinin %99 olduğu ve A, B, C ile D karışımları kullanılarak elde edilen mikrokapsüllerin ortalama çaplarının sırasıyla 310 \pm 16, 648 \pm 13, 880 \pm 80 ve 323 \pm 14 μ m olduğu tespit edilmiştir. Mikrokapsülasyonda kullanılan kaplama materyali karışımlarının toplam konsantrasyonu arttıkça üretilen mikrokapsüllerinin çaplarının arttığı; nozul çapının küçülmesiyle ise mikrokapsül çaplarının azaldığı saptanmıştır. Pepsin (3.2 mg/mL) ve NaCl (2 mg/mL) içeren, pH değeri 1.5, 2.0 ve 2.5'e ayarlanmış simüle mide sıvıları 10^9 pob/mL düzeyinde olacak şekilde mikrokapsüle Phage K eklendikten sonra 37°C'de 120 dakika süresince inkübe edilmiştir. D karışımı ile mikrokapsüllenen bakteriyofajın, pH değeri 2.0'ye ayarlanmış simüle mide sıvısında 20 dakika sonunda tamamen inhibe olduğu belirlenirken, 120 dakika sonunda B karışımı ile üretilen mikrokapsüle bakteriyofajın titresinin 2 log azaldığı saptanmıştır. D kullanılarak üretilen mikrokapsüller pH 1.5'e ayarlanmış simüle mide sıvısına konulduktan 1 dakika sonra ortamda bakteriyofaj varlığı tespit edilememişken, E karışımıyla üretilen mikrokapsüllerdeki bakteriyofajların 10 dakika süresince aktivitelerini korudukları belirlenmiştir. pH değeri 2.5 olan simüle mide sıvısı içine eklenen C_K ve A_K örneklerinde 120 dakika sonunda bakteriyofaj titresinin sırasıyla 0.5 ve 5.0 log azaldığı saptanmıştır. Mikrokapsül çapınının büyümesi ve kaplama materyali karışımında kullanılan WP miktarının artmasıyla mikrokapsüllerin mide sıvısının yüksek asitliğine karşı direncinin arttığı belirlenmiştir. Çalışmada simüle bağırsak sıvısı (10 mg/mL pankreatin, pH 6.8) içine mikrokapsüller eklenmiş ve 37°C'de 12 saat süresince Phage K'nin mikrokapsüllerden salınımı incelenmiştir. B ve E karışımları kullanılarak üretilen mikrokapsüllerin simüle bağırsak çözeltisi içinde sırasıyla 75 ve 120 dakikada tamamen çözüldükleri

belirlenmiştir. A_K , B_K ve C_K mikrokapsüllerinin ise simüle bağırsak çözeltisi içinde sırasıyla 25, 100 ve 120 dakikada tamamen çözüldükleri tespit edilmiştir [31].

Broiler tavuklarda *Salmonella* enfeksiyonunu önlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 500 mg %1.0 oranında $CaCO_3$ ve 900 mg %1.8 oranındaki sodyum aljinat içeren çözelti içerisinde 10^{11} pob/mL düzeyinde olacak şekilde UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 *Salmonella* bakteriyofajları ilave edilmiştir. Hazırlanan bakteriyofajlı karışımlar 1.5 mL/dak akış hızında %1.8 oranındaki $CaCl_2$ çözeltisi içine spray nozulla eklenmiş ve mikrokapsüller üretilmiştir. Oluşan mikrokapsüller 90 dakika süresince %1.8 oranındaki $CaCl_2$ çözeltisinde bekletildikten sonra santrifüj edilerek 10 mM $MgSO_4$ çözeltisi içinde $4^\circ C$ 'de 6 ay depolanmıştır. UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofajlarına ait mikrokapsüllerin ortalama çaplarının sırasıyla 124 ± 9 , 141 ± 16 ve 149 ± 6 μm olduğu belirlenirken, mikrokapsüllerin yükleme verimliliklerinin %98 ile %99 arasında değiştiği saptanmıştır. Mikrokapsüle bakteriyofajlar ile mikrokapsülasyon işlemi uygulanmayan serbest bakteriyofajların simüle mide sıvısına direncini belirleyebilmek için 3.0 mg/mL pepsin, %85 oranında NaCl içeren, pH değeri 2.8'e ayarlanmış olan çözelti, içine mikrokapsüle bakteriyofaj ile serbest bakteriyofaj ilave edilip $42^\circ C$ 'de 60 dakika süresince inkübe edilmiştir. UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofajlarının mikrokapsüllerden salınımı simüle bağırsak sıvısı (1 mg/mL pankreatin, 10 mM safra tuzu, %85 oranında NaCl, pH 8.0) içinde belirlenmiştir. Mikrokapsüle UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofaj titrelerinin simüle mide sıvısı içinde 60 dakika sonunda sırasıyla 2.9 ve 3.5 log azaldığı tespit edilirken, serbest formlarının titrelerinin yaklaşık olarak 8.0 log azaldığı belirlenmiştir. Simüle mide sıvısı içinde 60 dakika sonunda mikrokapsüle UAB Phi20 bakteriyofaj titresinde ise azalma saptanamamıştır. UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofajlarının simüle bağırsak sıvısı içinde 40 dakika sonunda mikrokapsüllerden salınımlarının sırasıyla 97.7 ± 18.6 , 88.4 ± 7.6 ve 100.0 ± 20.8 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada *in vivo* denemeler için broiler tavuklar *Salmonella typhimurium* ATCC14028 Rif^R bakterisi ile 10^7 kob/hayvan olacak şekilde enfekte edilmiş ve bir gruba serbest formdaki UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofajlarından hazırlanan karışım (1:1:1), diğer bir gruba ise mikrokapsüle UAB Phi20, UAB Phi78 ve UAB Phi87 bakteriyofajlarından hazırlanan karışım (1:1:1) 10^{10} pob/hayvan düzeyinde $MgSO_4$ çözeltisi içinde tavuklara ağız yoluyla verilmiştir. Kontrol grubu enfekte tavuklara ise sadece bakteriyofaj içermeyen $MgSO_4$ çözelti verilmiştir. Enfeksiyonun ardından 1., 3., 6., 8., 10. ve 15. günlerde tavuklarının kör bağırsaklarından örnek alınarak *S. typhimurium* ATCC14028 Rif^R sayısı belirlenmiştir. Kontrol grubu enfekte tavuklar ile serbest ve mikrokapsüle bakteriyofaj karışımı verilen enfekte tavukların kör bağırsaklarında 15 günün sonunda *S. typhimurium* ATCC14028 Rif^R sayısı sırasıyla 5.2 ± 1.3 , 6.3 ± 1.0 ve 3.5 ± 2.1 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda *Salmonella* ile enfekte olan ticari broiler tavuklarda ağız yoluyla faj terapisinin başarıyla uygulandığı değerlendirilmiştir [32].

Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda; bakteriyofajların mikrokapsülasyonunda kullanılan kaplama materyallerinin mikrokapsül boyutunu ve verimliliğini etkilediği, genel olarak mikrokapsülasyon uygulamasının bakteriyofajların canlılıklarını gastrointestinal sistemin olumsuz koşullarına karşı koruduğu ve ayrıca mikrokapsülasyon uygulaması ile bakteriyofaj salınımının kontrollünün sağlandığı belirtilmiştir.

SONUÇ

Bakteriyofajların başta su olmak üzere gıdaların ve insan gastrointestinal sisteminin doğal florasında yüksek sayıda bulunması ve tüketiminin insanda zararlı etkileri olmaması, bakteriyofajların gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanılması fikrini doğurmuştur. Bu fikir doğrultusunda yapılan çalışmalar, bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak gıdaların korunmasında kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bakteriyofajların gıdalarda patojen bakterilerin kontrolü için kullanımının çeşitli otorite kuruluşları tarafından onaylanması ve ticari firmaların söz konusu amaca yönelik bakteriyofaj preparatları üretmesi konu ile ilgili çalışmaları arttırmıştır. Ülkemizde ise bakteriyofajların gıdalarda antibakteriyel ajan olarak kullanımına yönelik sınırlı sayıda çalışma yapılmış olmakla birlikte, konu ile ilgili herhangi bir yasal düzenleme bulunmamaktadır. Bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımı ile ilgili ülkemizde gerekli yasal düzenlemelerin yapılabilmesine ışık tutabilecek nitelikte çalışmaların yeterince yapılmıyor olması önemli bir eksikliklerdir. Bakteriyofajları hem gıdaların olumsuz özelliklerinden hem de tüketimleri sonucunda gastrointestinal sistemin olumsuz koşullarından korunmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir. Bakteriyofaj mikrokapsülasyonu uygulamalarına yönelik çalışmalar, mikrokapsülasyon yönteminin bakteriyofajları gastrointestinal sistemin olumsuz etkilerine karşı korumada başarılı olduğunu göstermekle birlikte, yapılan literatür taramasında halen mikrokapsüle bakteriyofajların gıdalarda kullanımı üzerine çalışmaların mevcut olmadığı belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılacak çalışmalarda, özellikle gıda üretiminde kullanılabilecek boyutlarda bakteriyofaj mikrokapsüllerinin oluşturulmasına yönelik farklı kapsülleme teknolojilerine odaklanması ve mikrokapsüle bakteriyofaj stabilitesinin gastrointestinal sistemde *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Anonim. 2016. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Bakteriyofaj>. Erişim Tarihi: 18.08.2016.
- [2] Nobrega, F., Costa, A., Kluskens, L., Azeredo, J., 2015. Revisiting phage therapy: new applications for old resources. *Trends in Microbiology* 23(4): 185-191.
- [3] Tsonos, J., Vandenheuvel, D., Briers, Y., De Greve, H., Hernalsteens, J.P., Lavigne, R., 2014. Hurdles in bacteriophage therapy: Deconstructing the parameters. *Veterinary Microbiology* 171: 460-469.

- [4] Snyder, A.B., Perry, J.J., Yousef, A.E., 2016. Developing and optimizing bacteriophage treatment to control enterohemorrhagic *Escherichia coli* on fresh produce. *International Journal of Food Microbiology* 236: 90-97.
- [5] Beke, G., Stano, M., Klucar, L., 2016. Modelling the interaction between bacteriophages and their bacterial hosts. *Mathematical Biosciences* 279: 27-32.
- [6] Moreira, H.H., Santos, M.R., Meireles, G.D., Vanetti, C., de Oliveira P.C., 2013. Use of bacteriophages to reduce *Salmonella* in chicken skin in comparison with chemical agents. *Food Research International* 52(1): 75-81.
- [7] Cooper, I.A., 2016. A review of current methods using bacteriophages in live animals, food and animal products intended for human consumption. *Journal of Microbiological Methods* 130: 38-47.
- [8] Esteban, P.P., Jenkins, A.T., Arnot, T.C., 2016. Elucidation of the mechanisms of action of Bacteriophage K/nano-emulsion formulations against *S. aureus* via measurement of particle size and zeta potential. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 139: 87-94.
- [9] Saygılı, D., Karagözlü, C., 2017. Bakteriyofaj enkapsülasyonu ve potansiyel uygulamaları. *Gıda* 42(1): 58-66.
- [10] Harper, D.R., Mcconville, M., Anderson, F.J., Enright, M.J., 2015. Molecular Medical Microbiology Second Edition Volume I Chapter 31. Ed. Tang Y., Sussman M., Liu D., Poxton I., Schwartzman J. Academic Press, Elsevier, pp.567-581.
- [11] Pulit, A.C., Mitula, P., Sliwka, P., Laba, W., Skaradzinska, A., 2015. Bacteriophage encapsulation: Trends and potential applications. *Trends in Food Science & Technology* 45: 212-221.
- [12] Chatain, M.H.L., 2014. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Frontiers in Microbiology* 5(51): 1-6.
- [13] Oliveira, M., Viñas, I., Colàs, P., Anguera, M., Usall, J., Abadias, M., 2014. Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiology* 38: 137-142.
- [14] Sağlam, S., 2014. Tavuk İşletmelerinden ve Tavuk Etlerinden İzole Edilen *Listeria* spp.'ler Üzerine Listex™ P100 Bakteriyofajının Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 73 ss. Adana.
- [15] Liu, H., Niu, Y.D., Meng, R., Wang, J., Li, J., Johnson, R.P., McAllister, T.A., Stanford, K., 2015. Control of *Escherichia coli* O157 on beef at 37, 22 and 4°C by T5-, T1-, T4- and O1-like bacteriophages. *Food Microbiology* 51: 69-73.
- [16] Endersen, L., Coffey, A., Neve, H., McAuliffe, O., Ross, R.P., O'Mahony, J.M., 2013. Isolation and characterisation of six novel mycobacteriophages and investigation of their antimicrobial potential in milk. *International Dairy Journal* 28: 8-14.
- [17] Gouvea, D.M., Mendonça, R.C.S., Lopez, M.E.S., Batalha, L.S., 2016. Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. *LWT - Food Science and Technology* 67: 159-166.
- [18] El Haddad, L., Roy, J.P., Khalil, G.E., St-Gelais, D., Champagne, C.P., Labrie, S., Moineau, S., 2016. Efficacy of two *Staphylococcus aureus* phage cocktails in cheese production. *International Journal of Food Microbiology* 217: 7-13.
- [19] Singla, S., Harjai, K., Raza, K., Wadhwa, S., Katare, O.P., Chhibber, S., 2016. Phospholipid vesicles encapsulated bacteriophage: A novel approach to enhance phage biodistributions. *Journal of Virological Methods* 236: 68-76.
- [20] Stanford, K., Mcallister, T.A., Niu, Y.D., Stephens, T.P., Mazzocco, A., Waddell, T.E., Johnson, R.P., 2010. Oral delivery systems for encapsulated bacteriophages targeted at *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle. *Journal of Food Protection* 73(7): 1304-1312.
- [21] Denou, E., Bruttin, A., Barretto, C., Ngom-Bru, C., Brüssow, H., Zuber, S., 2009. T4 phages against *Escherichia coli* diarrhea: Potential and problems. *Virology* 388: 21-30.
- [22] Tanji, Y., Shimada, T., Fukudomi, H., Miyanaga, K., Nakai, Y., Unno, H., 2005. Therapeutic use of phage cocktail for controlling *Escherichia coli* O157:H7 in gastrointestinal tract of mice. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 100(3): 280-287.
- [23] Jamalludeen, N., Johnson, R.P., Shewen, P.E., Gyles, C.L., 2009. Evaluation of bacteriophages for prevention and treatment of diarrhea due to experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* O149 infection of pigs. *Veterinary Microbiology* 136: 135-141.
- [24] Ma, Y., Pacan, J.C., Wang, Q., Xu, Y., Huang, X., Korenevsky, A., Sabour, P.M., 2008. Microencapsulation of bacteriophage Felix O1 into chitosan-alginate microspheres for oral delivery. *Applied and Environmental Microbiology* 8: 799-805.
- [25] Tang, Z., Huang, X., Baxi, S., Chambers, J.R., Sabour, P.M., Wang, Q., 2013. Whey protein improves survival and release characteristics of bacteriophage Felix O1 encapsulated in alginate microspheres. *Food Research International* 52: 460-466.
- [26] Çomak Göçer, E.M., Aşçı Arslan, A., Küçükçetin, A., Ergin, F., 2013. Probiyotik bakterilerin mikrokapsülasyonu. *Yetiştiren ve Çocuklarda Probiyotikler* 1(1): 33-37.
- [27] Silva, P.I., Stringheta, P.C., Teófilo, R.F., De Oliveira, I.R.N., 2013. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. *Journal of Food Engineering* 117: 538-544.
- [28] Dini, C., Islan, G.A., de Urraza, P.J., Castro, G.R., 2012. Novel biopolymer matrices for microencapsulation of phages: Enhanced protection against acidity and protease activity. *Macromolecular Bioscience* 12: 1200-1208.
- [29] Ma, Y., Pacan, J.C., Wang, Sabour, P.M., Huang, X., Xu, Y., 2012. Enhanced alginate microspheres as means of oral delivery of bacteriophage for

- reducing *Staphylococcus aureus* intestinal carriage. *Food Hydrocolloids* 26: 434-440.
- [30] Samtlebe, M., Ergin, F., Wagner, N., Neve, H., Küçükçetin, A., Franz, C.M.A.P., Heller, K.J., Hinrichs, J., Atamer, Z., 2016. Carrier systems for bacteriophages to supplement food systems: Encapsulation and controlled release to modulate the human gut microbiota. *LWT - Food Science and Technology* 68: 334-340.
- [31] Tang, Z., Huang, X., Sabour, P.M., Chambers, J.R., Wang, Q., 2015. Preparation and characterization of dry powder bacteriophage K for intestinal delivery through oral administration. *LWT - Food Science and Technology* 60: 263-270.
- [32] Colom, J., Cano-Sarabia, M., Otero, J., Aríñez-Soriano, J., Cortés, P., Maspoch, D., Llagostera, M., 2017. Microencapsulation with alginate/CaCO₃: A strategy for improved phage therapy. *Scientific Reports* 7: 1-10.
-

Meyve ve Sebzelere Etilen Tutucu İçeren Aktif Ambalajlama Sistemlerinin Uygulanması ve Raf Ömrüne Etkisi

Elif Sezer¹ , Zehra Ayhan² 

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 54187 Serdivan, Sakarya

Geliş Tarihi (Received): 05.08.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 06.12.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): zehraayhan@sakarya.edu.tr (Z. Ayhan)

☎ 0 264 295 38 58 📠 0 264 295 56 01

ÖZ

Etilen birçok meyve ve sebzenin büyümesi, gelişmesi ve raf ömrü üzerinde çeşitli etkileri bulunan gaz formunda doğal bir bitki büyüme düzenleyicidir. Etilenin çok düşük miktarları bile birçok meyve ve sebze de olgunlaşma ve yaşlanma üzerinde etkilidir. Bu yüzden, etilen meyve ve sebzelerin raf ömrü açısından kritik bir faktördür ve büyük ölçüde meyve ve sebzelerin olgunlaşmasına ve tazeliğinin kaybolmasına neden olmaktadır. Raf ömrünün artırılması için, etilen birikiminin önlenmesi gereklidir. Etilenin meyve ve sebzeler üzerindeki olumsuz etkilerini önlemek ve bu ürünlerde raf ömrünü artırmak için aktif ambalajlama uygulamalarını içeren yeni yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Bu makalede meyve ve sebzelerde kullanılan aktif ambalajlama sistemlerinden etilen tutucu sistemler ve bu sistemlerin ürün kalitesi ve raf ömrüne etkileri ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Etilen, Meyve ve sebzeler, Aktif ambalajlama, Etilen tutucular

Application of Ethylene Scavenging Systems on Fruits and Vegetables and Their Effects on Shelf Life

ABSTRACT

Ethylene is a naturally occurring gaseous plant growth regulator that has numerous effects on the growth, development and storage life of many fruits and vegetables. A very low amount of ethylene is enough to affect the growth, development, ripening and aging of most fruits and vegetables. Thus, ethylene is a critical factor for the shelf life of fruits and vegetables. It largely causes an increase in maturity and loss in freshness of fruits and vegetables. To restrict negative effects of ethylene on fruits and vegetables and to increase the shelf life of these products, new methods with active packaging applications have been developed. In this paper, ethylene scavenging systems as one of the active packaging systems and the effects of these systems on the quality and shelf life of fruits & vegetables are presented.

Keywords: Ethylene, Fruits and vegetables, Active packaging, Ethylene scavengers

GİRİŞ

Günümüzde sağlıklı ve dengeli beslenmenin giderek önem kazanmasıyla birlikte uzun süre taze kalan ve çabuk bozulmayan gıdalara olan tüketici talebi de artış göstermiştir. Meyve ve sebzeler karbonhidrat, yağ, protein, vitamin ve mineral içerikleriyle insan

beslenmesinde önemli yeri olan gıdalardandır. Meyve ve sebzelerin ürün kalitesi üzerinde üretimlerinden hasat edilmelerine kadar olan süreç kadar, hasat edildikten sonra tüketiciye ulaşana kadar geçirdikleri süreç de oldukça etkilidir. Özellikle hasat sonrasındaki süreçte sağlıklı koşullarda muhafaza raf ömrü ve besin değerlerinin korunması bakımından önem taşımaktadır.

Yapılan son araştırmalarla dünya çapında meyve ve sebzelerin özellikle hasat sonrası kaybının %44 civarlarında olduğu ortaya konmuştur. Oldukça yüksek düzeyde olan bu kaybın önlenmesi ve israfın azaltılması amacıyla meyve ve sebzelerin gerek depolama gerekse de ambalajlama uygulamaları ile taze olarak dayanımlarının artırılması giderek önem kazanan konulardan biri olmuştur [1-3].

Meyve ve sebzeler, diğer gıda gruplarından farklı olarak hasat edilmelerinden sonra da solunumlarını sürdürerek fizyolojik yaşamlarına devam ederler. Meyve ve sebzelerin çoğunda hasat sonrası önemli etkiye sahip olan etilen gazı açığa çıkmaktadır. Etilen, birçok meyvenin büyüme, gelişme ve depolama ömrü üzerine çeşitli etkileri olan doğal bir hormondur. Bu hormon metabolizmanın doğal bir ürünüdür ve bitkiler endojen ve eksojen olarak etilen üretir. Meyve ve sebzeler, hasat sonrası açığa çıkardıkları etilen miktarına göre klimakterik olanlar ve klimakterik olmayanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar [4, 5]. Etilenin µl/l konsantrasyonlarda pek çok meyve ve sebzede büyüme, gelişme ve depolama ömrü üzerinde çok önemli etkileri bulunmaktadır. Etilenin gerek tarımsal kullanımı gerekse de temel biyokimyası ve fizyolojisi son 20-30 yıldır geniş ölçüde çalışmalara konu olmuştur [4]. Biyosentetik yolu Adams ve Yang [6] tarafından açıklanan etilenin, biyosentezinin ve bitkiler üzerindeki etkilerinin karmaşıklığının çözülmesi amacıyla son yıllarda moleküler biyoloji uygulamaları bu alandaki araştırmalara yönelmiştir. Bunun yanı sıra gıda ambalajlama ve depolama alanında etilen gazını kontrol etmek amacıyla geliştirilen sistemlerin depo ve ambalaj

ortamlarında bulunan meyve ve sebzelerin raf ömürlerini uzatmadaki etkilerinin ve etkinliklerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır [6-11].

