

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 43

SAYI / NUMBER : 3

YIL / YEAR : 2018

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

**Editörler / Editors**

ÇAKIR, İbrahim; *Abant İzzet Baysal University, Turkey*  
ERİNÇ, Hakan; *Ömer Halisdemir University, Turkey*  
HALKMAN, A. Kadir; *Ankara University, Turkey*  
ÖZDEN, Özkan; *Istanbul University, Turkey*  
TABAN, Birce; *Ankara University, Turkey*

**Yönetim Yeri**

**Adres / Address**

Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey

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

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

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

**Yayın Türü:** Yaygın süreli ve hakemli

**Hazırlayan / Prepared**

Onay Ofset Matbaacılık  
G.M.K. Bulvarı No: 108/1  
Maltepe / Ankara Turkey  
Tel : (+90) 312 230 22 09  
e-mail: onayofset@gmail.com

**Yayın Tarihi / Publication Date**

15 06 2018

**Danışma Kurulu / Advisory Board**

Alichanidis, Efstathios *Aristotle University of Thessaloniki, Greece*  
Artık, Nevzat *Ankara University, Turkey*  
Baysal, Taner *Ege University, Turkey*  
Boyacı, İsmail Hakkı *Hacettepe University, Turkey*  
Certel, Muharrem *Akdeniz University, Turkey*  
Draughon, Ann *Tennessee University, USA*  
Ekşi, Aziz *Ankara University, Turkey*  
El Soda, Morsi *University of Alexandria, Egypt*  
Fogliano, Vincenzo *University of Napoli Federico II, Italy*  
Ghosh, Bikash C. *National Dairy Research Institute, India*  
Gollop, Natan *The Volcani Center, ARO, Israel*  
Gökmen, Vural *Hacettepe University, Turkey*  
Griffiths, Mansel *University of Guelph, Canada*  
Göğüş, Fahrettin *Gaziantep University, Turkey*  
Gümüşkesen, Aytaç Saygın *Ege University, Turkey*  
Güven, Mehmet *Cukurova University, Turkey*  
Heperkan, Dilek *Istanbul Technical University, Turkey*  
Ho, Chi-Tang *The State University of New Jersey, USA*  
Kaya, Mükerrerem *Atatürk University, Turkey*  
Kaymak-Ertekin, Figen *Ege University, Turkey*  
Koçak, Celalettin *Ankara University, Turkey*  
Köksel, Hamit *Hacettepe University, Turkey*  
Morales, Francisco J. *CSIC Instituto del Fr o, Spain*  
Mujtaba, Mustafa G. *Florida Gulf Coast University, USA*  
Özilgen, Mustafa *Yeditepe University, Turkey*  
Paalme, Toomas *Tallinn University of Technology, Estonia*  
Parlar, Harun *Technical University of Munich, Germany*  
Raspor, Peter *University of Primorska, Slovenia*  
Rezessy-Szabo, Judit M. *Corvinus University of Budapest, Hungary*  
Şahin, Serpil *Middle East Technical University, Turkey*  
Şanlıbaba, Pınar *Ankara University, Turkey*  
Üstünoğlu, Zeynep *Michigan State University, USA*  
Yetişemiyen, Atila *Ankara University, Turkey*

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Tekgul, Y., Kok, F. *Screening of tetracycline and florfenicol antibiotic residues in broiler meat using ELISA and confirmation by liquid chromatography/tandem mass spectrometry* / Broiler etlerindeki tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntılarının ELISA ile görüntülenmesi ve sıvı kromatografisi kütle/ kütle spektrometresi ile doğrulanması . . . . . **403-412**

Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Konar, N., Genç Polat, D. *βv seeding as an alternative pre-crystallization technique in synbiotic milk chocolate production* / βv tohumlama tekniğinin alternatif pre-kristalizasyon yöntemi olarak sinbiyotik sütlü çikolata üretiminde kullanımı . . . . . **422-431**

Azarabadi, N., Özdemir, F. *Determination of crocin content and volatile components in different qualities of Iranian saffron* / Farklı kalitedeki İran safranların krosin içeriği ve uçucu bileşenlerinin belirlenmesi . . . . **476-489**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B. Okut, D., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri ile ön işlem uygulamalarının mandalina ve çilekte kalite özellikleri üzerine etkileri / *Effects of different freezing and thawing methods including pretreatments on quality attributes of mandarin and strawberry* . . . . . **370-383**

Pelvan, E., Demirtaş, İ. Türkiye’de yetişen bittim (*Pistacia terebinthus* L.) ve fıstık (*Pistacia vera*) yağlarının yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi / *Determination of fatty acid, sterol, tocol compositions, total phenolic contents and antioxidant activities of turpentine (Pistacia terebinthus L.) and pistachio (Pistacia vera) oils grown in Turkey* . . . . . **384-392**

Arslan Tontul, S., Mutlu, C., Koç, A., Erbaş, M. Çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonunun optimizasyonu / *Optimization of ultrasound assisted oil extraction from chia seeds* . . . . . **393-402**

Özge Dinç, S., Özbey, A., Erinç, Ö. İnülin ve maltodekstrin ilavesinin kefirlerin konjüge linoleik asit içeriği üzerine etkisi / *Effect of inulin and maltodextrin addition on conjugated linoleic acid content of kefir* . . . . . **413-421**

Mutlu, C., Erbaş, M. Vakum kurutma yöntemi kullanılarak üretilen sade ve meyveli bal tozlarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi / *Determination of some physical, chemical and sensory properties of plain and fruity honey powders produced with vacuum drying method* . . . . . **432-445**

Dirim, S. N., Talih, M. Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi / *The effects of drying agents on properties of freeze dried cherry laurel powders* . . . . . **461-475**

Şanlı, E., Gürsel, A., Şanlı, T., Yıldız, F., Benli, M. Az yağlı Kaşar peyniri üretiminde ekzopolisakkarit üreten kültür kullanımı üzerine bir araştırma / *A study on using exopolysaccharide-producing culture in low fat Kasar cheese* . . . . . **490-500**

Demirel, H., Demir, M. K. Farklı turuncgillerden elde edilen albedoların bisküvi üretiminde kullanımı / *Using albedos obtained from different citrus in cookie production* . . . . . **501-511**

Uçak, İ. Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi / *Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract* . . . . . **523-532**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Yurt, M., Gezer, C. Chia tohumunun (*Salvia hispanica*) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri / *The functional properties of chia (Salvia hispanica) seeds and their effects on health* . . . . . **446-460**

Yıldırım, A., Duran, M., Koç, M. Su aktivitesinin ve farklı kurutma sistemlerinin biyoaktif bileşenlerin stabilitesi üzerine etkisi / *The effect of water activity and different drying systems on the stability of bioactive compounds* . **512-522**

# Editörden,

---

## Merhaba,

Dergimizin 2018 yılı 43. cilt 3. sayısı ile yine birlikteyiz. Bu sayımızda 2 adet İngilizce araştırma, 10 Türkçe araştırma ve 2 adet Türkçe derleme olmak üzere toplam 14 makale bulunmaktadır. Bu 14 makaleden 5 adedi 2017 yılında, 9 adedi ise 2018 yılında gönderilmiştir. Bu tarihte 2017 yılı kayıtlı olan sadece bir adet makalenin işlemleri sürmektedir.

Dergimizde ilk yayım tarihi olan 1976 yılı 1. cilt 1. sayısından başlayarak, bugüne gelinceye kadar hep araştırma makalelerini ve kuşkusuz nitelikli derlemeleri destekledik. İngilizce araştırma makalelerine, zaman içerisinde evrensel bilim adına farklı özel destekler verdik.

Derleme makalelerinde en büyük sorunumuz, başka bir uluslararası dergide farklı yazarlar tarafından yayımlanmış bir derleme makalenin, bir anlamda Türkçeye çevrilerek, dergimize gönderilmesi oldu. Oysa genel kabul gördüğü şekli ile derleme makale, İngilizce araştırma makalesinden çok daha kıymetlidir çünkü bu tür makalelerde konunun uzmanı, konu üzerindeki en son bilgileri okuyucunun bilgisine sunar. GIDA Dergisine gönderilen makaleler içinde, hakemlerimiz tarafından en fazla [yayımlanamaz] kararı derleme makaleler için verilmektedir, çünkü GIDA Dergisine gönderilen derleme makalelerin önemli bir kısmı yazarın derlediği değil, daha önce başka bir uluslararası dergide farklı yazarlar tarafından yayımlanmış tek bir makaleden türetilmiş makale niteliğindedir.

Dergimize gönderilen İngilizce araştırma makalelerinde yazar isimlerinde Türkçe karakter kullanılması ya da kullanılmaması konusuna karışmıyoruz. Bu konuda bir zorlamamız yoktur.