ETİLENİN MEYVE VE SEBZELER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Meyve ve sebzelerin bileşimleri hasatla beraber değişmeye başlar. Meyve ve sebzelerde gerçekleşen metabolizma olayları içinde en önemlileri solunum ve terlemedir. Solunum ve terleme sonucunda serbest kalan ısının bir kısmı hücredeki kimyasal reaksiyonlarda harcanırken büyük bir kısmı etrafa yayılarak ürünü ısıtır. Meyve ve sebzelerde bir aşamadan sonra kimyasal ve biyokimyasal olaylar kontrol dışında kalarak düzensiz bir şekil alırlar. Bununla beraber mikroorganizmalara karşı gösterilen direnç de sona erdiğinden çeşitli mikroorganizmaların hücumuna uğrayarak ayrıca mikrobiyolojik olarak bozulmaya uğrar. Hasat edilmiş meyve ve sebzelerin uygun koşullarda depolanmasıyla taze haldeki niteliklerini bir süreliğine de olsa korumak mümkün olmaktadır [8-11].

Etilen, esasında doğal yollarla üretilen, bitki büyümesini düzenleyici basit iki karbonlu bir gazdır; birçok meyve ve sebze üzerinde büyüme, gelişme ve depolama süresi boyunca etkisini sürdürmektedir. Etilenin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber metiyoninden oluştuğu tahmin edilmektedir. Etilenin meyve ve sebzeler üzerinde çeşitli yararlı ve yıkıcı etkileri bulunmaktadır. Bu yararlı ve zararlı etkiler etilen oluşumunun yeri ve koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Tablo 1) [12, 13].

Tablo 1. Etilenin meyve ve sebzeler üzerindeki yararlı ve zararlı etkileri [11, 14].

Yararlı Etkileri	Zararlı Etkileri
Turunçgillerin sarartılması	Yeşil sebzelerin sararması
Klimakterik meyvelerin olgunlaşması	Yumuşama ve renk solması
Patojenlere karşı savunma	Kahverengileşme ve tatta acılaşıma
Olgunlaşmanın düzenlenmesi	Raf ömrünün kısalması
	Doku kaybı ve tomurcuklanma oluşumu
	Olgunlaşmanın hızlanması ile raf ömrünün kısalması

Meyve ve sebzelerin olgunlaşması sırasında solunumdan bağımsız olarak gerçekleşen bir dizi biyokimyasal tepkime sonucunda oluşan etilen bu ürünler üzerinde hem olumlu hem de olumsuz etkilerde bulunur. Meyve olgunlaşmaya başladıkça etilen üretim miktarı da doğru orantılı olarak artış göstermekle birlikte hasat sonrasında da birçok taze üründe etilen üretimi devam eder. Etilen, meyve ve sebzelerin olgunlaşmasında olumlu bir etkisinin olmasının yanında; solunum hızının artmasına neden olarak bu ürünlerin raf ömürlerini kısaltması ve klorofil yıkımını hızlandırıcı rol oynamasıyla olumsuz etkide bulunur. Ortam atmosferinde az miktarda bile etilen bulunması durumunda klimakterik davranan meyveler hızla klimakterik faza girmektedirler. Örneğin yeşil elmaların +5°C ile +10°C'lerde depolanmalarında ortam atmosferinde 1 ppm etilen bulunması klimakterik faza girmelerine neden olmaktadır. Benzer şekilde yeşil muzların bulunduğu ortamda etilen oranı 0.5 ppm'in altına düşürülmezse, muzlar hızla olgunlaşırlar. Ayrıca etilen, klimakterik olmayan meyvelerin de solunum

hızlarının artmasına neden olarak genellikle olumsuz etki göstermektedir. Bunun yanı sıra bazı meyve ve sebzelerin hasattan sonra olgunlaşmalarının düzenlenmesi ve hızlandırılması amacıyla etilen gazı uygulanmaktadır. Depolama sırasında meyvelerdeki etilen oranı baskılanarak kontrol altına alındığında, meyvenin olgunlaşma ve bozulma reaksiyonları da buna bağlı olarak yavaşlamakta ve sonucunda raf ömrünün uzaması sağlanmaktadır [11, 15, 16]. Yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda meyve ve sebzelerin bulunduğu depo ve ambalaj ortamlarında etilenin gerek baskılanarak gerekse de ortamdan uzaklaştırılarak kontrol altına alınması ile bu ürünlerin raf ömürlerinin uzatılabileceğini göstermiştir [11, 12, 17-19].

ETİLEN TUTUCU SİSTEMLER

Etilenin kontrol altına alınması ile meyve ve sebzelerin raf ömründe uzama sağlanabileceği ortaya konulduktan sonra depo ve ambalaj ortamlarından etilen gazının giderilmesini ve adsorpsiyonunu sağlayan çeşitli

sistemlerin geliştirilmesi ve raf ömrü üzerindeki etkilerinin incelenmesi üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır [17-19]. Etilen üretimini engelleyen ve sınırlayan maddeler Sisler ve arkadaşları tarafından 1970'lerden başlayarak 1990'lı yıllarda devam eden çalışmalarla ortaya konmuştur [20-23]. Meyve ve sebzelerdeki etilenin kontrol altına alınması için geliştirilen çeşitli etilen tutucu sistemler vardır. Bu sistemler etilenin absorplanması, okside edilmesi, etilen üretiminin baskılanması gibi çeşitli mekanizmalarla etilenin kontrol altına alınmasını sağlar [4, 5, 24, 25].

Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarla 1-metilsiklopropenin (1-MCP) meyve olgunlaşmasını geciktirdiği ortaya konmuştur. 1-MCP'nin etilen reseptör bölgelerine bağlanarak etilen aktivitesini engelleyen bir inhibitör görevi gördüğü kabul edilmektedir. 1-MCP'nin gaz formda olması, fitotoksik olmaması, kokusuz olması ve düşük konsantrasyonlarda bile etkili olması, ticari kullanımı için umut vadetmektedir. 1-MCP meyvelerdeki etilen üretiminin kontrolüyle ilgili çalışmalarda sıklıkla kullanılan bileşiklerden bir tanesidir [5, 26, 28-31].

Etilenin etkisi karbondioksit, gümüş ve birkaç doymamış sıklık olefin gibi çeşitli bileşiklerle de engellenebilmektedir. Nitekim, karbondioksit, kontrollü atmosfer depolamalarında etilenin aktivitesini azaltmak için kullanılmaktadır [4, 11]. Üretilen etilen tutucu sistemlerin bir kısmında ise potasyum permanganat ($KMnO_4$) esaslı tutucular tercih edilmektedir. Potasyum permanganat etileni bir dizi tepkime bağlamında önce asetaldehide sonra asetik aside yükseltgeç, ardından asetik asit karbondioksit ve suya dönüşür. Bunun yanında potasyum permanganat toksik bir maddedir ve gıdayla temas etmemesi gerekir. Bu nedenle gıdayla temas halinde olan ambalajlarda doğrudan kullanılması uygun değildir, ancak kesecikler içinde uygulanabilir. Potasyum permanganatın yüzey alanının arttığı ölçüde etilen tutma kapasitesi artmaktadır. Bu sebeple perlit, alumina, silikajel, vermikulit, aktif karbon veya selit gibi geniş yüzey alanına sahip inert bir taşıyıcı üzerine ilave edilmesiyle yüzey alanı artırılabilir [16, 32, 33].

Pathanagul ve ark. (2012) $4.62 Na_2O: Al_2O_3: 10 SiO_2: 180 H_2O$ bileşim oranında (molar olarak) Y tipi zeolit NaY, fenil trimetil amonyum bromit (PTAB) ve potasyum nitrat (KNO_3) kullanarak üç farklı yöntemle etilen tutucu üretmişlerdir. Zeolit NaY, ilk yöntemde öncelikle PTAB çözeltisi ile sonrasında KNO_3 çözeltisi ile ($K^+/PTAB$ -zeolit NaY); ikincisinde önce KNO_3 çözeltisi ile ardından PTAB çözeltisi ile ($PTAB/K^+$ -zeolit NaY) ve üçüncü yöntemde ise karışım halde bulunan PTAB- KNO_3 çözeltisi ile muamele edilmiştir (K^++PTAB -zeolit NaY). Çalışmada üç farklı yöntemle elde edilen örneklerin etilen absorpsiyonundaki etkinlikleri incelenmiş, üç yöntemle de elde edilen örneklerin etilen tutucu etki gösterdiği ancak en yüksek absorplama oranına sahip örneğin K^++PTAB -zeolit NaY olduğu belirlenmiştir [34]. Srithamaraj ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada etilen tutucu ve sensörü olarak kullanılması amacıyla gözenekli kil malzeme içeren nanokompozit ambalaj filmi elde edilmiştir. Bentonit setil trimetilamonyum bromit (CTAB), dodesilamin ve tetraetoksilan (TEOS) ile muamele edilmesi ile gözenekli

kil heteroyapıları oluşturulmuştur (PCH). PCH'nin metil trietoksilan (MTS) ile muamele edilmesiyle elde edilen nanokompozit HPCH, 3-merkaptopropil trietoksilan (MPTMS) ile muamele edilmesiyle elde edilen nanokompozit ise MPPCH olarak isimlendirilmiştir. Elde edilen PCH, HPCH ve MPPCH nanokompozitleri polipropilen (PP) malzemeyle ambalaj filmi haline getirilmiştir. Filmlerin hem etilen absorplama oranlarını hem de etilen sensörü olarak kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla elektriksel iletkenlikleri incelenmiştir. Etilen absorplama kapasitesi en yüksek olan malzeme HPCH olarak belirlenmiş, etilen gaz sensörü olarak kullanılabilir en uygun örneğin ise HPCH'den daha düşük etilen absorplama oranına sahip PCH/PP film olduğu belirtilmiştir. Elde edilen bu malzemelerin meyve ambalajlanmasında etilen tutucu olarak kullanıma potansiyeli olduğu sonucuna varılmıştır [35].

Palladyum klorür içeren aktif karbon da etilen tutucu olarak kullanılan sistemlerdendir. Ayrıca, zeolit, kil ve Japon oya taşı gibi minerallerin ambalaj filmlerinde kullanılması ile geliştirilen çeşitli etilen tutucular bulunmaktadır. Ambalaj filmlerine ilave edilen mineraller hem etileni absorbe ederler hem de ambalajın geçirgenlik özelliklerini değiştirirler. Bu sayede C_2H_4 ve CO_2 'nin daha hızlı difüze olması sağlanır. Bu tür minerallerin kullanıldığı ambalaj materyellerine örnek olarak; Orega bag (Cho Yang Heung San. Co., ABD), Peakfresh™ (Peakfresh Products, Avustralya), Profresh (E.I.A. Warenhandels, Avusturya ve İsrail) ve Tazetut® (Aksoy Plastik, Türkiye) verilebilir [16, 25]. Çay işleme atığı olan kullanılmış çay yapraklarının düşük maliyetli mikro boyutta kullanılmış çay yaprağı tozu (MSTLP) haline getirildiği ve biyosorbent olarak etileni gidermedeki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada üretilen MSTLP'nin etkili ve ucuz bir biyosorbent olarak etilen gideriminde kullanım potansiyeli olduğu vurgulanmıştır. Bunun yanı sıra etilen adsorplamada kullanılan MSTLP'nin geri kazanılarak on defa daha kullanılabilirliği rapor edilmiştir [36].

ETİLEN TUTUCULARIN DEPOLAMA VE AMBALAJLAMA UYGULAMALARI

Meyve ve Sebze Depolamada Kullanılan Etilen Tutucu Sistemler

Meyve ve sebzeler, diğer gıda gruplarından farklı olarak hasat edilmelerinden sonra da solunumlarını sürdürerek fizyolojik yaşamlarına devam ederler. Etilenin bu tür ürünlerin olgunlaşması dolayısıyla da raf ömrü üzerindeki önemli etkileri nedeniyle ambalaj ve depo ortamlarında kontrol edilmesi amacıyla geliştirilen çeşitli etilen tutucu sistemler kivi, muz, avokado gibi tropikal meyvelerin, armut, elma, domates ve benzeri ürünlerin muhafazasında başarıyla kullanılmaktadır [25, 37-41, 44-47]. Etilen tutucu sistemlerin meyve ve sebzelerin ambalajlanmasında uygun bir şekilde kullanılabilmesi için etilen üretim düzeyi ve ürünün etilene karşı duyarlılığının bilinmesi önemlidir. Ayrıca depo ortamının sıcaklık ve bağıl neminin ürün için uygun değerlerde olması da etilen tutucunun başarılı bir şekilde uygulanmasını etkileyen faktörlerdendir [16, 48].

Feng ve ark. [5] tarafından olgun avokado meyvesindeki etilen aktivitesinin 1-metilsiklopropan (1-MCP) ile kontrol edilmesi üzerine yapılan bir çalışmada; 22°C'de 24 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda 1-MCP ile muamele edilmiş avokado örnekleri, sonrasında havalandırılarak 22°C'de 24 saat boyunca 300 µl/L etilene maruz bırakılmıştır. Ardından olgunlaşmanın tespit edilmesi için 22°C'de etilen bulunmayan ortamda depolanmıştır. Çalışma sonucunda 1-MCP'nin çok düşük konsantrasyonlarda bile etilene bağlı olgunlaşmayı engellediği açıklanmıştır. 24 saat boyunca 30-70 nL/L 1-MCP'ye maruz bırakılan avokado örneklerinin normal olgunlaşma süresine göre 10-12 gün daha uzun sürede olgunlaştıkları rapor edilmiş, 1-MCP'nin avokado meyvesinin hasat sonrası olgunlaşmasının engellenmesinde potansiyel bir inhibitör olduğu vurgulanmıştır. Avokado meyvelerinde 1-MCP olgunlaşmayı 2 hafta geciktirmiş, ardından meyve normal olgunlaşmaya devam etmiştir [5]. Adkins ve ark. [49] avokado meyvesiyle yaptıkları bir diğer çalışmada etilen uygulamasının öncesinde ya da sonrasında ve olgunlaşma süresi boyunca farklı zamanlarda 1-MCP uygulamasının olgunlaşma üzerindeki etkisini incelemişlerdir. 1-MCP 500 nL/L konsantrasyonunda avokadonun olgunlaşmasının geciktirilmesinde etkili bulunmuştur. Ayrıca avokado meyvesinin olgunlaşmasını sağlamak için yapılan etilen uygulaması sonrasında uygulanan 1-MCP'nin ilerleyen yumuşamayı geciktirmede ticari bir potansiyelinin olduğunu açıklamışlardır. Hershkovitz ve ark. [50]'de benzer şekilde hasat sonrası 300 nL/L 1-MCP uygulamasının Ettinger, Hass ve Pinkerton çeşidi avokadoda 5°C'de 3.5 hafta depolama süresi boyunca klimakterik etilen üretimini geciktirdiğini ve solunumunu yavaşlattığını, soğuk zararlanmasını azalttığını saptamışlardır [50]. Meyer ve Terry [51], avokado meyvesinin 5°C'de depolanması ve ardından 20°C'de olgunlaştırılması süresince 1-MCP'nin ve geliştirilen palladyumlu etilen tutucunun (e+ ® Ethylene Remover) kalite özellikleri üzerine etkilerini karşılaştırmışlardır. 1-MCP her ne kadar 5°C'de depolama boyunca olgunlaşmanın önlenmesinde palladyumlu etilen tutucuya göre daha başarılı olmakla birlikte devamında gelen 20 °C'deki olgunlaştırma periyodunda avokadonun yeterli olgunluğa gelememesine neden olmuştur.

Terry ve ark. [37] geliştirdikleri palladyum içeren etilen tutucu ile muz, avokado ve çilek örnekleri üzerine çalışmışlardır. Palladyum (Pd) içeren bu etilen tutucunun kullanıldığı muz ve avokado örneklerinde etilen üretiminde düşüş görülmüş, etilen tutucu içermeyen kontrol örneklerine göre ürün kalitesinin daha yüksek oranda korunduğu dikkat çekmiştir. Çilek örneğinde ise ticari olarak kayda değer bir değişimin olmadığı belirtilmiştir. Palladyum içeren etilen tutucunun 20°C'de yaklaşık %100 bağıl nemli ortamda yüksek etilen absorplama kapasitesinin (4162 µl/g) bulunduğunu, KMnO₄ içeren tutuculara göre düşük miktarlarda ve yüksek bağıl nem içeren ortamda bile daha etkili olduğu rapor edilmiştir [37]. Pongprasert ve Srialong [52], geliştirdikleri 1-MCP mikro baloncuk yöntemi ile klasik 1-MCP yöntemini karşılaştırmışlardır. 500 nL/L 1-MCP mikro baloncuk çözeltisi içine daldırılan

ve 500 nL/L 1-MCP'ye maruz bırakılan muz örneklerinin 25°C'de 8 günlük depolama periyodu boyunca olgunlaşma sürelerini kıyaslamışlar, mikro baloncuk yönteminin klasik 1-MCP uygulamasına göre 8 günlük depolama süresince kalite özelliklerinin korunmasında daha başarılı bir yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır [52]. Bower ve ark. [53] da çilek örneklerine farklı oranlarda etilen ve 1-MCP uygulayarak 0 ve 5°C'de depolama boyunca kalite özelliklerini incelemişlerdir. Çilek örneklerinde 1-MCP ile etilen üretiminin azaltıldığını, fakat 1-MCP nedeniyle artan CO₂ üretiminin erken bozulmaya yol açtığını belirlemişlerdir.

Yüzde 1 Pd içeren aktif karbon etilen tutucunun tek başına kullanımı ve aralıklı olarak 175°C'lik ısıl şokla kombine olarak kullanımı üzerine yapılan bir çalışmada; 8°C'de %85 bağıl nemli ortamda depolanan domates örnekleri üzerinde çalışılmış, her iki yöntemde de olumlu sonuçlar alınmakla birlikte ısıl şok uygulanan örneklerde nispeten daha iyi sonuçlar elde edildiği belirtilmiştir [54].

Ozkaya ve Dünder [55] 0°C'de %85-90 bağıl nemli ortamda 8 aylık depolama boyunca Granny Smith elma çeşidi üzerinde 325 ve 650 ppb 1-MCP ile 1800 ve 1000 mg/l difenilaminin (DPA) etkisini karşılaştırmışlardır. DPA ve 1-MCP uygulanan bütün örneklerin kontrol örneğine göre ürün kalitesini daha iyi koruduğunu saptamışlar, bunun yanı sıra genel ürün kalitesi bakımından en verimli uygulamanın 650 ppb 1-MCP olduğunu vurgulamışlardır. Granny Smith elmasında DPA ve 1-MCP uygulamalarının etkisini karşılaştıran başka bir çalışmada ise tam çiçeklenmeden sonra 182 ve 189. günlerde hasat edilen meyvelerin bir kısmına 2000 ppm DPA, bir kısmına da 1.2 ppm 1-MCP uygulanmış, uygulama yapılmayan örnekler kontrol örneği olarak belirlenmiştir. 0°C'de 4 ve 6 ay depolanan örnekler, sonrasında 7 gün 20°C'de muhafaza edilmiştir. Kontrol örneğine göre DPA ve 1-MCP örneklerinin yüzeysel kararmayı kontrol etmede eşit etki gösterdiği tespit edilmekle birlikte 1-MCP uygulamasında DPA uygulamasına göre örneklerin olgunlaşmasının geciktirilmesi ile raf ömrünün uzatılmasında daha etkili olduğu vurgulanmış, ayrıca DPA'ya göre daha az oranda kullanılması dolayısıyla daha az kalıntı bırakması açısından avantajlı olduğu belirtilmiştir [56].

1-2°C'de, %85-90 bağıl nem içeren ortamda (kontrol) 27 günlük depolama periyodu boyunca, kontrollü atmosferde depolanan (%10 O₂ ve %5 CO₂) ve 1-MCP (0.6 µl/L)'ye maruz bırakılan brokoli örnekleri; depolamadan sonra raf ömrünü belirlemek için 2 ve 4 gün 20°C'de bekletilmişlerdir. 1-MCP, 1-2°C'de depolama süresince brokolinin renk ve klorofil kaybını azaltmış, ancak 20°C'de depolamada aynı etkiyi göstermemiştir. Kontrollü atmosferde depolanmanın ürün kalitesinin korunmasında ve raf ömrünün artırılmasında 1-MCP uygulaması ve tek başına soğuk depolamadan (1-2°C) daha etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kontrollü atmosferde depolanan örnekler 20°C'de 4 günlük raf ömrü sonunda genel beğeni açısından hala tüketilebilir limitin altına düşmemişken, 1-MCP uygulanmış örnekler ve kontrol örnekleri bu limitin altında kalmışlardır [57]. Cao ve ark. [45] tarafından

geliştirilen asitlendirilmiş aktif karbon tozu katkılı PdCl₂-CuSO₄ bazlı etilen tutucu (AAPC-PdCl₂-CuSO₄) ile yapılan çalışmada, PdCl₂ ve CuSO₄'ün ayrı ayrı farklı oranlarda ve her ikisinin birlikte ilave edilmesiyle üretilen aktif karbon katkılı etilen tutucular brokoli üzerinde denenmiştir. AAPC-PdCl₂-CuSO₄ uygulamasının, AAPC'nin tek başına uygulanmasına ve AAPC-PdCl₂ kombine uygulamasına karşı etilenin giderilmesindeki etkinliğinin daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. 20°C'de depolanan brokoli örneklerinin raf ömründe yaklaşık 2 gün artış sağlandığı vurgulanmıştır [45].

Amornputti ve ark. [58] durian meyvesinde yaptıkları bir çalışmada; 25°C'de 12 saat boyunca 500 nL/L 1-MCP uyguladıkları meyve örneklerini daha sonrasında 15°C'de %85-90 bağıl nemli ortamda depolamışlardır. Depolama boyunca 3 günde bir alınan örneklerin yarısına analizler yapılmış, diğer yarısı ise 25°C'de %80-90 bağıl nemli ortama alınarak muhafaza edilmiştir. Örneklerin 15°C'de depolandığı süre boyunca 1-MCP uygulamasının etilen üretimi üzerine bir etkisi saptanmamakla birlikte 15°C'den 25°C'ye transfer edilen örneklerde 1-MCP'nin etilen üretimi üzerinde engelleyici bir etkisinin olduğu rapor edilmiştir. Lim ve ark. [46] da 10°C'de 16 saat boyunca 20 µL/L 1-MCP'yle işleme tabi tuttukları, devamında 1°C'de depolanan kivi meyvelerinde işleme tabi tutulmayan kontrol örneklerine göre 5 haftaya kadar meyve sertliği, askorbik asit oranı ve toplam fenolik bileşenlerin daha yüksek oranda korunduğunu rapor etmişlerdir [46]. Depolarda kullanılan etilen tutucu sistemler üzerine yapılmış çalışmalar Tablo 2'de özetlenmiştir.

Meyve ve Sebze Ambalajlamada Kullanılan Etilen Tutucu Sistemler

Meyve ve sebze ambalajlarında genellikle PE, PP ve PVC gibi ambalaj filmlerine ilave bileşenler ekleyerek gözenek yapılarının etilenin geçişine elverişli ölçüde değiştirilmesi ile etilenin ambalaj içi ortamdan giderilmesi hedeflenmektedir. Ambalaj filminin özelliklerinin değiştirilmesi amacıyla yaygın olarak nano-Ag, nano-TiO₂, nano ZnO, kaolin ve montmorillonit gibi bileşenler kullanılmaktadır [40, 59-61].

Li ve ark. [59] Çin hünnapı meyvesini nano-Ag, nano TiO₂, kaolin ve polietilen kullanarak ürettikleri nano malzemeye ambalajlayarak depolama boyunca ürün kalitesini izlemişlerdir. Aynı kalınlıkta polietilen esaslı ambalaj kontrol örneği olarak alınmış ve 12 günlük depolama boyunca meyvenin kalite özellikleri incelenmiştir. Nano ambalajlı örneklerde meyve yumuşaklığı, ağırlık kaybı ve esmerleşmenin kontrol örneklerine göre önemli derecede önlenildiği saptanmıştır. Üretilen bu nano ambalajın Çin hünnapının raf ömrünü uzatmada ve ürün kalitesini artırmada kullanılabileceği belirtilmiştir [59]. Etilene maruz bırakılan kivi örneklerinde, 4°C'de 42 günlük depolama boyunca nanokompozit bazlı ambalajlamanın (nano gümüş, nano-TiO₂ ve montmorillonit karışımı) hasat sonrası kalite özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ise nanokompozit bazlı ambalajın polietilen ambalajlı kontrol örneğine göre

kalite özelliklerini daha yüksek oranda koruduğu rapor edilmiştir [60].

Nano-ZnO kaplamalı aktif paketlemenin taze kesilmiş fuji elmasının kalite özellikleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, 4°C'de 12 günlük depolama boyunca PVC ambalajlı kontrol örneklerine kıyasla nano-ZnO örneklerinde meyve bozulma oranı, toplam çözünür kuru madde, titrasyon asitliği gibi özelliklerin yüksek oranda korunduğu vurgulanmıştır. Bunun yanında olgunlaşma ve bozulmayı işaret eden malondialdehit, polifenol oksidaz, pirogallol peroksidaz ve kahverengileşme indeksi gibi parametreler bakımından ise nano-ZnO örneklerinde kontrol örneklerine kıyasla daha düşük değerler elde edilmiştir. Etilen içeriği bakımından da nano-ZnO örneklerinde kontrol örneklerine kıyasla depolama boyunca ambalaj içi etilen oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmiş fakat nano ambalajın etileni baskılama mekanizması üzerine bir yorum getirilmemiştir [40].

Díaz-Mula ve ark. [61] farklı erik çeşitlerini, kontrol (makro gözenekli film), H (polyester (12 µm)-polipropilen (50 µm)) ve M (polyester (12 µm)-polipropilen (50 µm)) olmak üzere farklı ambalaj materyalleri kullanarak pasif modifiye atmosferde ambalajlamış ve 2°C'de %90 bağıl nemli ortamda 35 gün depolamışlardır. Kontrol örneklerine göre raf ömründe ortalama olarak 3-4 haftalık bir artış gözlemlediklerini belirtmekle birlikte M ambalajının H ambalajına göre raf ömrünü uzatmadaki etkisinin daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Bu durumun M ambalajının H ambalajına göre etilen üretimini daha yüksek oranda engellediğinden kaynaklı olabileceğini savunmuşlardır.

Esturk ve ark. [25] pasif modifiye atmosfer altında (~%21O₂ ve %79 N₂) etilen tutucu içeren (%8 Tazetut® granül, M2) ve içermeyen LDPE malzemeye (M1) ambalajladıkları ve sonrasında 4°C'de 20 gün boyunca depoladıkları brokoli örneklerinin raf ömrünü incelemişlerdir. Depolama sonunda etilen konsantrasyonunu etilen tutucu içermeyen ve içeren ambalajlarda sırasıyla 61.8 ppm ve 0.33 ppm olarak tespit etmişlerdir. Etilen tutucu içeren örneklerin raf ömrünü 20 gün olarak, ambalajsız kontrol örneklerinin ise 5 gün olarak belirlemişlerdir. Etilen tutucu içermeyen ambalajlarda tepe boşluğu oksijen konsantrasyonu %1'in altına düştüğünden anaerobik fermentasyon riskine karşı raf ömrünü 5 günle sınırlamışlardır.

Ketsa ve ark. [42] tarafından yapılan çalışmada; muz örneklerinde 14°C'de depolama periyodu boyunca, raf ömrü üzerinde 1-MCP'nin, pasif modifiye atmosfer depolamanın ve her iki yöntemin birlikte gösterdiği etki incelenmiştir. İki yöntemin uygulanmadığı örnekler kontrol örneği olarak belirlenmiş, tüm örnekler gözeneksiz polietilen malzemeye ambalajlanmıştır. Çalışmada elde edilen veriler sonucunda pasif modifiye atmosfer ve 1-MCP uygulamaları ayrı ayrı uygulandığında her biri 40 gün kadar raf ömrü sağlarken, iki yöntemin kombine bir şekilde uygulandığı yöntemde muz örneklerinin raf ömrü 100 gün olarak belirlenmiştir [42].

Tablo 2. Etilen tutucu sistemlerin meyve ve sebze depolamada kullanımı üzerine yapılmış çalışmalar

Ürün	Sistem	Sıcaklık	Sonuç	Kaynak
Avokado	1-MCP uygulaması	22°C	13 günlük raf ömrü	[5]
Avokado	1-MCP uygulaması	20°C	Olgunlaşmanın geciktirilmesinde etkili	[49]
Avokado	1-MCP uygulaması	5°C	3.5 hafta boyunca ürün kalitesinde artış	[50]
Avokado	Palladyum içeren etilen tutucu	20°C	Ürün kalitesinde önemli derecede artış	[37]
Avokado	Palladyum katkılı etilen tutucu ile 1-MCP uygulamasının kıyaslanması	5°C'de depolama, 20°C'de son olgunlaştırma	İki uygulamada da yakın sonuçlar, 26 güne kadar raf ömrü	[39]
Muz	Palladyum içeren etilen tutucu	20°C	Ürün kalitesinde önemli derecede artış	[37]
Muz	1-MCP uygulaması ile mikro baloncuk yöntemiyle 1-MCP uygulamasının kıyaslanması	25°C	8 günlük depolamada mikro baloncuk yöntemi daha avantajlı	[52]
Çilek	1-MCP uygulaması	0°C, 5°C	Raf ömründe önemli düzeyde bir artış yok	[53]
Çilek	Palladyum içeren etilen tutucu	20°C	Ürün kalitesinde kayda değer bir artış yok	[37]
Domates	3 saat aralıklarla 175°C'lik ısı şok uygulayan cihazın %1 Pd içeren aktif karbon etilen tutucu ile kıyaslanması	8°C	Olgunlaşmayla ilişkili özelliklerin oluşumunda yüksek oranda yavaşlama	[38]
Elma	1-MCP ve DPA uygulamalarının kıyaslanması	0°C	DPA ve 1-MCP uygulamalarının her ikisinde de ürün kalitesinde artış	[55]
Elma	1-MCP ve DPA uygulamalarının kıyaslanması	0°C	6 aylık depolama periyodunda 1-MCP daha avantajlı	[56]
Brokoli	Kontrollü atmosfer (10% O ₂ and 5% CO ₂) ve 1-MCP uygulamalarının kıyaslanması	1-2°C'de depolama	Kontrollü atmosfer depolamanın 1-MCP uygulamasına göre ürün kalitesini daha yüksek oranda koruması	[57]
Brokoli	Asitlendirilmiş aktif karbon tozu katkılı PdCl ₂ -CuSO ₄ bazlı etilen tutucu	20°C	Raf ömründe 2 gün artış	[45]
Durian meyvesi	1-MCP Uygulaması	15°C ve 25°C	1-MCP 25°C'de 15°C'ye göre daha etkili	[58]
Kivi	1-MCP Uygulaması	1°C	5 haftalık depolama boyunca kontrol örneğine göre daha yüksek ürün kalitesi	[46]

Armut örneğinde yapılan bir çalışmada; farklı oranlarda 1-MCP (0.5 µL/L ve 1.0 µL/L), farklı ambalaj materyalleri (LDPE ve mikro gözenekli LDPE film) ve pasif modifiye atmosfer ambalajlamanın 210 gün boyunca 0-2°C'de soğuk depolama boyunca kalite özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. 0.5 µL/L 1-MCP uygulanmış ve mikro gözenekli filmle ambalajlanmış örneklerde renk, sertlik, titrasyon asitliği ve C vitamini gibi özellikleri daha iyi düzeyde korunmuştur [43]. Özkaya ve ark. [62] yaptıkları çalışmada hasattan sonraki depolama süresince 1-MCP (0.5 µL/L ve 1 µL/L) uygulaması ile yüksek CO₂ ve düşük O₂ geçirgenliğine sahip Xtend modifiye atmosfer torba ambalajlarının nektarinlerin kalitesi üzerine etkilerini karşılaştırmışlar; 0°C'de 20 gün ve devamında 20°C'de 2 gün depolama süresince 1-MCP ve MAP örneklerinde kontrol örneğine göre ürün

sertliğinin daha iyi düzeyde korunduğunu gözlemlemişlerdir [62]. Vázquez-Celestino ve ark. [47] mango meyvesi üzerinde PrimePro® mikro gözenekli torba (MP) ve 1-MCP'yi tek başına ve kombine olarak; karnauba mumu ve nitrik oksit (NO)'i tek başına ve kombine olarak uygulamışlardır. Mango meyvesinin kalite özelliklerinin korunması bakımından en uygun yöntemin karnauba mumu ve NO'nun kombine uygulaması olduğunu, bu yöntemle 13°C'de 18 güne kadar meyve sertliğinin en iyi düzeyde korunduğunu, ağırlık kaybı ve kurumanın ise diğer uygulamalara nazaran daha düşük olduğunu belirtmişlerdir [47]. Tablo 3'te meyve ve sebze ambalajlamada kullanılan etilen tutucu sistemler üzerine yapılmış çalışmalar özetlenmiştir.

Tablo 3. Etilen tutucu sistemlerin meyve ve sebze ambalajlamada kullanımı üzerine yapılmış çalışmalar

Ürün	Yöntem	Sıcaklık	Sonuç	Kaynak
Çin hünnapı	Nano-Ag, kaolin, TiO ₂ nano-tozu karışımı polietilen malzemeye ambalajlama	16-26°C	12 günlük depolama boyunca polietilen ambalaja göre daha üstün ürün nitelikleri	[59]
Erik	H (polyester (12 µm)-polipropilen (50 µm)) ve M (polyester (12 µm)-polipropilen (50 µm)) filmleri ile pasif modifiye atmosfer ambalajlama	2°C	3-4 haftalık raf ömrü boyunca M filmi H filmine göre ürün kalitesini korumada daha başarılı	[61]
Kivi	Nanokompozit bazlı ambalajlama (nano gümüş, nano-TiO ₂ ve montmorillonit karışımı)	4°C	42 günlük depolama boyunca nanokompozit bazlı ambalaj polietilen kontrol ambalajına göre ürün kalitesini korumada daha başarılı	[60]
Fuji elması	Nano-ZnO kaplamalı aktif paketleme	4°C	12 günlük depolamada nano-ZnO kaplamalı aktif paketleme PVC ambalajlı kontrol örneğine göre ürün kalitesini korumada daha başarılı	[40]
Muz	1-MCP ve gözeneksiz polietilen ile pasif modifiye atmosfer	14°C	Kombine 1-MCP ve pasif MAP uygulaması ile 100 günlük raf ömrü	[42]
Armut	1-MCP (0.5 µL/L ve 1.0 µL/L) ve pasif modifiye atmosfer ambalajlama (normal ve mikro gözenekli LDPE film)	0-2°C'de 210 gün ardından 20°C 7 gün	Kombine 0,5 µl 1-MCP ve mikro gözenekli LDPE film uygulaması ürünün tüm kalite özelliklerini korumada en başarılı yöntem	[43]
Brokoli	Etilen tutucu içeren (%8 Tazetut ® granül) ve içermeyen LDPE malzemelerle Pasif modifiye atmosfer (≈%21O ₂ ve %79 N ₂) ambalajlama	4°C	Etilen tutucu içeren örneklerde 20 günlük raf ömrü	[25]
Domates	Etilen tutucu konulan ve konulmayan dökme polipropilen ambalajla, aktif (%5 O ₂ +%5 CO ₂ +%90 N ₂) ve pasif (%21 O ₂ + %79 N ₂) modifiye atmosferde ambalajlama	10°C	Etilen tutucu içeren aktif MAP (%5 O ₂ +%5 CO ₂ +%90 N ₂) ile 14 günlük en uzun raf ömrü	[62]
Nektarin	1-MCP (0.5 µL/L ve 1 µL/L) uygulaması ile Xtend torbaları ile modifiye atmosfer ambalajlama (MAP)	0°C'de 40 gün ardından 20°C'de 2 gün	1-MCP ve MAP uygulamalarının her ikisinde de 40 günlük raf ömrü	[62]
Mango	PrimePro® mikro gözenekli torba (MP), 1-MCP'nin tek başına ve kombine uygulaması; karnauba mumu ve NO'nun tek başına ve kombine uygulaması	13°C	Carnauba mumu ile NO kombine uygulamasında 18 güne kadar ürünün kalite özelliklerini korumada en etkili yöntem	[47]

SONUÇ

Meyve ve sebze grubu ürünlerde hasat sonrasında uygun koşullarda depolama ve ambalajlama yapılmadığı takdirde kısa bir süre içerisinde bozulmalar görülmektedir. Dünya çapında üretilen meyve ve sebzelerin neredeyse yarısının tüketiciye ulaşmadan kayba uğraması raf ömürlerinin artırılmasına yönelik çalışmalar yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Meyve ve sebzelerin raf ömürlerini artırmak, kalitelerini daha uzun süre korumak, etkin muhafazalarını

sağlamak ve israfları önlemek amacıyla son yıllarda geliştirilmeye başlanan etilen tutucu sistemlerin çoğunun ambalajlama ve depolamada başarı ile uygulandığını söylemek mümkündür. Etilen tutucu olarak kullanılan potasyum permanganat gibi toksik bileşiklerin yerine gaz formda olan, kokusu, düşük miktarlarda etkili ve toksik olmayan 1-MCP gibi bileşikler son birkaç yıldır daha fazla çalışma alanı bulmuştur. Gıda ambalajlamada yaygın olarak kullanılan polietilen ve polipropilen gibi malzemelerin gözenekleri meyve ve sebzelerin ambalajlanmasında elverişli olmadığından gözenek

yapılarının değiştirilmesi amacıyla çeşitli ilave bileşenlerle ambalaj filmleri elde edilmektedir. Zeolit gibi çeşitli mineraller içeren ambalaj filmleri, nano-ZnO, nano-Ag ve nano-TiO₂ içeren ambalaj filmleri de son yıllarda geliştirilen malzemelerdendir. Meyve ve sebzelerin muhafazasında etilen tutucu sistemlerin kullanımıyla ilgili sınırlı sayıda bilimsel çalışmalar yapılmışsa da ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi açısından özellikle endüstriyel olarak uygulanabilirliğin de göz önünde bulundurulduğu daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu öngörülmektedir.





KAYNAKLAR

- [1] FAO, 2011. Global food losses and food waste—extent, causes and prevention. Rome: UN FAO.
- [2] Lipinski, B., Hanson, C., Lomax, J., Kitinoja, L., Waite, R., Searchinger, T., 2013. Installment 2 of “Creating a Sustainable Food Future” Reducing Food Loss and Waste, Working Paper, World Resources Institute.
- [3] Winkworth-Smith, C. G., Foster, T. J. ve Morgan, W., 2015. The Impact of Reducing Food Loss in the Global Cold Chain, Final Report, The University of Nottingham, United Kingdom.
- [4] Abeles, F.B., Morgan, P.W., Saltveit, M.E., 1992. Ethylene in Plant Biology, vol. 15, 2nd ed. Academic Press, San Diego, California.
- [5] Feng, X., Apelbaum, A., Sisler, E.C., Goren, R., 2000. Control of ethylene responses in avocado fruit with 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 20: 143–150.
- [6] Adams, D.O., Yang, S.F., 1979. Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76: 170–174.
- [7] Yang, S.F., 1985. Biosynthesis and action of ethylene. *HortScience* 20: 41–45.
- [8] DellaPenna, D., Giovannoni, J.J., 1991. Regulation of gene expression in ripening tomatoes. In: Grierson, D. (Ed.), *Developmental Regulation of Plant Gene Expression*. Blackie, Glasgow, pp. 182–216.
- [9] Grierson, D., Schuch, W., 1994. Control of ripening. In: Bevan, M.W, Harrison, B.D., Leaver, C.J. (Eds.), *The Production and Uses of Genetically Transformed Plants*. Chapman and Hall, London, pp. 53–62.
- [10] Kanellis, A.K., Chang, C., Kende, H., Grierson, D., 1997. *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene*. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA.
- [11] Saltveit, M.E., 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15(3): 279–292.
- [12] Taş, E., Ayhan, Z., 2005. Taze meyve ve sebzelerin modifiye atmosferde paketlenmesi (map). *Hasad Gıda* 21(244): 35-42.
- [13] Weiqing, L., Jie, W., Jianfeng, S., Weishuo, L., 2011. Application of high-voltage electrostatic equipment to ethylene removal. *International Journal of Food Engineering* 7(4), DOI: <https://doi.org/10.2202/1556-3758.2425>
- [14] Price, J.L., and Floros, J.D., 1993. Quality decline in minimally processed fruits and vegetables. *Developments in Food Science* 32: 405-427.
- [15] Döş, A., Ayhan, Z., 2003. Gıdaların modifiye atmosferde paketlenmesi. GAP III. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, 2-3 Ekim 2003, s. 437-440.
- [16] Üçüncü, M., 2007. Gıdaların modifiye atmosferde ambalajlanması. *Gıdaların Ambalajlanması*. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- [17] Yang, S.F., 1987. The role of ethylene and ethylene synthesis in fruit ripening. In: Thomson, W.W., Nothnagel, E.A., Huffaker, R.C. (Eds.), *Plant Senescence: Its Biochemistry and Physiology*. The American Soc. Plant Physiologists.
- [18] Watada, A.E., 1986. Effects of ethylene on the quality of fruits and vegetables. *Food Technology* 40: 82–85.
- [19] Loughheed, E.C., Murr, D.P., Toivonen, P.M.A., 1987. Ethylene and nonethylene volatiles. In *Postharvest Physiology of Vegetables*. Weichmann, J. (Ed.), Marcel Dekker, New York, pp. 255–276.
- [20] Sisler, E.C., Pian, A., 1973. Effect of ethylene and cyclic olefins on tobacco leaves. *Tobacco Science* 17: 698-720.
- [21] Sisler, E.C., Yang, S.F., 1984. Anti-ethylene effects of *cis*-2-butene and cyclic olefins. *Phytochemistry* 23: 2765-2768.
- [22] Sisler, E.C., Dupille, E., Serek. M., 1996a. Effect of 1-methylcyclopropene and methylenecyclopropene on ethylene binding and ethylene action on cut carnations. *Plant Growth Regulation* 18: 79-86.
- [23] Sisler, E.C., Dupille, E., Serek. M., 1996b. Comparison of cyclopropene, 1-methylcyclopropene as ethylene antagonists in plants. *Plant Growth Regulation* 18:169-174.
- [24] Maneerat, C., Hayata, Y. 2008. Gas-phase photocatalytic oxidation of ethylene with TiO₂-coated packaging film for horticultural products. *Transactions of the ASABE* 51(1): 163-168.
- [25] Esturk, O., Ayhan, Z., Gokkurt, T., 2014. Production and application of active packaging film with ethylene adsorber to increase the shelf life of Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). *Packaging and Technology and Science* 27: 179-191.
- [26] Sisler, E.C., Wood, C., 1988. Interaction of ethylene and CO₂. *Physiologia Plantarum* 73(3): 440-444.
- [27] Sisler, E.C., Blankenship, S.M., 1996. Methods of counteracting an ethylene response in plants, U.S.
- [28] Sisler, E.C., Serek, M., 1997. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: recent developments. *Physiologia Plantarum* 100: 577–82.
- [29] Song, J., Tian, M.S., Dilley, D.R., Beaudry, R.M., 1997. Effect of 1-MCP on apple fruit ripening and volatile production. *HortScience* 32: 536.
- [30] Golding, J.B., Shearer, D., Wyllie, S.G., McGlasson, W.B., 1998. Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene-dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 14: 87–98.
- [31] Watkins, C.B., 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. *Biotechnology Advances* 24(4): 389-409.

- [32] Will, R.B.H., Warton, M.A., 2004. Efficacy of potassium permanganate impregnated into alumina beads to reduce atmospheric ethylene. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129: 433–438.
- [33] Bhutia, W., Pal, R.K., Sen, S., Jha, S.K., 2011. Response of different maturity stages of sapota (*Manilkara achras* Mill.) cv. Kallipatti to in-package ethylene absorbent. *Journal of Food Science and Technology* 48: 763–768.
- [34] Patdhanagul, N., Rangsiwatananon, K., Siriwong, K., Hengrasmee, S., 2012. Combined modification of zeolite NaY by phenyl trimethyl ammonium bromide and potassium for ethylene gas adsorption. *Microporous and Mesoporous Materials* 153: 30–34.
- [35] Srithamaraj, K., Magaraphan, R., Manuspiya, H., 2012. Modified porous clay heterostructures by organic–inorganic hybrids for nanocomposite ethylene scavenging/sensor packaging film. *Packaging Technology and Science* 25(2): 63–72.
- [36] Tzeng, J.H., Weng, C.H., Huang, J.W., Lin, Y.H., Lai, C.W., Lin, Y.T., 2015. Spent tea leaves: A new non-conventional and low-cost biosorbent for ethylene removal. *International Biodeterioration & Biodegradation* 104: 67–73.
- [37] Terry, L.A., Ilkenhans, T., Poulston, S., Rowsell, L., Smith, A.W.J., 2007. Development of new palladium-promoted ethylene scavenger. *Postharvest Biology and Technology* 45(2): 214–220.
- [38] Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Valero, D., Serrano, M., 2009. Effect of ethylene concentration on quality parameters of fresh tomatoes stored using a carbon-heat hybrid ethylene scrubber. *Postharvest Biology and Technology* 51(2): 206–211.
- [39] Meyer, M.D., Terry, L.A., 2010. Fatty acid and sugar composition of avocado, cv. Hass, in response to treatment with an ethylene scavenger or 1-methylcyclopropene to extend storage life. *Food Chemistry* 121(4): 1203–1210.
- [40] Li, X., Li, W., Jiang, Y., Ding, Y., Yun, J., Tang, Y., Zhang, P., 2011. Effect of nano-ZnO-coated active packaging on quality of fresh-cut “Fuji” apple. *International Journal of Food Science and Technology* 46: 1947–1955.
- [41] Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., González-Gómez, D., 2013. Different postharvest strategies to preserve broccoli quality during storage and shelf life: Controlled atmosphere and 1-MCP. *Food Chemistry* 138(1): 564–573.
- [42] Ketsa, S., Wisutiamonkul, A., van Doorn, W.G., 2013. Apparent synergism between the positive effects of 1-MCP and modified atmosphere on storage life of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 85: 173–178.
- [43] Li, F., Zhang, X., Song, B., Li, J., Shang, Z., Guan, J., 2013. Combined effects of 1-MCP and MAP on the fruit quality of pear (*Pyrus bretschneideri* Reld cv. Laiyang) during cold storage. *Scientia Horticulturae* 164: 544–551.
- [44] Pongprasert, N., Srilaong, V., 2014. A novel technique using 1-MCP microbubbles for delaying postharvest ripening of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 95: 42–45.
- [45] Cao, J., Li, X., Wu, K., Jiang, W., Qu, G., 2015. Preparation of a novel PdCl₂–CuSO₄–based ethylene scavenger supported by acidified activated carbon powder and its effects on quality and ethylene metabolism of broccoli during shelf-life. *Postharvest Biology and Technology* 99: 50–57.
- [46] Lim, S., Han, S.H., Kim, J., Lee, H.J., Lee, J.G., Lee, E.J., 2016. Inhibition of hardy kiwifruit (*Actinidia aruguta*) ripening by 1-methylcyclopropene during cold storage and anticancer properties of the fruit extract. *Food Chemistry* 190: 150–157.
- [47] Vázquez-Celestino, D., Ramos-Sotelo, H., Rivera-Pastrana, D.M., Vázquez-Barrios, M.E., Mercado-Silva, E.M., 2016. Effects of waxing, microperforated polyethylene bag, 1-methylcyclopropene and nitric oxide on firmness and shrivel and weight loss of “Manila” mango fruit during ripening. *Postharvest Biology and Technology* 111: 398–405.
- [48] Taş, E., Ayhan, Z., 2005. Taze Meyve ve Sebzelelerin Modifiye Atmosferde Paketlenmesi (MAP). *Hasad Gıda* 21(244).
- [49] Adkins, M.F., Hofman, P.J., Stubbings, B.A., Macnish, A.J., 2005. Manipulating avocado fruit ripening with 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology* 35(1): 33–42.
- [50] Hershkovitz, V., Saguy, S.I., Pesis, E., 2005. Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 37(3): 252–264.
- [51] Meyer, M.D., Terry, L.A., 2010. Fatty acid and sugar composition of avocado, cv. Hass, in response to treatment with an ethylene scavenger or 1-methylcyclopropene to extend storage life. *Food Chemistry* 121(4): 1203–1210.
- [52] Pongprasert, N., Srilaong, V., 2014. A novel technique using 1-MCP microbubbles for delaying postharvest ripening of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology* 95: 42–45.
- [53] Bower, J.H., Biasi, W.V., Mitcham, E.J., 2003. Effects of ethylene and 1-MCP on the quality and storage life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology* 28(3): 417–423.
- [54] Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Zapata, P.J., Valero, D., Serrano, M., 2009. Effect of ethylene concentration on quality parameters of fresh tomatoes stored using a carbon-heat hybrid ethylene scrubber. *Postharvest Biology and Technology* 51(2): 206–211.
- [55] Ozkaya, O., Dündar, O., 2009. 1-Methylcyclopropene effects on quality parameters of long term stored apples cv. Granny Smith. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 7(1): 52–55.
- [56] Moggia, C., Moya-León, M.A., Pereira, M., Yuri, J.A., Lobos, G.A., 2010. Effect of DPA [Diphenylamine] and 1-MCP [1-methylcyclopropene] on chemical compounds related to superficial scald of Granny Smith apples. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(1): 178–187.
- [57] Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., González-Gómez, D.,

2013. Different postharvest strategies to preserve broccoli quality during storage and shelf life: Controlled atmosphere and 1-MCP. *Food Chemistry* 138(1): 564-573.
- [58] Amornputti, S., Ketsa, S., van Doorn, W.G., 2016. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) inhibits ethylene production of durian fruit which is correlated with a decrease in ACC oxidase activity in the peel. *Postharvest Biology and Technology* 114: 69-75.
- [59] Li, H., Li, F., Wang, L., Sheng, J., Xin, Z., Zhao, L., XiaoHu, Q., 2009. Effect of nano-packing on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. var. *inermis* (Bunge) Rehd). *Food Chemistry* 114(2): 547-552.
- [60] Hu, Q., Fang, Y., Yang, Y., Ma, N., Zhao, L., 2011. Effect of nanocomposite-based packaging on postharvest quality of ethylene-treated kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) during cold storage. *Food Research International* 44(6): 1589–1596.
- [61] Díaz-Mula, H.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., 2011. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 1. Effect on organoleptic quality. *Postharvest Biology and Technology* 61(2): 103-109.
- [62] Özkaya, O., Yildirim, D., Dündar, Ö., Tükel, S.S., 2016. Effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) and modified atmosphere packaging on postharvest storage quality of nectarine fruit. *Scientia Horticulturae* 198: 454–461.
-

Sığır Karkaslarının Kalite Değerlendirmesinde Amerika Birleşik Devletleri'nde Kullanılan Karkas Derecelendirme Sistemi

İbrahim Şeker¹ , Abdurrahman Köseman² , Pınar Şeker³ , Yasin Baykalır¹ 

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Elazığ

²İnönü Üniversitesi, Akçadağ Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Malatya

³Elazığ İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Elazığ

Geliş Tarihi (Received): 18.01.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 20.03.2017

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): abdurrahman.koseman@inonu.edu.tr (A. Köseman)*

☎ 0 422 417 14 10 📠 0 422 417 14 13

ÖZ

Bu derleme, sığır karkaslarının kalitelerine göre değerlendirilmesi için Amerika Birleşik Devletleri Tarım Teşkilatı (USDA) tarafından kullanılan karkas derecelendirme sistemi hakkında bilgi vermek amacıyla hazırlanmıştır. Bu sistemde sığır karkasları kalitesine göre en iyi, üstün (çok iyi), seçkin (iyi), standart (orta derecede iyi), orta düşük kalite, düşük kalite, en düşük kalite-1 ve en düşük kalite-2 (konservelik) olarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma kalite derecelendirmesi ve verim derecelendirmesi ile yapılmaktadır. Kalite derecelendirmesi karkasa ait ticari özelliklerin yanında etin sululuk, renk, tekstür, çiğnenebilirlik, lezzet ve aroma gibi unsurlarını tanımlamaktadır. Verim derecelendirmesi ise kesilen sığırın yaş ve cinsiyeti ile birlikte etin olgunluğunun, mermerleşme derecesinin ve karkasın et kemik oranının değerlendirilmesidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde sığırlarda karkas derecelendirme sistemi, üretici fiyatlarını belirlemek için araç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Sistemin birçok olumlu yönlerine rağmen, subjektif tarafı bulunmaktadır. Tüketicilerin satın alma sırasında, karkas kalitesiyle ilgili kararlarını etkileyebilecek ilave bilgileri elde etmek ve sistemin daha etkin şekilde kullanılmasını sağlayabilmek için mevcut sistemlerin geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Karkas ağırlığı, Karkas derecelendirme, Karkas kalitesi, Sığır eti, Verim derecelendirme

Carcass Grading System Used in the United States for Beef Carcass Quality Evaluation

ABSTRACT

This review has been undertaken to provide information about carcass grading system used by United States Department of Agriculture (USDA). Beef carcasses are classified as prime, choice, select, standard, commercial, utility, cutter and canner in this system. This classification is maintained through carcass quality and yield grading. Beef quality grades contain factors such as juiciness, color, texture, tenderness, flavor and aroma. On the other hand, in addition to age and gender factors, yield grading especially evaluates marbling, maturity measures and the ratio of meat-bone. Beef carcass grading system is often used as a means determining the producer prices in the US. Although the system has several positive aspects, it has a subjective characteristic. There is a need to develop existing systems in order to enable consumers to obtain additional information that can affect their carcass quality decisions during purchase and maintain the usage of the system more effectively.

Keywords: Beef, Carcass grading, Carcass quality, Carcass weight, Yield grading,

GİRİŞ

Sığırlardan elde edilen karkaslar, sığırların ırkına, cinsiyetine, besi süresine, bakım ve beslenme gibi birçok faktörle ilişkili olarak farklı kalite özelliklerine sahip olabilmektedir. Bu farklı özellikler ise karkasın ticari değerini etkilemektedir [1]. Karkasın kalitesi üretici, sanayici ve tüketiciyi doğrudan etkilemekte olup, karkas kalitesinin belirlenmesi, üretim kalitesinin ve randımanın artırılmasına dolayısıyla da tüketicinin ödediği para nispetinde kaliteye sahip et almasına imkân vermesi bakımından önem taşımaktadır [2]. Birçok ülkede sığır karkaslarının gerçek ticari değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar et endüstrisinin gelişiminde çok önemli rol oynamıştır [3].

Bu derlemede, sığırların karkas kalitesinin değerlendirilmesinde ABD'deki Amerika Birleşik Devletleri Tarım Teşkilatı (USDA) tarafından kullanılan karkas derecelendirme yöntemi hakkında bilgi sunmak amaçlanmıştır.

SIĞIR KARKASLARINDA KALİTE DEĞERLENDİRMESİ

Siğir karkaslarının kalite-fiyat ilişkisini belirleyen ticari kalite değerlendirmesi, Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde "karkas sınıflandırma (S-EUROP)" sistemi kullanılarak yapılırken, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kanada, Japonya, Güney Kore ve Avustralya gibi ülkelerde

"karkas derecelendirme" sistemi kullanılarak gerçekleştirilmektedir [4]. Karkasın derecelendirilmesi fiyatlandırma amacıyla pazarın ihtiyaçlarına göre karkasa farklı değerler verilmesidir. Karkas derecelendirme, karkasın kalite derecelendirmesi ve verim derecelendirmesi olarak tanımlanan iki ayrı bölümde yapılan değerlendirmeler neticesi gerçekleştirilmektedir. Kalite derecelendirmesi etin rengi, parlaklığı, sertliği, lezzeti, çiğnenebilirliği, ağızda bıraktığı tat gibi özellikleri, verim derecelendirmesi ise karkasın olgunluğu, mermerleşme derecesini ve et kemik yüzdesini esas almaktadır [3-5].

Siğir karkaslarının kalite yönünden değerlendirilmesi çeşitli ülkelerde hem kullanılan sistem, hem de sistem kapsamındaki alt derecelendirme kategorileri bakımından farklılıklar taşımaktadır. Bundan dolayı da karkas değerlendirmede kullanılan şemalar ve karkasta incelenen özellikler değişebilmektedir (Tablo 1) [5].

SIĞIR KARKASLARININ DERECELENDİRİLMESİ

Karkasın derecelendirmesi kapsamında, karkasın sınıflandırılmasında olduğu gibi karkasa ait ticari özelliklerin dikkate alınmasının yanında etin sululuk, renk, tekstür, çiğnenebilirlik, lezzet ve aroma gibi unsurları da tanımlamaktadır. Karkasta özellikle etin olgunluğu ve mermerleşme derecesi esas alınmaktadır [5].

Tablo 1. AB ve ABD'de siğir karkaslarının sınıflandırması ve derecelendirmesi sırasında kullanılan temel unsurlar [5]

Ülke	AB	ABD
	S-EUROP	USDA
Derecelendirme Birimi	Karkas	Karkas
Sınıflandırma	Evet	-
Kalite Derecelendirme	-	Evet (8)
Verim Derecelendirme	-	Evet (5)
Kesim Öncesi	-	-
Kesimhane	Karkas Ağırlığı Cinsiyet Yağlanma Düzeyi Konformasyon	Karkas Ağırlığı Cinsiyet
Soğutma Aşamasında	-	Mermerleşme Puanı Kemikleşme Puanı Et Rengi Et Tekstürü MLD Yağı MLD Alanı Böbrek ve Böbrek Çevresi Yağı
Soğutma Sonrası	-	-

Karkasın değerlendirilmesiyle ilgili olarak ABD'de tarihsel sürece bakıldığında; 1900 yılı öncesi ABD'de, etin kimyasal yapısı tamamen ortaya konmuş ve bu aşamadan sonra karkasın derecelendirilmesi üzerinde çalışmalar başlamıştır. 1910'da ilk defa Şikago et pazarında kullanılan karkasların derecelendirilmesindeki terminolojik terimler: en iyi, üstün (çok iyi), iyi, en düşük kalite-1, en düşük kalite-2 (konservelik) olarak tanımlanmıştır. 1916'da siğir karkaslarının derecelendirilmesi için standartlar geçici olarak formüle

edilmiş, 1917'de işlenmiş etin pazarlanması bir kurala göre yapılmaya başlanmıştır [5].

Günümüzde kalite, bir ürünü diğer ürünlerden ayıran pozitif veya negatif özellikler ya da bir maddenin diğerine olan üstünlüğü olarak tanımlanmakta, bir maddenin gerçekte ne olduğunu belirtmektedir. Kalite kontrolünde ise objektif kriterlerin bulunması gerekmektedir. Bu kriterler olmaksızın yapılacak değerlendirmeler yanılgıya neden olmaktadır [6]. USDA, 1996 yılında, siğir eti satışlarının dizayn edilebilmesi

amacıyla, çok farklı değişkenlik gösteren canlı sığır popülasyonlarının ya da sığır karkas gruplarının kalite ve kompozisyon bakımından birbirine en yakın biçimde gruplandırıldığı “Kesimlik Sığırların Derecelendirilmesine İlişkin Standartları” ve “Sığır Karkaslarının Derecelendirilmesine İlişkin Standartları” belirlemiştir. Karkas derecelendirme, fiziksel karkas özellikleri ile kalite faktörleri arasındaki bağlantıyı belirlemeye dayanmaktadır [7]. AB genelinde ise derecelendirme bir karkasın üretim, kesim, parçalama, dağıtım ve perakende satışını içeren ticari değerini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır [4]. Sığır karkaslarının derecelendirilmesi USDA'nın zorunlu olmayan ve gönüllülüğe dayalı bir hizmeti olup, toptancılar bu hizmeti para karşılığında satın almaktadır. Bağımsız üretici ve toptancılardan oluşan çalışanlar ise USDA tarafından istihdam edilmektedir [8].

ABD'de et kalitesi üzerinde daha çok durulmaktadır. USDA standartlarına göre sığır karkasları, kalite derecelendirmesi ve verim derecelendirmesi olarak ayrı ayrı ya da her ikisinin de uygulandığı derecelendirmeye tabi tutulmaktadır [8-10]. Bu bağlamda karşımıza iki farklı derecelendirme sistemi çıkmaktadır. Bunlar; 1. Kalite derecesine göre: karkaslardaki organoleptik özellikler göz önüne alınmaktadır, Özellikle etin kıvamı, sululuğu ve lezzetinin değerlendirilmesi esastır. 2. Verim derecesine göre: karkasın but, sırt ve omuzdan elde edilen kemiksiz, tıraşlanmış (trim edilmiş) satılabilir parça etler dikkate alınmaktadır. Ülkelerin ve/veya bölgelerin tüketim tercihlerine, pazar koşullarına göre bu değerlendirmeler değişiklik gösterebilmektedir [7].

Sığır Karkaslarının Kalite Derecelendirmesi

Karkas derecelendirme işlemlerinde karkas ağırlığı ve etin durumu, etin su tutma özelliği, et ve yağın rengi, etin kıvamı, tekstür, gevreklik, mermerleşme, bel gözü kasının durumu göz önüne alınan özellikler olup, kalite derecelendirmesinde cinsiyet ile sınıf ve etin çeşidinin belirlenmesi dışında, *Musculus longissimus dorsi* (MLD) kasının nitelmesi (mermerleşme, renk, yapı, sertlik), yaş ve iskeletteki olgunluk belirtilerinin saptanması ve son gözlemlene ve kalite derece unsurlarının birleştirilmesi aşamaları bulunmaktadır [5-7, 9].

Karkas değerlendirmedeki önemli iki faktörden fizyolojik olgunluk iskelet olgunluğunu ve yağsız etin olgunluğunu, mermerleşme ise intramusküler yağın miktarı ve dağılımını işaret etmektedir. Karkasın kalite derecelendirmesinde hayvanın cinsiyeti, yaşı, özellikle MLD kasındaki mermerleşme, etin rengi ve kas yapısındaki sıkılık/sertlik önemlidir. ABD'de sığır kalite dereceleri en üstün/kaliteli olandan en zayıf/kalitesiz olana doğru “en iyi, üstün (çok iyi), seçkin (iyi), standart (orta derecede iyi), orta düşük kalite, düşük kalite, en düşük kalite-1 ve en düşük kalite-2 (konservelik)” olarak sıralanmaktadır. Buna göre; genç hayvanların (<42 ay) karkasları için: “en iyi, üstün (çok iyi), seçkin (iyi), standart (orta derecede iyi)”; daha büyük hayvanların karkasları için (42< ay); “orta düşük kalite, düşük kalite, en düşük kalite-1 ve en düşük kalite-2 (konservelik)” kalite derecelendirmeleri yapılmaktadır. Tablo 2'de sığır karkaslarının kalite derecelerine karşılık gelen karkas

özellikleri yer almaktadır. Standart (orta derecede iyi), orta düşük kalite, düşük kalite ve en düşük kalite-1 ve 2 (konservelik) kalitesindeki etlerin hepsi sığır etinin %1'inden azını oluşturur, bu yüzden genellikle marketlerde bulunmaz [11]. Şekil 1, 2 ve 3'te farklı kalite derecelerine sahip karkas örnekleri yer almaktadır. Karkas derecelendirmesi zorunlu olmayıp gönüllülük esasına dayalı yapılmaktadır [12].

Sığır karkaslarının kalite derecelendirmesi ve mermerleşme düzeyleri arasındaki ilişki önemlidir. Karkasta belgözü kasındaki her bir mermerleşme derecesi 100'lük alt ünitelere bölünmüş olarak değerlendirilir. Genellikle her bir mermerleşme derecesi alt ünitenin kendi içerisinde de 10'luk birimler şeklinde değerlendirilir (ör.; çok az⁹⁰, az⁰⁰, az¹⁰⁰ gibi) (Tablo 3) [13].

Musculus longissimus dorsi'nin (MLD/Belgözü) Mermerleşmesi

Kalite derecelendirmesinin ilk aşaması mermerleşme düzeyinin belirlenmesidir (Şekil 4, 5) [7, 9, 14-19]. Derecelendirmede mermerleşmenin etkisi %60 olarak kabul görmektedir [6]. Kas dokusu arasındaki yağ dokunun uzunluğu veya derecesi olan mermerleşme 12 ve 13. kaburgalar arasından belgözü kasından yapılmaktadır [7, 8]. Belgözü kasında mermerleşme önemli bir derecelendirme kriteri olup [6], bu kastaki mermerleşme miktarı en düşükten en yükseğe doğru 10 dereceye (yok, belli belirsiz, çok az, az, yeterli, biraz bol, orta bol, bol ve en bol) ayrılarak belirtilir. Uygulamada ise her derece, %10'luk artışlarla %0 ile %100 arasında alt bölümlere ayrılarak gösterilir [7, 8].

Mermerleşmeye ek olarak karkas kalitesi hakkında önemli olan diğer önemli kriterler renk, sertlik ve tekstürdür. Etin rengi hayvanların yaşlarına ve kesim koşullarına göre değişebilir. Genellikle genç hayvan etleri açık kırmızı, yaşlı hayvanların etleri koyu kırmızıdır. Ancak bu değerlendirme görecelidir. Et yağı normalde beyaz ile açık sarı arasında değişir. Bazı ırklarda (Jersey) görülen sarı renkli yağ istenen bir özellik değildir. İyi kalitedeki karkas eti sert, kaslı yapıdadır. Tekstür, kasların enine kesitinde yüzeyde hissedilen kayganlık, hafif pürüzlülük veya taneli hissedilen yapıdır. İyi tekstürdeki etler parlak, düz ve pürüzsüzdür. Kaba tekstürde ise lifler belirgin, kesit yüzü donuk ve kabadır [6].

Yaş ve İskeletteki Olgunluk Belirtilerinin Saptanması

Belgözü kasının nitelmesi dışında, sığır karkaslarının derecelendirmesinde yararlanılan diğer özellik olan olgunluk derecesi, hayvanın doğum zamanına ait gerçek yaşının değil, kemik veya yağlardan fizyolojik yaşının tespit edilmesidir [10]. Olgunluk, kaburga kemiklerinin şekli, omurlar arasındaki kırıkdağların kemikleşmesi, yağ dokunun rengi ile tekstürün gözle değerlendirilmesi ile belirlenmekte, A: 9-30 ay, B: 30 - 42 ay (2,5-3,5 yaş), C: 42 - 72 ay (3,5-6 yaş), D: 72 - 96 ay (6 - 8 yaş), E: 96 ay ve üzeri (8 yaş ve üzeri) olarak belirlenmiş kronolojik ve yaklaşık yaş grupları üzerinden derecelendirilmektedir [7]. Karkas derecelendirmede olgunluğun etkisi %40 kabul edilmektedir [6].

Tablo 2. Sığır karkaslarının kalite derecelendirmesi [11]

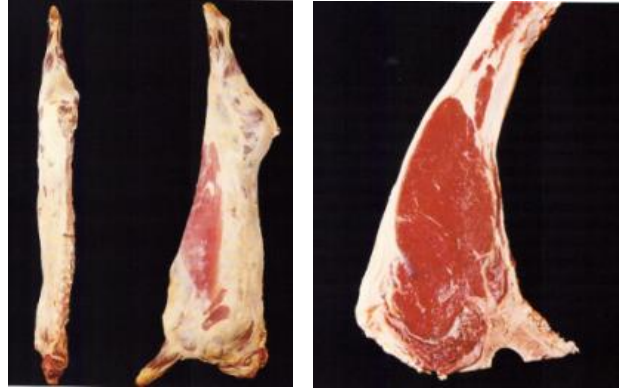
En iyi	<p>Bu kalitedeki karkaslar tosun, düve, öküz ve boğalardan elde edilmektedir</p> <p>Karkasın genel görünümü etçi tip özellikte olup, genç ve iyi besili sığırlardan elde edilmektedir.</p> <p>Fizyolojik olarak gelişimini tamamlamış sığırların karkaslarıdır. Özellikle fileto, kaburga, but ve omuzlar tam olarak dolmuş, yani karkas çok iyi etlenmiştir.</p> <p>Butların görünümü dış bükeydir.</p> <p>Karkasta boyun ve bacaklar kısa ve kalın etlidir.</p> <p>Karkastaki kabuk yağı bütün gövdeyi normal kalınlıkta düzgün olarak sarmıştır.</p> <p>Pelvis, böbrek ve kalp çevresi normal düzeyde ve renkte yağ ile kaplanmıştır.</p> <p>Belgözü kasındaki mermerleşme çok iyi düzeydedir, yağın kıvamı serttir, rengi krem-beyazıdır.</p> <p>Karkastaki etin rengi açık veya koyu kiraz kırmızısıdır.</p>
Üstün (çok iyi)	<p>Daha çok boğa ve öküz karkaslarından bu kalite derecesinde karkas elde edilmektedir.</p> <p>Karkasta boyun ve bacaklar kısmı yeterli derecede kalın ve kısadır.</p> <p>Karkasın görünümü oldukça dolgun, sıkı ve yeterli derecede etlidir.</p> <p>Kabuk yağı sert ve düzgün yapıda olup, karkas gövdesini tamamen sarmıştır.</p> <p>Böbrek, pelvis ve kalp çevresindeki yağ normal miktardadır. Yağın rengi krem beyazı renkte olup, kıvamı serttir.</p> <p>Belgözü kasının kesit yüzeyi pürüzsüz, sert görünümlüdür. Mermerleşme düzeyi normaldir.</p> <p>Karkasta etin rengi normal kiraz kırmızısı rengindedir.</p>
Seçkin (iyi)	<p>Bu derecedeki karkaslar az yağlı, 2-3 yaşlı sığırlardan (daha çok boğa, öküz ve inek) elde edilmektedir.</p> <p>Karkasın şekli, sıkı, kafi derecede etli ve dolgunur.</p> <p>Karkasta kaburga, fileto ve butlar tam olarak dolmamıştır.</p> <p>Karkasta omuzlar, boyun ve bacaklar normal kalınlıkta ve yeterli derecede etli görünümündedir.</p> <p>Karkas ve kabuk yağı pürüzlü ve parçalı görünümüne sahiptir.</p> <p>Böbrek, pelvis ve kalp çevresindeki yağ miktarları azdır ve yağ miktarları birbirlerinden farklılık gösterir.</p> <p>Karkastaki yağ sert yapıdadır ve rengi krem beyazıdır.</p> <p>Belgözü kasındaki mermerleşme düzeyi genç olan sığırlarda az, yaşlılarda biraz daha fazladır. Belgözü kasının kesit yüzeyindeki renk açık kırmızıdan koyu kırmızıya kadar değişik tonlarda görülebilir.</p> <p>Karkasın iç yağı sert, rengi krem beyazıdır. Pelvis, kalp, böbrek yağlarının miktarı birbirinden farklılık gösterir.</p>
Standart (orta derecede iyi)	<p>Bu karkaslar, 2-3 yaşlı sığırlardan (daha çok boğa, inek ve öküz) elde edilmektedir. Karkastaki et yumuşaktır.</p> <p>Karkasın şekli, uzunca, köşeli ve ince yapılı görünümündedir.</p> <p>Özellikle fileto, kaburgalar ve butlar bölgesi düz ve az etli yapıdadır.</p> <p>Karkastaki butlar oldukça düz yapılı, dize doğru gittikçe ince yapılı görünüm kazanır.</p> <p>Kabuk yağı miktarı ve görünümü sığıra göre değişiklik gösterir. Genel itibarıyla karkas gövdesini tamamen kapsamaz ve ince yapıdadır.</p> <p>Karkasta kaburgalar arasında ve belgözü kasındaki yağ dağılımı ve mermerleşme oranı azdır.</p> <p>Belgözü kasının kesit yüzeyi yumuşak, rengi açık kırmızıdan koyu kırmızıya kadar değişebilir.</p> <p>Bu tip karkaslardan elde edilen et oranı yağdan oldukça fazla olmaktadır.</p>
Orta düşük kalite	<p>Bu karkaslar 4-6 yaşlı sığırlardan (daha çok boğa, inek ve öküz) elde edilmekte olup, etleri serttir. Karkasların görünümü fazla kalın değildir.</p> <p>Bu tip karkaslar oldukça kaba ve düzenli olmayan bir görünüme sahiptirler. Fileto bölgesi oldukça yassı, içeriye çökmüştür. Karkastaki kalçalar çıkıntılı görünüme sahiptir.</p> <p>Kaburgaların dolgun ve kalın yapılı, omuzların düz ve az etli, döş bölgesinin geniş ve yaygın görümlü, bacakların ise ince ve uzun oldukları dikkati çeker.</p> <p>Bu özellikteki karkaslar yağlar bakımından oldukça yetersizdir. Yağların oldukça sert, renginin krem beyazı olduğu görülür.</p> <p>Belgözü kasındaki mermerleşme düzeyinin oldukça az veya hiç olmadığı durumlar söz konusudur.</p> <p>Karkas hem dış ve hem de iç yağ bakımından oldukça fakir görünüme sahiptir.</p>
Düşük kalite	<p>Bu derecedeki karkaslar, daha çok boğa, inek ve öküzlerden elde edilmektedir</p> <p>Karkasta kaslar oldukça uzun, köşeli ve düzensiz bir görünüme sahip olup, genelde az etlidirler.</p> <p>Fileto yassı, düz, çökük, kalçalar oldukça belirgindir. Kaburgaların düz ve zayıf görünümü dikkati çeker.</p> <p>Karkasın yağı krem beyazı renkte olup, kıvamı oldukça yumuşaktır.</p> <p>Bel gözü kasında mermerleşme yok denecek düzeydedir.</p> <p>Karkastaki etin rengi açık kırmızıdan koyu kırmızıya kadar değişiklik gösterebilmektedir.</p>
En düşük kalite-1, 2 (konservelik)	<p>Bu tip karkaslar, daha çok 4-6 yaşlı öküz ve ineklerden elde edilmektedir.</p> <p>Bu kalite derecesindeki karkaslar, bütün kalite özellikleri bakımından son derece yetersiz olduklarından et ürünlerine yönelik imalat veya konservelikte kullanıma uygundur.</p> <p>Karkas gövdeleri oldukça uzun ve ince olup, karkastaki çıkıntılar ve çöküntüler çok belirgin ve aşırıdır.</p> <p>Bel gözü kası kaba ve sıkı yapıda olup, mermerleşme görülmez.</p> <p>Karkastaki etin rengi yaşa bağlı olarak değişiklik gösterir.</p> <p>Kabuk ve iç yağdan yoksun, şekilde tanımlanmaktadır.</p>

Tablo 3. USDA'ya göre siğir karkaslarının kalite derecelendirmesi ve mermerleşme düzeyi arasındaki ilişki şeması [12].

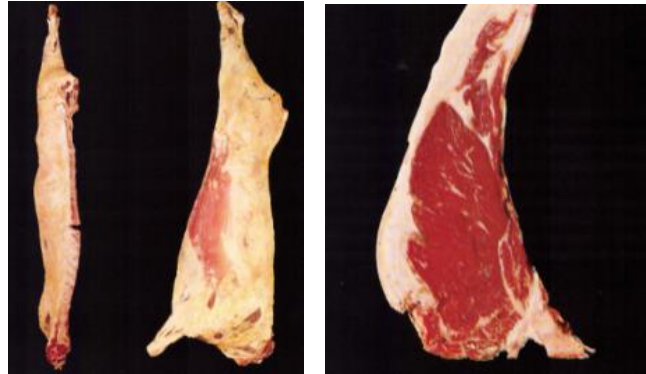
Kalite derecelendirmesi	Mermerleşme miktarı/düzeyi
En iyi +	En Bol ⁰⁰⁻¹⁰⁰
En İyi ⁰	Bol ⁰⁰⁻¹⁰⁰
En iyi -	Orta bol ⁰⁰⁻¹⁰⁰
Üstün +	Biraz bol ⁰⁰⁻¹⁰⁰
Üstün ⁰	Yeterli ⁰⁰⁻¹⁰⁰
Üstün -	Az ⁰⁰⁻¹⁰⁰
Seçkin +	Çok az ⁵⁰⁻¹⁰⁰
Seçkin -	Çok az ⁰⁰⁻⁴⁹
Standart +	Belli belirsiz ³⁴⁻¹⁰⁰
Standart ⁰	Belli belirsiz ⁶⁷⁻¹⁰⁰ – Yok ⁰⁰⁻³³ arasında
Standart -	Yok ⁰⁰⁻⁶⁶



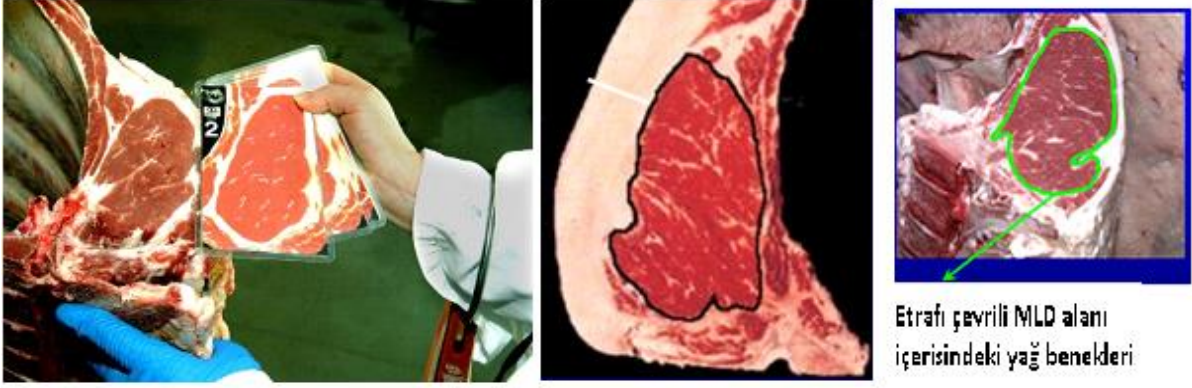
Şekil 1. Siğir karkaslarının kalite derecelendirmesi-En iyi [12]



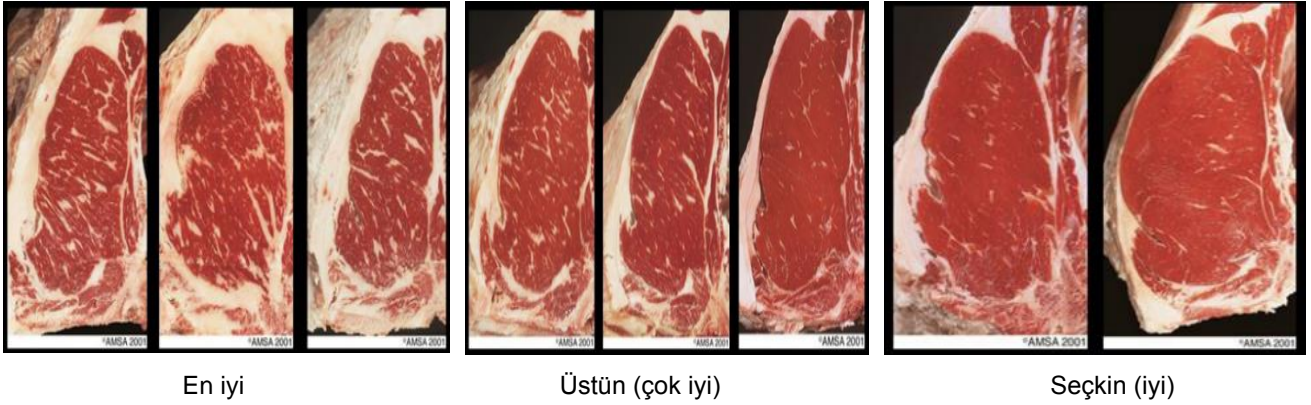
Şekil 2. Siğir karkaslarının kalite derecelendirmesi-Standart (orta decede iyi) [12]



Şekil 3. Siğir karkaslarının kalite derecelendirmesi-Düşük [12]



Şekil 4. Mermerleşmenin derecesini belirlemek için kullanılan skala, MLD çevresindeki yağ tabakası ve MLD alanındaki yağlanma düzeyi [14, 15].

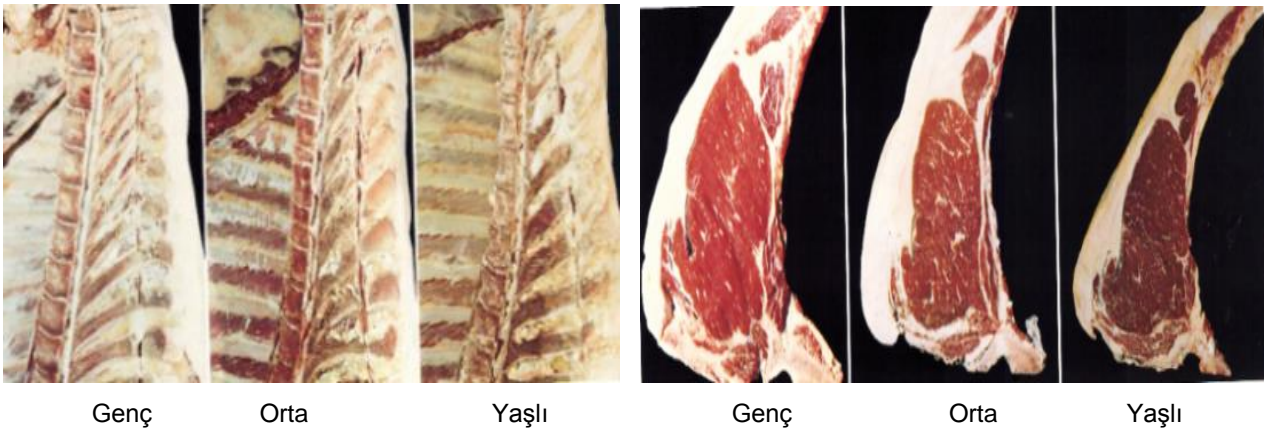


Şekil 5. Sığır karkaslarında MLD'deki mermerleşme derecesine göre karkas kalite derecelendirmesi [7, 9, 16- 19].

Karkasın olgunluk standartları, kaburgaların görünümünü ve kıkırdak kısımlarının kemikleşme düzeyi ile iskelet yapının olgunluğunu, çeyrek karkastaki MLD'nin yüzeyindeki yağ dokunun tekstürü ve rengini içeren değerlendirmeleri kapsar. Bu değerlendirmeler neticesi karkasın olgunluk düzeyi en genç (A) ile en yaşlı (E) arasındaki beş olgunluk grubuna göre belirlenir [20]. Hayvanların yaşı karkastaki kemik ve kıkırdak yapıların olgunluğuna göre belirlenmektedir. Kemiklerin kıkırdak kısımlarının (özellikle kaburgalar ve sakral, thorakal ve lomber omurgalardaki) görünümü, birbirine kaynama, sertleşme veya kemikleşme düzeyleri

hayvanların olgunluğunu belirlemek için kullanılmaktadır (Şekil 6) [12].

Sığır karkas kalite derecelendirmede en iyi, üstün (çok iyi), seçkin (iyi) ve standart (orta derecede iyi) derecelerine genç hayvanların (42 aydan küçük) (A ve B olgunluk grubundaki) karkasları dahil edilir. Orta düşük kaliteli, düşük kaliteli, en düşük kaliteli-1 ve en düşük kaliteli-2 (konservelik) derecelerine ise daha yaşlı hayvanların (C, D ve E olgunluk grubundaki) karkasları dahil edilir. En iyi ve üstün (çok iyi) derecelerine bu hayvanların karkasları kabul edilmez (Tablo 4) [10, 17, 21, 22].



Şekil 6. USDA'ya göre sığır karkaslarında olgunluk düzeyinin belirlenmesinde MLD, kıkırdak ve kemik yapının değerlendirilmesi [12].

Tablo 4. Sığır karkasının olgunluğu, mermerleşme düzeyi ve karkas kalitesi derecesi arasındaki ilişki [10, 17, 21, 22].

Mermerleşme derecesi	Olgunluk				
	A	B	C	D	E
Biraz bol	En iyi				
Orta			Orta düşük kalite		
Yeterli	Üstün (Çok iyi)				
Az					
Çok az	Seçkin		Düşük kalite		
Belli belirsiz					
Yok	Standart (orta derecede iyi)				En düşük kalite-1 ve 2

MLD'deki etin rengi ve tekstürü de karkasın yaşını belirlemek için kullanılabilir. Yaş arttıkça yağın rengi koyulaşır, tekstürü sertleşir, kabalaşır ve kalınlaşır (Tablo 5) [9]. USDA'ya göre C, D ve E olgunluk

grubunda olan inekler ve boğaların karkasları daha yaşlı olduğundan genellikle orta düşük kalite, düşük kalite ve en düşük kalite-1 ve 2 (konservelik) derecelerine kabul edilir [9].

Tablo 5. Karkasın olgunluk düzeyinin etin renk ve tekstürüne göre tahmini [9].

Olgunluk	Etin Rengi	Yağsız Et Tekstürü
A°	Açık kiraz-kırmızısı	Çok iyi
B°	Açık kiraz-biraz koyu kiraz kırmızısı arası	İyi
C°	Orta açık kırmızı -orta koyu kırmızı arası	Orta iyi
D°	Orta koyu-koyu kırmızı arası	Biraz sert, kaba
E°	Koyu kırmızı- çok koyu kırmızı arası	Sert, kaba

Son Gözleme ve Kalite Derece Unsurlarının Birleştirilmesi

Kalite derecelendirmesi, belgözü kasının nitelemesi ve yağ ve iskeletteki olgunluk belirtilerinin saptanmasından

sonra, eksternal yağ miktarı, sıcak karkas ağırlığı, böbrek, kalp ve pelvis etrafındaki yağ miktarı ile belgözü kası (MLD) alanına ait verilerin bunlarla birlikte değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmektedir (Şekil 7) [9].



Şekil 7. Sığır karkas derecelendirme örnekleri (1: Üstün (çok iyi) +; 2: Standart +) [9].

Siğir Karkaslarının Verim Derecelendirmesi (VD)

Karkasta verim derecesi, bir karkastaki 1/2 inç (1.27 cm) ya da daha az yağı alınmış, kemiklerden ayrılmış döş, sokum, nuar, tranç, rosto, yumurta gerdan, antrikot, kontirfile, bonfile gibi değerli etlerin miktarı olup, verim derecelerini temsil eden 1-5 arası bir ölçekte gösterilmektedir. VD-1 yüksek verimli karkas olarak nitelendirilirken, VD-5 düşük olarak nitelendirilir [12]. Verim derecelendirme aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır.

Verim derecelendirme (VD) = 2.5 + 2.5 X (MLD Yağ Kalınlığı, (2.54 cm)) + 0.2 X (Böbrek-Kalp-Pelvik Yağ Oranı (BKP%)) - 0.32 X (MLD Alanı, (2.54 cm²)) + 0.0038 X (Sıcak Karkas Ağırlığı (453.6 gram)).

BKP: böbrek, kalp ve pelvisteki yağ ağırlıklarının sıcak karkas ağırlığına bölünmesiyle bulunur. Yüzde ile ifade edilen bir değerdir. Karkastaki oranı %0,5-6 arasında olup; ideal olarak %3'tür.

Kemiksiz-traşlanmış (trim edilmiş) ticari parça et (KTTPE) (%) = 51.34-5.784 x (düzeltilmiş yağ)-0.462 x (böbrek, pelvis ve kalp çevresi yağı) + 0.740 x (MLD) - 0.0093 x (sıcak karkas ağırlığı).

Teoride yukarıdaki formül kullanılmakla birlikte pratikte; karkastaki kabuk yağı miktarı, sıcak karkas ağırlığı, karkasta özellikle yağlarından temizlenmiş, kesilmiş satılabilir vaziyette perakende ürün olarak bazı parçalar (bel, kaburga, but ve boyun-tepe-omuz- önemlidir. Böbrek, pelvis ve kalp çevresi yağ miktarı, MLD alanı çevresindeki yağ doku kalınlığı, MLD alanının büyüklüğü esas alınmaktadır. Siğir karkaslarındaki verim derecesi dört önemli karaktere göre tayin edilir [14].

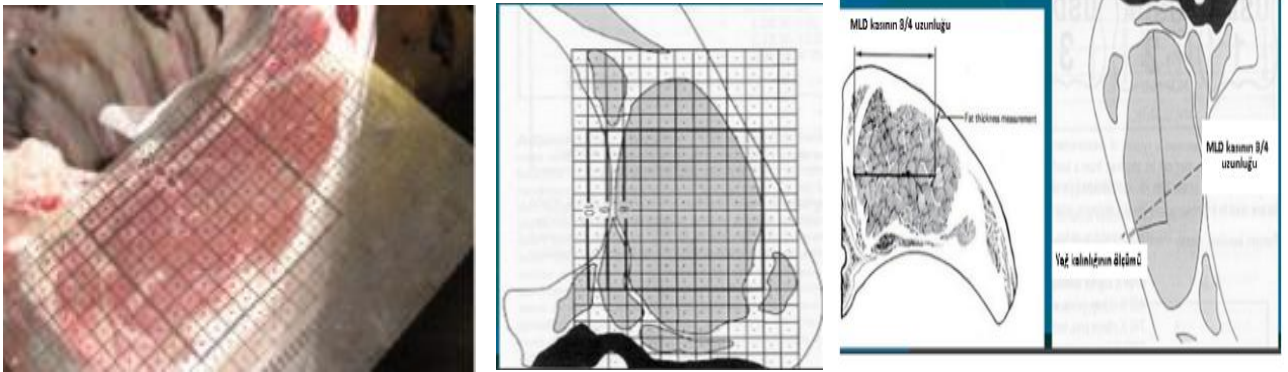
Kabuk yağının kalınlığının tespiti: Kabuk yağının kalınlığının saptanması, belgözü kasının dış yüzeyini

saran yağ kalınlığının ölçülmesiyle olur. Ölçüm 12. ve 13. kaburgalar arasındaki MLD yüzeyinden yapılır. Özellikle, kabuk yağı kalınlığı MLD nin sırt omurga hizası ucundan başlayıp MLD nin uzunluğunun 3/4 noktasında dış yüzeye dik bir pozisyonda ölçülür (Şekil 8) [23, 24]. ABD de kabuk yağı kalınlığı 0.9 cm, İngiltere'de ise 0.5 cm olan kalınlık normal kabul edilmektedir.



Şekil 8. 12. Kaburgadan MLD çevresindeki yağ tabakasının kalınlığının ölçümü [23-24].

Bel gözü kasının alanının tespiti: Belgözü kası sırt üst kemiği boyunca her iki yarım gövdede de devam eden, parekende satışta pirzola olarak ifade edilen kastır. Bu kasın 12. 13. kaburgalar arasında bele doğru yapılan kesitle ortaya çıkartılan kas kesit yüzeyidir (Şekil 9) [20, 21]. Bu kasın kesit yüzey alanının ölçülerek ifade edilmesi, belgözü kas alanı değerini oluşturur. Elde edilen bu değer, bir karkasın et veriminin göstergesidir. Belgözü kas alanındaki büyüklük veya küçüklük verim derecesi üzerinde pozitif veya negatif yönde etki yapmaktadır. 12. ve 13. kaburgalar arasından yapılan kesit sonrasında sadece MLD alanı ölçülür, etrafındaki yağ tabakası hariç tutulur.



Şekil 9. Ölçümetre ile MLD alanının hesaplanması için yapılan ölçüm [20, 21].

Böbrek, pelvis ve kalp yağı miktarının tespiti: Böbrek, pelvis ve kalp yağı subjektif olarak ifade edilir. Verim derecesinde karkas ağırlığına göre oransal olarak ifade edilir ve karkas ağırlığının %1-8'ini oluşturmaktadır. Böbrek, pelvis ve kalp yağının karkasın gövde boşluğunda birikimi verim derecesini negatif yönde etkilemektedir.

Sıcak karkas ağırlığının tespiti: Sıcak karkas ağırlığı karkasın elde edilmesinden hemen sonra terazi ile tartılmasıyla saptanan değerdir. Soğuk karkasın sıcak karkasa eş değeri soğuk ağırlık x 102/100 formülüyle bulunur.

Karkasın verim derecelendirmesi USDA'ya göre 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak sıralanmaktadır. 1 en iyi, 5 en kötü verim

derecesini işaret etmektedir [12]. Verim derecelendirmesi yapan kişiler sıcak karkas ağırlığı, MLD çevresindeki yağ kalınlığı, MLD'nin alanı, MLD

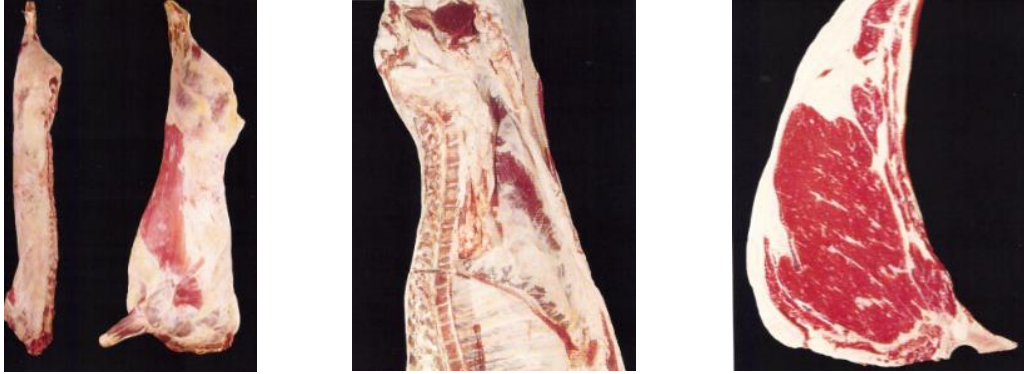
alanındaki mermerleşme düzeyi gibi noktaları dikkate alırlar. Bunlar arasındaki ilişkiler esas alınarak değerlendirmeler yapılır (Şekil 10-12 ve Tablo 6-8) [8].

Tablo 6. USDA'ya göre satılabilir perakende ürün olarak sığır karkaslarında verim derecelendirmesi [10, 20].

USDA'ya göre VD	KTTPE (Kemiksiz-traşlanmış (trim edilmiş) ticari parça et) (%)
1	52.3 ve daha fazla
2	50.3-52.3
3	47.7-50.0
4	45.4-47.7
5	45.4 ve daha az

Tablo 7. Sığır karkaslarında kullanılan kısa metotla elde edilen YG değerleri [12-14].

12. kaburgadaki MLD çevresindeki yağ kalınlığı	Verim derecesi (VD)
.1	2.25
.2	2.50
.3	2.75
.4	3.00
.5	3.25
.6	3.50
.7	3.75
.8	4.00
.9	4.25
1.0	4.50
1.1	4.75
1.2	5.00



Şekil 10. Sığır karkaslarında USDA'ya göre verim derecelendirmesi VD-1 [12].



Şekil 11. Sığır karkaslarında USDA'ya göre verim derecelendirmesi VD-3 [12].



Şekil 12. Sığır karkaslarında USDA'ya göre verim derecelendirmesi VD-5 [12]

Tablo 8. Sığır karkaslarında karkas ağırlığı ile MLD alanı arasındaki ilişki [12-14]

Karkas Ağırlığı (kg)	MLD alanı
550	10.4
575	10.7
600	11.0
625	11.3
650	11.6
675	11.9
700	12.3
725	12.5
750	12.8
775	13.1
800	13.4
825	13.7
850	14.0
875	14.3
900	14.6
925	14.9
950	15.2

KARKASLARIN DEĞERLENDİRMESİNDE KULLANILAN YENİ TEKNOLOJİK YÖNTEMLER

Sığır karkaslarının kalitelerini belirlemek amacıyla bazı AB ülkelerinde lisanslı otomatik karkas derecelendirme teknolojileri kullanılarak da karkas sınıflandırması yapılabilmektedir. Bu sistemde tutarlılık yüksek düzeyde, karkasla ve etle ilgili daha ayrıntılı bilgiler sağlanmakta, karkasın değeri daha kesin şekilde belirlenebilmektedir. Ancak, pahalı olması, az sayıda kesim yapılan işletmeler için uygun olmayışı ve pazar koşullarında elle ve otomatik olarak yapılan değerlendirmeler arasında yaşanan farklılıklar dezavantajlar oluşturabilmektedir [25].

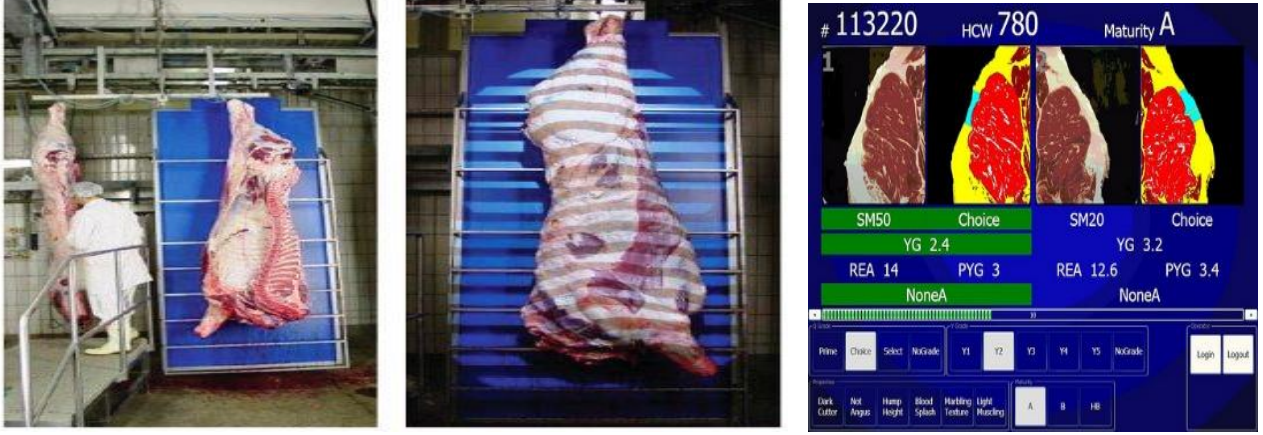
Sınıflandırma işlemi, bu iş için yetiştirilen lisanslı personelle veya lisanslı VISA yazılımına sahip makinelerle yapılabilmektedir [4]. Bu sistemler karkasın ekonomik değerini belirlemede ve satılabilir et oranını

ortaya koymada son derece doğru sonuçlar vermektedir. ABD ve başka ülkelerde de görüntü analizleri teknolojisi kullanılarak karkas ve verim derecelendirmesi yapılmaktadır [1, 26]. İleri teknoloji ürünü olan Karkas Video Görüntü Analizi (Carcass Video Imaging Analysis =VIA) veya Video Görüntü Tarama ve Analizi (Video Image Scanning and Analysis =VISA) sistemleri bu amaçla bazı AB ülkelerinde kullanılmaktadır (Şekil 13) [27, 28].

USDA'ya göre sığır karkaslarının final karkas derecelendirmesi:

İskelet olgunluğu + yağsız etin olgunluğu = Genel olgunluk

Genel olgunluk + mermerleşme puanı = USDA Kalite derecesi (Örnek: A⁷⁰ + Az⁴⁰ = Seçkin⁻; B⁶⁰ + Orta derecede iyi⁴⁰ = Seçkin^o gibi) [13, 14].



Şekil 13. Sığır karkasında video görüntü analizi kullanılarak yapılan karkas ve verim derecelendirmesi [27, 28]

SONUÇ

Günümüzde ABD’de sığırlarda karkas derecelendirme sistemi, üretici fiyatlarını belirlemek için bir araç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte sistemde görev yapan bileşenlerden herhangi biri veya birileri bazı yanlışlıklara veya hatalara yol açabilmektedir. Sistemin birçok olumlu yönlerine rağmen, sübjektif tarafı da bulunmaktadır. Ayrıca sığırlarda karkas derecelendirme sisteminin varlığı, gerektiği ölçüde karkasın lezzet ya da yumuşaklığını sağlamada kesin bir etken olmayabilmektedir. Tüketicilerin satın alma sırasında, karkas kalitesi ile ilgili kararlarını etkileyebilecek ilave bilgileri elde etmek ve sistemin etkin şekilde kullanılmasını sağlayabilmek için halen mevcut sistemlerin geliştirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Craigie, C.R., 2012. An Investigation into the Use of Video Image Analysis (VIA) and Visible-Near Infrared (NIR) Spectroscopy for Carcass Evaluation. PhD Thesis, Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- [2] Çapraz, İ., 2004. Kırmızı Et Sektör Profili. İstanbul Ticaret Borsası, Etüt ve Araştırma Şubesi, İstanbul.
- [3] Sakarya, E., Çevrimli, M.B., Arıkan, M.S., 2014. Kasaplık hayvanlarda karkas sınırlandırma ve derecelendirmenin önemi ve gelişimi. *Borsavizyon* 104: 34-43.
- [4] Anonim, 2008. Official Journal of the European Union. Commission Regulation (EC). No:EU1249/2008.10 December 2008. <http://eur-lex.europa.eu/oj/direct-access.html>. Erişim Tarihi: 22.11.2016.
- [5] Polkinghorne, R.J., Thompson, J.M., 2010. Meat standards and grading a world view. *Meat Science* 86: 227-235.
- [6] Çiftçioğlu, G., 2015. Et Muayenesi ve Teknolojisi Ders Notu. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- [7] ZoBell, D.R., Whittier, D., Holmgren, L., 2005. Beef Quality and Yield Grading. Practical Solutions for a Complex World. Extension Utah State University, USA.
- [8] Tatum, D., 2016. Beef grading. <http://www.beefresearch.org/cmdocs/beefresearch/beef%20grading.pdf>. Department of Animal Science, Colorado State University, USA. Erişim Tarihi: 04.08.2016.
- [9] Darr, N., 2014. How to quality grade beef. <http://Slideplayer.Com/Slide/1616022/>. Erişim tarihi: 05.10.2016.
- [10] Burson, D.E., 2005. Quality and yield grades for beef carcasses. <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?aarticle=1354&context=extensionhist>. North Central Regional Extension Publication. RP 357. No. 357. Erişim Tarihi: 20.12.2016.
- [11] Terzi, G., 2016. Karkasların sınıflandırılması. <http://readgur.com/doc/643/karkas---uzman-veteriner>. Erişim Tarihi: 22.11.2016.
- [12] Anonim, 1969. Meat Evaluation Handbook. National Live Stock and Meat Board, Illinois, U.S.A.
- [13] Hale, D.S., Goodson, K., Savell, J.W., 2013. Beef grading. <http://meat.tamu.edu/beefgrading.html>. Department of Animal Science, Texas Agricultural Extension Service Texas A&M University, College Station, TX. Erişim Tarihi: 03.08.2016.
- [14] Newman, D., 2015. U.S. quality grades sex class maturity marbling firmness. <http://slideplayer.com/slide/5840085/> Erişim Tarihi: 05.10.2016.
- [15] Anonim, 2016. Et fiyatlarında derecelendirme dönemi. <http://www.netkapital.com/gida/et-fiyatlarında-derecelendirme-dönemi/> Erişim Tarihi: 28.07.2016.
- [16] Miranda, R., 2010. Efficient, high-quality beef researchers in muscle biology uncover new interactions between implants and marbling. http://www.angusbeebulletin.com/extra/2010/11nov10/1110mg_cab_implants.html. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [17] Alfred, L., 2016. Meats. <http://slideplayer.com/slide/8304462/>. Erişim Tarihi: 05.10.2016.
- [18] Anonim, 2016. Grades of beef. <https://americasbeststeaks.com/grades-of-beef/>. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [19] Anonim, 2016. Grades of meat (2016). <http://www.Meatscience.Org/TheMeatweat/Topics>

- /Fresh-Meat/Grades-Of-Meat. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [20] Anonim, 2016. Carcass grade. <http://www.slideshare.net/rizzamuh/carcass-grade>. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [21] Anonim, 2009. Beef grades and carcass Information. <http://www.themeatsite.com/articles/>. Erişim Tarihi:04.10.2016.
- [22] Anonim, 2016. USDA beef carcass grading. <http://www.ohiosignaturebeef.com/index.php/beef/grading>. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [23] Morasca, E., 2011. Carcass grading. <http://www.slideshare.net/princenanda007/carcass-grading>. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [24] Shawn, F., 2015. Beef grading and evaluation. <http://slideplayer.com/slide/8500607/>. Beef Grading and Evaluation Photo courtesy of the American Meat Science Association. Erişim Tarihi: 23.11.2016.
- [25] Anonim, 2007. Beef, pig and sheep carcass classification and price reporting in the EU. http://ec.europa.eu/index_en.htm. EU Commission, Unit C3. DG Agri, Brussels, 19 March 2014. EC-Council regulation-1234/2007. Erişim Tarihi: 04.10.2016.
- [26] Allen, M., 2014. Overview of the beef carcass classification systems used in Scotland and Northern Ireland. Northern Ireland Assembly Research and Information Service Briefing Note, p: 138/14.
- [27] Morris, C., 2011. New technology means increased consistency and efficiency in grading for beef industry. <http://blogs.usda.gov/2011/10/19/new-technology-means-increased-consistency-and-efficiency-in-grading-for-beef-industry/>. Erişim Tarihi: 22.11.2016.
- [28] Craigie, C.R., Bungler, L., Roehe, R.S., Morris, T., Purchas, R.W., Ross, D.W., Maltin, C.A., 2013. Video image analysis for meat yield - opportunities and challenges for value-based marketing of sheep and beef carcasses. *Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*, August 26th- 30th, 2013, Nantes, France.
-

Deve Sütü ve Diyabet Tedavisindeki Önemi

Derya Saygılı , Cem Karagözlü 

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 02.02.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 18.06.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): derya.saygili@ege.edu.tr (D. Saygılı)

☎ 0 232 311 29 02 📠 0 232 388 18 64

ÖZ

Zengin bileşiminde bulunan biyoaktif peptit içeriği, fermente süt ürünlerine işlenebilirliği ve özellikle yüksek askorbik asit içeriği nedeniyle düşük pH'ya sahip olan deve sütü, asitliği yavaş ilerleyen ve inek sütüne oranla dayanımı daha yüksek, daha uzun süre muhafaza edilebilen bir süt çeşididir. Kendine özgü bileşimi ile öne çıkan deve sütüne ilişkin çalışmalar, insan sağlığını destekleyici yönde verdiği sonuçlar ile hız kazanmaktadır. Bileşimindeki yüksek insülin miktarı ile deve sütü, inek ve manda sütüne oranla diyabetli hastalarda kandaki glikoz miktarını düşürücü yönde gösterdiği etki ile öne çıkmaktadır. Özellikle diyabet tedavisinde günlük diyetle birlikte tüketiminin, bireylerde tedaviyi destekler nitelikte olduğu, hiperglisemik bu etkinin diğer memelilerin sütlerine oranla çok daha yüksek oranlara ulaştığı bildirilmektedir. Bu derlemede, diyabetli hastalarda deve sütü tüketimine yönelik yapılan araştırmalar incelenerek deve sütünün alternatif bir ajan olarak diyabet tedavisinde kullanımına yönelik bulgular değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deve sütü, Diyabet, Beslenme

Camel Milk and Its Importance in Diabetes Treatment

ABSTRACT

Camel milk, which has a bioactive peptide content in its rich composition, processability into fermented dairy products and particularly a low pH due to its high ascorbic acid content, has a higher stability and longer storage period than cow milk. Studies on camel milk with its unique characteristics have been increasing because of its supportive effects on human health. Camel milk with a high amount of insulin stands out due to its high-impact in reducing blood glucose in comparison to cow or buffalo milk. Especially, it is reported that consumption of camel milk in daily diet may support the treatment of diabetes, and its effect on this hyperglycemia is higher than the milk of other mammals. In this review, recent advances on camel milk as an alternative agent in the treatment of diabetes mellitus are presented.

Keywords: Camel milk, Diabetes, Nutrition

GİRİŞ

Deve, yüzyıllar boyunca kurak bölgelerde yaşayan toplumlar için yalnızca taşımayı sağlayan ekonomik bir araç değil, aynı zamanda iyi bir süt kaynağı olması sebebi ile de önemli bir hayvan olmuştur [1]. Dünya süt üretimi ve tüketiminde en büyük paya inek sütü (%85)

sahip olup, bu sütü manda, koyun ve keçi sütleri takip etmektedir. Tüm dünya genelinde bu dört hayvanın sütünden sonra en fazla tüketilen süt, deve sütüdür. Deve sütü yıllardan beri çeşitli araştırmalara konu olmuş, yöresel deve sütü ürünleri bölgesel olarak tüketilmiştir. Deve sütü ve ürünlerinin tanınmamasının başlıca nedeni yetiştiriciliği ve deve sütü üretiminin belli

bölgelerde, ülkelerde yapıyor olması ve devenin süt veriminin az olmasıdır. Deve, devegiller (*Camelidae*) familyasının *Camelus* cinsini oluşturan iki evcil hayvan türünün ortak adıdır. Develer yük, çeki ve binek hayvanı olarak kullanıldığı gibi, yünü, sütü, derisi ve eti için de beslenir. Yalnızca evcil türleriyle tanınan bu hayvanların yabani atalarından bu yana pek az değişikliğe uğradığı sanılmaktadır. Devenin iki türü Hindistan, Pakistan, Afganistan, Mısır, İran, Suriye, Arabistan gibi Güney Asya ülkeleri ile Afrika'da yetiştirilen tek hörgüçlü deve (*C. doremedarius*) ve Orta Asya'da yetiştirilen çift hörgüçlü deve (*C. bactrianus*)dir [2].

Deve sütünün antikanserojen, antidiabetik ve hipoalerjik özellikleri sınırlı olsa da bazı araştırmalarca desteklenmiştir [3-5]. Deve sütünün yüksek oranda içerdiği doymamış yağ asitleri beslenme açısından önemlidir [6]. Yine deve sütünün düşük miktarda β -kazein ve β -laktoglobulin içermesi onun hipoalerjik etki göstermesine neden olmaktadır. Ayrıca, laktoferrin, immunoglobulin, lizozim ve C vitamini içeriği de söz konusu faydalarını desteklemektedir. Zengin bileşiminde bulunan biyoaktif peptit içeriği, fermente süt ürünlerine işlenebilirliği ve özellikle yüksek askorbik asit içeriği nedeniyle düşük pH'ya sahip olan deve sütü, asitliği yavaş ilerleyen ve inek sütüne oranla dayanımı daha yüksek, daha uzun süre muhafaza edilebilen bir süt çeşididir [7-11].

Diyabet, dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı giderek artan, ciddi organ kayıplarına yol açan ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyebilen kronik bir hastalıktır. Diyabetli bireylerin yaşam kalitelerinin artırılması, beslenme, egzersiz, tıbbi tedavi ve eğitimden oluşan dört temel faktörle mümkün olmaktadır. Fiziksel aktivite ile birlikte yeterli ve dengeli beslenmenin diyabetin ortaya çıkmasının

engellenmesinde, geciktirilmesinde, komplikasyonların oluşmasında ve önlenmesinde önemli rolü olduğu bilinmektedir.

Bu makalede deve sütünün beslenme özelliklerinden kısaca bahsedilmiş, deve sütünün özellikle diyabet tedavisinde kullanımı tartışılmıştır.

DEVE SÜTÜ

Develer yaygın olarak kurak ve yarı kurak bölgelerde yaşamaktadırlar. Günlük süt verimleri cinslerine göre 3 ile 40 litre arasında değişiklik göstermektedir. Deve sütünün bileşimine laktasyon, yem, hastalık ve su tüketimi ile devenin cinsi etki etmektedir. Rengi opak beyaz, tadı hafif ekşi, bazen tuzlu ve keskin olup, inek sütünün tadına alışkın olanlarca pek benimsenmeyen deve sütünün soğuk tüketilmesi tavsiye edilmektedir. Dünyada deve sütü en çok Kenya, Somali, Ethopya ve Pakistan'da üretilmektedir. Ulusal Süt Konseyi Raporunda belirtildiği üzere, 2012 yılında dünyada 753.9 milyon ton süt üretilmekte olup inek, koyun, keçi ve manda sütünün dışında üretilen süt miktarı 2.9 milyon tondur. Bu miktarın önemli bir kısmını da deve, kısra ve eşek sütü oluşturmaktadır. Dünyada genelinde üretilen deve sütünün %89'u Afrika'da üretilmektedir. Somali'de üretilen sütün %54.4'ü, Ethopya'da üretilen sütün % 11.9'u, Mali'de üretilen sütün % 8.1'i ve Suudi Arabistan'da üretilen sütün % 5.6'sı deve sütüdür [11].

Yeni sağılmış deve sütünün pH'sı 6.5 - 6.7 arasında olup başlangıçta koyun sütüne yakın bir değerde iken, sağımdan sonra hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Tablo 1'de tek ve çift hörgüçlü deve sütlerinin bileşimi verilmiştir [12-14].

Tablo 1. Çift ve tek hörgüçlü develerin sütlerinin bileşimleri [14]

Bileşen	Çift Hörgüçlü	Tek Hörgüçlü
Su (%)	85.32	86.50-90.15
Kuru Madde (%)	14.68	9.85-13.50
Yağ (%)	5.50	2.60-4.47
Laktoz (%)	2.8-5.2	2.80-5.80
Protein (%)	3.87	3.50-3.89
Kazein (%)	0.89	2.90-3.02
Kül (%)	0.97	0.70-0.85
Kalsiyum (%)	0.11	0.13
Fosfor (%)	0.09	0.07
Vitamin A ($\mu\text{g/mL}$)	7.57	-
Vitamin B2 ($\mu\text{g/mL}$)	3.10	-
Vitamin C (mg/mL)	7.50	4.6

Deve sütünde methionin, valin, fenilalanin, arginin ve lösin aminoasitlerinin miktarı inek sütüne göre daha fazladır [15]. Laktasyonun ilerleyen dönemlerinde ise deve sütünün kül, yağ ve toplam kuru madde miktarı bir miktar yükselmektedir. Deve sütünün su oranının yüksek olması çöl iklimi için bir avantaj olarak değerlendirilmekte, su ihtiyacı olan develerin yağ miktarlarında da bazı artışlar görüldüğü araştırmacılar tarafından bildirilmektedir [1, 16]. Deve sütlerinde laktoz oranının laktasyonun dönemine göre %2.8 ile %5.8 arasında değişiklik göstermesi, sütün bazen tatlı bazen

yavan ve tuzlu hissedilmesine neden olmaktadır. Deve sütünün yüksek kül miktarı, sütün mineral madde oranının yüksekliğinden kaynaklanmaktadır. Hindistan'daki develer ile yapılan bir çalışmada, laktasyonun ilk döneminde deve sütünün Na, K, Ca, P ve Mg düzeyleri sırası ile 29.70 ± 0.53 mEq/L, 50.74 ± 0.51 mEq/L, 94.06 ± 0.75 mg/L, 41.68 ± 0.55 mg/L ve 11.82 ± 0.22 mg/L olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada A, E ve B₁ vitaminleri sırası ile 20.1 ± 10.0 $\mu\text{g/L}$, 32.7 ± 12.8 $\mu\text{g/L}$ ve 19.6 ± 6.4 mg/L olarak belirlenmiştir [17]. Bir başka çalışmada yine Hindistan'daki develerin

Fe, Zn ve Cu oranları sırası ile 1.00 ± 0.12 , 2.00 ± 0.02 , 0.44 ± 0.04 mg/L olarak tespit edilmiştir [2].

Deve sütünün C vitamini konsantrasyonunun inek sütüne göre daha yüksek olması düşük pH'ya sahip olmasına neden olmaktadır. Bu özellik ayrıca, deve sütünün antioksidan gücünün inek sütüne göre daha yüksek olmasına yol açmaktadır. Deve sütünün Reichert Meissl sayısı 16.4 olup, yağ asitlerinin %62.6'sı doymuş yağ asidi olarak belirlenmiştir. Bileşimindeki bütirik, kaproik, kaprilik, kaprik, laurik, miristik, miristoleik, palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik ve araşidik yağ asitleri oranı sırası ile 0.31-0.75, 0.2-0.6, 0.2-0.3, 0.2-0.4, 1-1.8, 15.9-25.2, 1.7-4.5, 25-29.5, 6.1-19.1, 1.9-11.7, 6.8-24.9, 0.9-2.0 ve 0.6-3.4 olarak saptanmıştır [18].

Deve sütü ve anne sütünü karşılaştırıldığı bir çalışmada, deve sütünün kısa zincirli yağ asidinin (C_4 - C_{12}) anne sütüne göre daha zengin olduğunu, ayrıca ($C_{14:0}$, $C_{16:1}$ ve $C_{18:0}$) konsantrasyonunun da anne sütünden yüksek olduğunu bildirilmiştir. Deve sütünün serbest yağ asitlerince zengin olması nedeni ile besleyici ve terapötik özelliklerinin iyi olduğunu belirtilmiştir [14]. Bunun yanı sıra, koruyucu proteinler de deve sütünde bol miktarda bulunmaktadır. Deve sütünde lizozim, laktoferrin, laktoperoksidaz enzim miktarları sırası ile 0.03-0.65 mg/L, 95-250 mg/L, 2.2-30.1 u/mL olarak belirlenmiştir [18, 19].

DİYABET

En sık görülen metabolik bozukluklardan biri olan "Diyabetes Mellitus" insülinin salınımında, etkisinde ya da hem salınımında hem etkisindeki bozukluk sonucu meydana gelen hiperglisemi ile karakterize bir grup hastalıktır. Dünyada 2013 istatistiklerine göre 382 milyon kişinin diyabetik olduğu, 2035 yılında bu sayının 592 milyona yükseleceği bildirilmiştir. Diyabet için sağlık harcamasının 2013 yılında 548 milyar dolar olduğu bu rakamında tüm sağlık giderlerinin %11'i ne karşılık geldiği görülmektedir [20].

Etyolojiye göre, Tip 1 ve Tip 2 Diyabet olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır (Şekil1). Tip 1 Diyabet insülin salınımında yetersizlik ve eksiklik sonucu oluşurken, Tip 2 Diyabet'te artmış insülin direnci ve buna insülin salınımında yeterli artışın eşlik edememesi söz konusudur. Tip 1 Diyabet ani gelişen bir klinik tablo ve ketoasidoza eğilim ile karşımıza gelirken, Tip 2 Diyabet'te genellikle klinik bulguların görülmesinden uzun süre önce hiperglisemi görülmektedir. American Diabetes Association (ADA)'un tanımlamasına göre diyabetin tanı kriterlerini şu bulgular oluşturur:

1. Klinik bulgular (poliuri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik) ile birlikte günün herhangi bir saatinde alınan kan şekeri düzeyinin 200 mg/dL ve üzerinde olması ya da açlık kan şekerinin (en az 8 saatlik açlıktan sonra) 126 mg/dL ve üzerinde olması,
2. OGTT sırasında 2. saatteki kan şekerinin 200 mg/dL ve üzerinde olması.

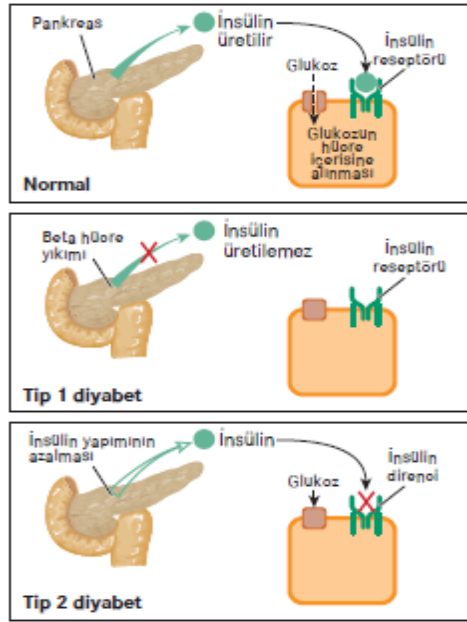
Diyabet tanısı alan bireylerde etkin bir tedavi için diyabetin tiplendirilmesi gerekmektedir. Diyabetin etyolojik sınıflaması tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, diğer spesifik tipler ve gestasyonel diyabet olmak üzere 4 ana grup altında yapılmaktadır [21].

Tip 1 Diyabet beta hücre hasarı sonucu oluşur ve insülin eksikliği ile gider. Tip1 Diyabetli olguların çoğunluğu otoimmün olup, spesifik HLA antijenleri ile ilişkilidir (Tip1A). Bazı olgularda (%10 kadarında) ise otoimmünite bulguları saptanamamaktadır. Bunlar da idiyopatik ya da atipik (Tip1B) olarak isimlendirilmektedir. Tip 2 diyabet insülin eksikliğinin hafif, insülin direncinin ön planda olduğu formdan, insülin salınımında relatif yetersizliğin ön plana geçtiği formlar arasında dağılım gösteren bir durumdur.

Tip 1 diyabette (insüline bağımlı diyabet), pankreas tarafından üretilen insülin adı verilen hormonun çok az üretildiği veya hiç üretilmediği durumlarda kandaki şekerin enerjiye dönüşmek üzere hücre içine girmesi mümkün olamamakta ve kandaki glikoz seviyesi yükselmektedir. İnsülinin yeterince üretilmesine rağmen vücudun farklı dokularında direnç gördüğü ve toplumda daha sık görülen bir diğer diyabet formu ise Tip 2 diyabettir. Dünya genelinde en sık görülen diyabet formu tüm diyabetli hastaların yaklaşık %90'ını oluşturan Tip 2 diyabettir [22].

Tip 2 diyabet, ailede genetik yatkınlık arttıkça sonraki nesillerde görülme riskinin de arttığı, genellikle 30 yaş sonrası ortaya çıkan ve başlangıçta hiç bir semptom dahi göstermeyebilen bir hastalıktır. Bazı bireylerde ise, iyileşmeyen yaralar, bulanık görme, el ve ayaklarda uyuşma veya karıncalanma gibi belirtiler görülebilmektedir (Tablo 2).

Doymuş yağdan zengin beslenme, obezite ve hareketsiz yaşamın Tip 2 diyabet ile yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir. Hastalığın kendini ortaya çıkarma şekli ise genel olarak hiperglisemi ile karakterize olmuştur [23]. Tip 2 diyabet tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar özellikle insülin salgılama yeteneği henüz tükenmemiş diyabetli hastalarda tercih edilse de, diyabet üzerine yapılan çalışmalarda varılan ortak noktanın fiziksel aktivite ve beslenme şeklinin düzenlenmesi olduğu dikkati çekmektedir.



Şekil 1. Diyabetli ve normal bireyde insülin mekanizması [22]

DEVE SÜTÜNÜN BESLENMEDE ÖNEMİ ve DİYABET

Deve sütünün düşük yağ içeriği, yüksek C vitamini ve protein düzeyi, çoklu doymuş yağ asitlerinin zenginliğinin yanı sıra selenyum ve laktoferrin içermesi, sütün genotoksik, antisitotoksik ve antigenotoksik özelliğini arttırmaktadır [25]. Ayrıca deve sütü düşük kolesterol, yüksek sodyum, potasyum, demir, bakır, çinko, magnezyum, Vitamin A, B₂, C ve E içeriği ile diğer ruminant sütlerinden farklılık göstermektedir [26-31].

Alerjik özelliğinin az olması, laktoz oranının düşüklüğü laktoz intolerans bireyler için avantaj olarak kabul edilmektedir. Deve sütünün çinko içeriğinin genotoksik etkilere karşı koruyucu rol üstlendiği düşünülmekte, metabolik ve otoimmün hastalıklar karşısında başarı ile kullanılabileceği konusunda öngörüler yapılmaktadır. Ayrıca yapılan çeşitli araştırmalarda, deve sütünün bazı tıbbi özellikler gösterdiği de belirlenmiştir. Bu özelliklerinden birisi de deve sütündeki insülin miktarının diyabet hastalarında insülin kullanımını azaltılmasını destekleyici yönde etki gösterdiği.

Tablo 2. Tip 1 ve Tip 2 diyabetin ayırıcı tanısı [24]

Klinik özellikler	Tip 1 diyabet	Tip 2 diyabet
Başlangıç yaşı	Genellikle ≤ 30 yaş	Genellikle ≥ 30 yaş
Başlangıç şekli	Genellikle akut, semptomatik	Yavaş, çoğunlukla asemptomatik
Ketozis	Sıklıkla var	Sıklıkla yok
Başlangıç kilosu	Genellikle zayıf	Genellikle obez
Ailede diyabet yükü	Yok veya belirgin değil	Yoğun
C-peptid	Düşük	Normal/Yüksek/Düşük
Otoantikör (ICA, antiGAD, IA2Ab, IAA)	Genellikle pozitif	Negatif
Otoimmün hastalık birlikteliği	Var	Yok

Şekil 2'de görüldüğü gibi, farklı bileşime sahip sütlerin insülin miktarını belirlemek amacıyla yapılan ilk çalışmalarda deve sütünün insülin miktarının inek, koyun, keçi sütlerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu durumun diyabetik hastalarda tedavi edici etkisi üzerine çalışmalara başlanmıştır [32].

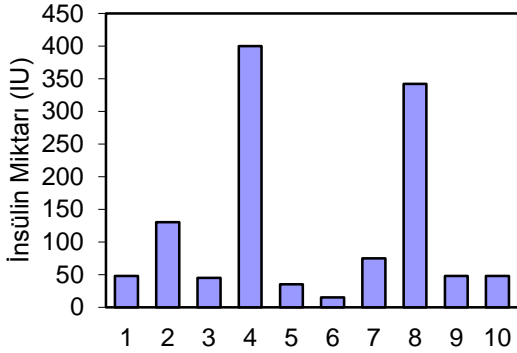
Son dönemlerde yapılan çalışmalar farklı bileşime sahip deve sütü tüketiminin diyabetli hastalarda kullanımının olumlu etkileri üzerine yoğunlaşmaktadır. Bileşimindeki yüksek insülin miktarı ile deve sütü, inek ve manda sütüne oranla diyabetli hastalarda kandaki glikoz miktarını düşürücü yönde gösterdiği etki ile öne çıkmaktadır [33].

Tip 1 diyabet üzerine deve sütü tüketiminin etkisinin incelendiği çalışmada, deve sütü tüketiminin arkasında

yatan etkinin henüz bilinmemesine rağmen diyabetli hastalarda günlük insülin ihtiyacını azalttığı rapor edilmiştir [34]. Diyabetli köpeklerde yapılan bir başka çalışmada ise, deney hayvanlarında 5 hafta boyunca günlük 500 mL süt tüketiminin diyabet üzerine etkisi incelenmiştir. İki ayrı grupta yürütülen çalışmada 1. gruba deve sütü, 2. gruba inek sütü ve kontrol grubu sağlıklı hayvanlara deve sütü verilerek 5 hafta boyunca kan şekeri, kolesterol ve protein değerlerindeki değişim izlenmiştir. Deve sütü verilen hayvanlarda kanda glikoz değerinin 5 hafta süresince azalma gösterdiği, inek sütü ile beslenen hayvanlarda kanda glikoz değerinin ise neredeyse sabit kaldığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada inek sütü ile beslenen köpeklere 2. aşamada 4 hafta boyunca deve sütü verilmiş ve kandaki glikoz değerlerinin 9.83 mmol/L'den 7.83 mmol/L'ye düştüğü tespit edilmiştir [35].

Bir diğer çalışmada ise 150 ppm alloxan enjekte edilen deney farelerinde Tip 1 diyabete 4 hafta boyunca 40 mL/gün deve sütü ve bal tüketiminin etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, deve sütünün hem yalnız hem de bal ile birlikte tüketiminin

hiperglisemiyi önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Deve sütü tüketimi kandaki glikoz seviyesini 217.69 nmol/ μ L'den 126.8 nmol/ μ L'ye düşürürken, deve sütü ve balın birlikte tüketildiği deney hayvanlarında bu değer 115.90 nmol/ μ L olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$) [36].



Şekil 2. Farklı sütlere ait insülin konsantrasyonları [32]

Diyabetli deney hayvanlarında karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına deve sütünün yararlı etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bileşimindeki insülin miktarı sırası ile 58.67, 17.01 ve 16.21 U/L belirlenen deve, inek ve manda sütü kullanılmıştır. 6 hafta boyunca beslenmede kullanılan tüm süt çeşitlerinin kandaki glikoz miktarını düşürücü yönde etki gösterdiği ifade edilirken en yüksek hiperglisemik etkinin deve sütü tüketen deney hayvanlarında görüldüğü bildirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalara paralel olarak kontrol grubu olan diyabetli farelerde kandaki glikoz miktarı haftalara göre dalgalanma göstermesine rağmen deve, inek ve manda sütü tüketiminin kandaki glikoz seviyelerini sırası ile %30.82, 12 ve 10.15 oranlarında düşürdüğü rapor edilmiştir [37]. Diyabetli deney hayvanlarında yapılan çalışma sonuçları deve sütü tüketiminin diğer süt çeşitlerine oranla daha yüksek oranda insülin içerdiğini ve bu sayede kandaki glikoz miktarını düşürücü etkisi ile öne çıktığını destekler niteliktedir.

Tip 1 diyabetli bireylerde 3 ay boyunca 500 mL/gün deve sütü tüketiminin günlük yaşam kalitesine etkisi incelenmiştir. Çalışmada 1. ay tüm bireylere diyet, egzersiz ve insülin tedavisi uygulanmıştır. İlk ayın sonunda 12 kişiden oluşan 1. grup bireyler diyet, egzersiz ve insülin tedavisi alırken, 12 kişilik 2. gruba 500 mL deve sütü verilmiştir. Deve sütü tüketen grupta bireylerin alması gereken insülin dozunda önemli miktarda azalma olduğu ve söz konusu azalmanın istatistiksel olarak önemli ($p < 0.002$) olduğu vurgulanmıştır. Söz konusu bu değerler deve sütü tüketiminin insülin tedavisinde önemli bir alternatif ajan olarak kullanımının uygun olacağını göstermektedir [38].

Benzer bir başka çalışmada, deve sütü tüketiminin uzun süreli etkinlik derecesi ve insülin tedavisinde güvenilir ek bir ajan olarak kullanımına yönelik araştırma yapılmıştır. Araştırma ortalama kan şekeri seviyesinin 119 ± 19 mg/dL'den 95.42 ± 15.70 mg/dL'ye düştüğünü ve gerekli insülin dozunun önemli ölçüde ($p < 0.05$) azaldığını ortaya koymuştur [3].

Diyabetli hayvanlarda çiğ, pastörize ve kaynamış deve sütü tüketiminin antidiyabetik etkisinin araştırıldığı

- 1 = Kolostrum anne sütü
- 2 = Kolostrum deve sütü
- 3 = Deve sütü
- 4 = Kolostrum inek sütü
- 5 = İnek sütü
- 6 = UHT süt
- 7 = Kolostrum keçi sütü
- 8 = Kolostrum koyun sütü
- 9 = Koyun sütü
- 10 = Deve sütü dondurma

çalışmada, deve sütüne uygulanan sıcaklığın etkisi de irdelenmiştir. Diyabetli hayvanlardan oluşturulan 1. grup 250 mL/gün çiğ deve sütü, 2. grup ise 250 mL/gün çiğ inek sütü tüketmiştir. 1. ve 2. gruba kontrol olarak 3. grupta bulunan sağlıklı hayvanlara çiğ deve sütü verilmiştir. Çalışmada 4. ve 5. grup olarak ise diyabetli hayvanlara günlük 250 mL pastörize ve kaynamış deve sütü verilerek sıcaklık uygulamasının deve sütü tüketimindeki önemi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar deve sütüne sıcaklık uygulamasının pastörizasyon normlarında antidiyabetik özelliği etkilemezken, kaynatma işlemi ile beklenen antidiyabetik etkinin azaldığını göstermektedir. Farklı gruplar değerlendirildiğinde çiğ ve pastörize süt tüketimine ait veriler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunmadığı görülmüştür ($p < 0.05$) [39].

Bir başka çalışmada, deve sütü tüketiminin Tip 2 diyabet üzerine etkisi incelenmiştir. 10 kişilik hasta grubuna kontrol grubu temsil etmesi amacıyla günlük 500 mL inek sütü verilirken, 11 kişiden oluşan gruba günlük 500 mL deve sütü verilmiştir. 2 ay boyunca sabah ve öğlen 250'şer mL süt tüketiminin hasta bireylerde kan şekeri, yağ profili ve kan basıncı değerleri ölçülerek elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Çalışmada, 2 aylık periyod sonunda yapılan ölçümlerde deve sütü tüketen bireylerdeki insülin miktarı artışının inek sütü tüketen bireylere göre daha fazla olduğu ve söz konusu artışın istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemli bulunduğu vurgulanmıştır [40].

Deve sütü bileşimi ve diyabet üzerine yapılan benzer birçok çalışmada, deve sütünün antidiyabetik özelliği vurgulanarak bileşimindeki insülin ve insülin benzeri proteinler ile deve sütünün önemi ortaya konulmuştur [41, 42].

Deve sütü bileşiminde bulunan insülin diğer sülterde bulunan insülin ile yapısal olarak farklılık gösterdiğinden dolayı, deve sütünde bulunan insülinin bazı biyoinformatik araçlar aracılığı ile diyabet üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı türlere ait sülterin protein yapılarının modellendiği çalışmada, deve sütünün mikro boyutta insülin benzeri maddeler içerdiği ve söz konusu

moleküllerin proteaz önleyici özellikte olduğu bildirilmiştir [43].

Deve sütü ile tedavinin diyabetik hayvanlardaki glikoz homeostatik mekanizması ve hormonlar üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, 8 haftalık bir deve sütü tedavisi uygulanmıştır. Deney hayvanlarına günde 40 mg/kg sterptozotokinin 4 doz uygulanmıştır. Çalışmada, glukagon benzeri peptid (GLP-1), glikoz bağımlı insülinotropik peptid (GIP), glukoz toleransı, açlık ve glukoz uyarımlı insülin sekresyonu, insülin direnci (IR), lipid profili değerleri araştırılmıştır. Tedavi edilmeyen diyabetik hayvanlarda özellikle hiperglisemi, hiperlipidemi ve aşırı kilo kaybı artış gösterirken, deve sütü ile tedavi edilen diyabetik hayvanlarda açlık kan şekeri seviyesi ve hipolipidemi azalmıştır. Bunun yanı sıra, deve sütü tedavisinin insülin sekresyonunun düzelmesi ve kontrollü kilo alımına yardımcı olduğu bildirilmiştir [44].

Diyabetik bireylerde oluşan yaraların daha uzun sürede iyileştiği ve gecikmeli kapandığı bilinmektedir. Bunun en önemli sebebi olarak yara içerisinde çoğalan bakteriler işaret edilmektedir. Son dönemlerde yapılan çalışmalar peynir altı suyu proteinleri gibi bazı süt proteinlerinin yaralı doku hücrelerinde bağışıklık yanıtını artırarak ve bazı diyabetik komplikasyonları hafifleterek diyabetli bireylerde yara iyileşmelerini hızlandırdığı ortaya koymaktadır. Deve sütünün de bileşimindeki serum albümin, α -laktalbümin, immünooglobülin, laktoforin ve peptidoglikan tanıma proteini gibi çeşitli protein grupları ile teröpatik etki gösterdiği çalışmalarca bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, deve sütü proteinleri ile tedavi edilen diyabetli hayvanlarında 1 aylık süreçte yara boyutunda önemli ölçüde azalma olduğu rapor edilmiştir. Artan kollajen seviyesinin rejenera dokularda güçlenmeye yardımcı olduğu düşünüldüğünde, kollajen yapının ana bileşeni olan hidroksiprolinin önemi ve deve sütünün diyabetli hastalarda yara iyileşmesine katkısı dikkati çekmektedir [45].

SONUÇ

Deve sütü, bileşimindeki insülin miktarının diğer sültere oranla yüksek olduğunun belirlenmesinin ardından, diyabet hastalarında bu sülterin tüketimi araştırmacılar tarafından incelenmeye başlamıştır. Diyabet tedavisinde oral yolla alınan ilaçların yanı sıra en etkili faktörler diyetin düzenlenmesi ve egzersiz olarak ifade edilmektedir. Bunun yanı sıra, günlük diyetle birlikte tüketilen deve sütünün, kandaki glikoz miktarını düşürücü yönde etki gösterdiği, hiperglisemik bu etkinin diğer memelilerin sülterine oranla çok daha yüksek oranlara ulaştığı görülmektedir. Diğer sülterden zengin bileşimi ile öne çıkan deve sütü, dondurma, fermente süt ürünleri gibi farklı ürünlere işlenebilir ve antidiyabetik yönüyle de tüketiciyle buluşmayı bekleyen bir süt çeşidi olarak karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] Yagil, R., 1982. Camels and camel milk. FAO Animal production and health paper, Rome, Italy, pp. 69.

- [2] Singh, R., Ghorui, S.K., Sahani, M.S., 2006. Camel milk: Properties and processing potential. In: Sahani, M.S. The Indian camel. NRCC, Bikaner. pp. 59-73.
- [3] Agrawal, R.P., Beniwal, R., Sharma, S., Kochar, D.K., Tuteja, F.C., Ghorui, S.K., Sahani, M.S., 2005. Effect of camel milk in type 1 diabetic patients: 1 year randomized study. *Journal of Camel Practice and Research*. 12(1): 27-35.
- [4] Magjeed, N.A., 2005. Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats in toxicated with aflatoxin B1. *Journal of the Saudi Chemicals Society* 9(2): 253-263.
- [5] Shabo, Y., Yagil, R., 2005. Etiology of Othism and Camel Milk as Theraphy. *International Journal on Disability and Human Development* 4(2): 76-70.
- [6] Karray, N., Lopez, C., Ollivon, M., Attia, H., 2005. La matie re grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme. *OCL* 12: 439-446.
- [7] Abdelgadir, W., Nielsen, D.S., Hamad, S., Jakobsen, M., 2008. A traditional Sudanese fermented camel's milk product, Gariss, as a habitat of *Streptococcus infantarius* subsp. *Infantarius*. *International Journal of Food Microbiology* 127: 215-219.
- [8] Abd El-Salam, M.H., El-Shibiny, S., 2013. Bioactive peptides of buffalo, camel, goat, sheep, mare, and yak milks and milk products. *Food Reviews International* 29(1): 1-23.
- [9] Al-Moussawi, N.H.H., 2012. Effect of camel's milk on hematological and biochemical parameters of male rats treated with zinc chloride. *Journal of Thi-Qar Science* 3(3): 13-20.
- [10] Patel, A.S., Patel, S.J., Patel, N.R., Chaudhary, G.V., 2016. Importance of camel milk - An alternative dairy food. *Journal of Livestock Science* 7: 19-25.
- [11] Yagil, R., 2000. Lactation in the desert camel (*Camelus dromedaries*) In: Gahlot, T.K. (ed.) Selected topics in camelids. The Camelid Publishers, Bikaner. pp. 61-73.
- [12] Mal, G., Suchitra Sena, D., Sahani, M.S., 2006. Milk production potential and keeping quality of camel milk. *Journal of Camel Practice and Research* 13(2): 175-178.
- [13] Mal, G., Suchitra Sena, D., Sahani, M.S., 2007. Changes in chemical and macro-minerals content of dromedary milk during lactation. *Journal of Camel Practice and Research* 14(2): 195-197.
- [14] Shamsia, S.M., 2009. Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. *International Journal of Genetics and Molecular Biology* 1(2): 52-58.
- [15] Hoeller, H., Hassan, Y.M., 1965. The amino acid composition of camel milk casein. *Sudan Journal of Veterinary Science* 6: 60-63.
- [16] Yagil, R., Etzion, Z., 1980. The effect of drought conditions on the quality of camels' milk. *Journal of Dairy Research* 47: 159-166.
- [17] Gorakh, M., Pathak, K.M.L., 2010. Camel Milk and Milk Products. National Research Centre on Camel, Bikaner. P.B. No.07.

- [18] Al-Numair, K.S., 2010. Type II diabetic rats and hypolipidemic effect of camel milk. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8(2): 77-81.
- [19] Wernery, U., 2007. Camel milk –new observations. In T.K. Gahlot. Proceedings of the International Camel Conference, CVAS, Bikaner. pp. 200-204.
- [20] Anonim, 2016. International Diabetes Federation. <http://www.idf.org/> Erişim Tarihi: 22.01.2016.
- [21] American Diabetes Association, 2004. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 27: 5-10.
- [22] TEMD(Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği). 2011. Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu Hasta Eğitim Kitapçıkları Serisi 3, Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, İstanbul.
- [23] TDV (Türkiye Diyabet Vakfı). 2013. Diyabet Tanı ve Tedavi Yöntemi, İstanbul.
- [24] TEMD. 2013. Diabet Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu, Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Ankara.
- [25] Gorban, A.M., Izzeldin, O.M., 2001. Fatty acids and lipids of camel milk and colostrum. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52: 283-287.
- [26] Goeptar, A.R., Koeman, J.H., Van Boekel, M.A., Alink, G.M., 1997. Impact of digestion on the antimutagenic activity of the milk protein casein. *Nutrition Research* 17: 1363–1379.
- [27] Hassan, N.H., Fahmy, M.A., Farghaly, A.A., Hassan, E.E., 2006. Anti-mutagenic effect of selenium and vitamins against the genotoxicity by cobalt chloride in mice. *Cytologia* 71: 213–222.
- [28] Hurna, E., Hurna, S., 2000. Protective effect of zinc on cadmium induced micronuclei in V79 cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 14: 55–57.
- [29] Knoess, K.H., 1979. Milk production of the dromedary. Proceeding of the IFS Symposium Camels, Sudan, pp: 201-214.
- [30] Konuspayeva, G., Serikbayeva, A., Loiseau, G., Narmuratova, M., Faye, B., 2004. In: Bernard, Faye, Palmated, Esenov (Eds.), Desertification Combat and Food Safety: The Added Value of Camel Producers. IOS Press, Amsterdam, Ashgabad, Turkmenistan, pp. 158–167.
- [31] Salwa, M.Q., Kurdi Lina, A.F., (2010). Antigenotoxic and anticytotoxic effect of camel milk in mice treated with cisplatin. *Saudi Journal of Biological Sciences* 17: 159–166.
- [32] Zagorski, O., Maman, A., Yafee, A., Meisles, A., Creveld, C.V., Yagil, R., 1998. Insulin in milk- A comparative study. *International Journal of Animal Science*. 13: 241-244.
- [33] Yagil, R., 2004. Camel Milk and Autoimmune Diseases: *Historical Medicine* 2-13.
- [34] Agrawal, R.P., Dogra, R., Mohta, N., Tiwari, R., Singhal, S., 2009. Beneficial effect of camel milk in diabetic nephropathy. *Actabiomedica* 80: 131-134.
- [35] Sboui, A., Djegham, M., Khorchani, T., Hammadi, M., Barhoumi, K. and Belhadj, O., 2010. Effect of camel milk on blood glucose, cholesterol and total proteins variations in alloxan-induced diabetic dogs. *International Journal of Diabetes and Metabolism* 18: 5-11.
- [36] Hassan, A.I., Bayoumi, M.M., 2010. Efficiency of camel milk and honey bee in alleviation of diabetes in rats. *Nature and Science*. 8(10): 333-341.
- [37] Hamad, E.M., Abdel-Rahim, E.A., Romeih, E.A., 2011. Beneficial effect of camel milk on liver and kidneys function in diabetic sprague-dawley rats. *International Journal of Dairy Science* 6(3): 190-197.
- [38] Agrawal, P.P., Swami, S.C., Beniwal, R., Kochar, D.D., Sahani, M.S., Tujeta, F.C., Ghouri, S.K., 2003. Effect of camel milk on glycemic control, lipid profile and diabetes quality of life in type 1 diabetes: A randomised prospective controlled cross over study. *Indian Journal of Animal Science*. 73(10): 1105-1110.
- [39] Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., Agrebi, A., Dalleli, A., Belhadj, O., 2012. Camel milk as adjuvant to treat alloxan diabetes: effect of heat treatment on this property. *Journal of Diabetes and Metabolism* 3-4, DOI: 10.4172/2155-6156.1000190.
- [40] Ejtahed, H.S., Naslaji, A.N., Mirmiran, P., Yeganeh, M.Z., Hedayati, M., Azizi, F., Movahedi, A.M., 2015. Effect of camel milk on blood sugar and lipid profile of patients with type 2 diabetes: a pilot clinical trial. *International Journal of Endocrinology and Metabolism* 13(1): e21160.
- [41] Wang, S.Y., Liang, J.P., Song, N.N., Heng, H., 2009. Effect of raw camel milk in type 2 diabetes animal models and patients: ten months randomised study. *Journal of Camel Practice and Research* 16(1): 107-113.
- [42] Agrawal, R.P., Jain, S., Shah, S., Chopra, A., Aqarwal, V., 2011. Effect of camel milk on glycemic control and insulin requirement in patients with type 1 diabetes: 2-years randomized controlled trial. *European Journal of Clinical Nutrition* 65(9): 1048-1052.
- [43] Malik, A., Al-Senaidy, A., Jankun, E.S., Jankun, J., 2012. A study of the anti-diabetic agents of camel milk. *International Journal of Molecular Medicine* 30: 585-592.
- [44] Korish, A.A., 2014. The antidiabetic action of camel milk in experimental type 2 diabetes mellitus: an overview on the changes in incretin hormones, insulin resistance, and inflammatory cytokines. *Hormone and Metabolic Research* 46(6): 404-411.
- [45] Shori, A.B., 2015. Camel milk as a potential therapy for controlling diabetes and its complications: A review of in vivo studies. *Journal of Food and Drug Analysis* 23(4): 609-618.

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

Akademik Gıda dergisi gıda bilimi ve teknoloji alanlarında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı **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 editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği 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 ilgili 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 (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

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

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

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin 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 yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

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

Kitap

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

Kitap Bölümü

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

Kongre-Sempozyum Bildirisi

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

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak 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.

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 Gıda* 9(2): 6-12.

Book

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

Book Chapter

- [3] Gibson, 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.

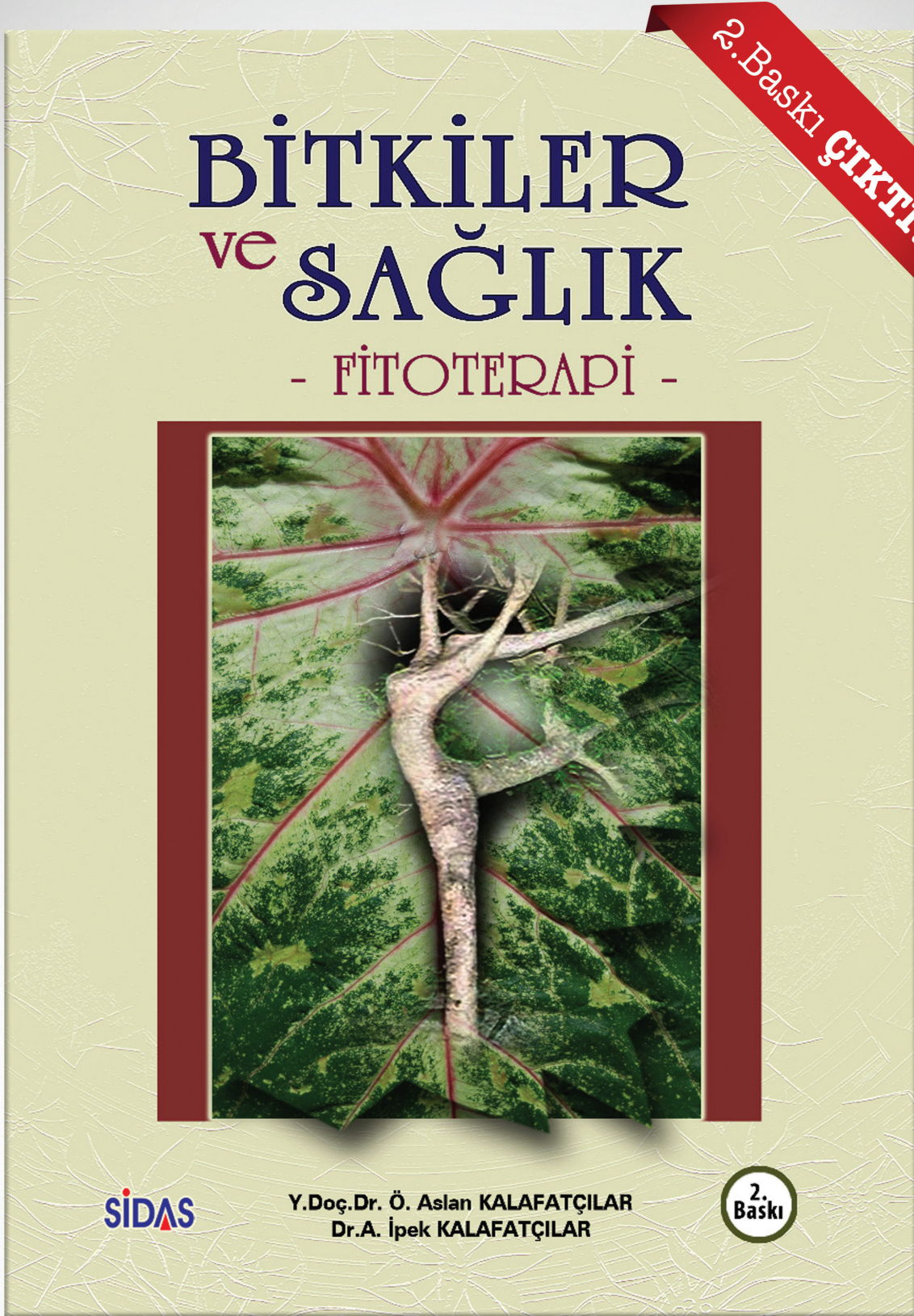
Proceedings of the Congress-Symposium

- [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.

www.gidakitaplari.com



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

Sektörel Yayıncılıkta Çağdaş Yaklaşım...



SIDAS MEDYA

Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi No:162/302 Çankaya - İZMİR

Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06

www.foodsektor.com

info@foodsektor.com