Dergimize <http://dergipark.gov.tr/gida> adresinden doğrudan erişebilirsiniz.

Nevşehir Hacı Bektaş Üniversitesi'nde yapacağımız 3. Uluslararası Gıda Teknolojisi Kongremizin kayıtları devam etmektedir.

Sevgi ve saygılarımla,

Prof. Dr. A. Kadir Halkman  
GIDA Dergisi Editörü

## A Message from the Editor-in-Chief

---

**Hello,**

We are together again with the 3<sup>rd</sup> issue of the volume 43 of our journal in 2018. There are 14 articles, including 2 research articles in English, 10 research articles in Turkish, and 2 review articles in Turkish in this issue. From these 14 articles, 5 of them were submitted in 2017 and 9 of them were submitted in 2018. At this date, the review and publication process of only one article submitted in 2017, is continuing.

Starting with the 1<sup>st</sup> issue of the volume 1 of our journal in 1976, we have always supported the research articles and, of course, qualified review articles until the present day. Over time, we gave different special supports to the research articles in English on behalf of universal science.

Our biggest problem in review articles is the submission of a Turkish translation of an article which was written by different authors and was published in another international journal. However, with the general acceptance, the review article is much more valuable than the research articles in English because the expert of the subject informs the readers of the latest information on the subject in these types of articles. In the articles submitted to FOOD Journal, the most [rejected] decision by our referees is given to the review articles because a significant part of the review articles submitted to FOOD Journal is not a review of the author, but an article derived from another article which was written by different authors and was published in another international journal.

We do not interfere with the use of Turkish letters in authors' names in research articles in English submitted to our journal. We do not force authors to any obligation in this regard.

You can access our journal directly at <http://dergipark.gov.tr/gida>

The registration to the 3<sup>rd</sup> International Congress on Food Technology which will be held in Nevsehir Haci Bektas University, has still been continuing.

Best Regards,

Prof. A. Kadir Halkman  
Editor of Journal of FOOD

## FARKLI DONDURMA VE ÇÖZÜNDÜRME YÖNTEMLERİ İLE ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ MANDALİNA VE ÇİLEKTE KALİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Esra Devseren<sup>1</sup>, Tuğçe Yılmaz<sup>2</sup>, Berrak Petmez<sup>2</sup>,  
Dilara Okut<sup>1</sup>, Mehmet Koç<sup>3\*</sup>, Figen Kaymak-Ertekin<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>İstanbul Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

Geliş/Received: 12.12.2017; Kabul /Accepted: 07.03.2018; Online baskı /Published online: 23.03.2018

Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B., Okut, D., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2018). Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri ile ön işlem uygulamalarının mandalina ve çilekte kalite özellikleri üzerine etkileri. *GIDA* (2018) 43 (3): 370-383 doi: 10.15237/gida.GD17108

Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B., Okut, D., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2018). Effects of different freezing and thawing methods including pre-treatments on quality attributes of mandarin and strawberry. *GIDA* (2018) 43 (3): 370-383 doi: 10.15237/gida.GD17108

### ÖZ

Bu çalışmada mandalina ve çileğin, dondurulması ve çözündürülmesi aşamasında uygulanan ön işlemlerin, dondurma ve çözündürme yöntemlerinin son ürün kalitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Ön işlem olarak sakkaroz ve sitrik asit çözeltilerine daldırma işlemi uygulanırken, donma yöntemi olarak hızlı donma (IQF, -15°C) ve konvansiyonel statik yöntemler (-18°C ve -24°C) uygulanmıştır. Çözündürme işlemi ise ev tipi buzdolabında (4°C, 4 saat) ve mikrodalga fırında (2 dak) gerçekleştirilmiştir. Dondurma işlemi öncesi sakkaroz çözeltilisine daldırılmış örneklerin renk ve dokusal özellikleri gelişirken, donma sonrası çözünme kayıpları azalmıştır. Ön işlem olarak sitrik asit çözeltilisine daldırılmış örneklerin ise çözünme sonrası C vitaminini daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Hızlı donma, çözünme kaybını konvansiyonel yöntemlere göre oldukça azaltmıştır. Mikrodalga çözündürme işlemi ise çözünme kaybı açısından buzdolabında çözündürme işlemine göre daha avantajlıdır. Hızlı dondurma yöntemi zaman ve kalite kayıplarını azaltmasıyla öne çıkmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Mandalina, Çilek, Donma hızı, Ön işlem, Donma, Çözündürme

## EFFECTS OF DIFFERENT FREEZING AND THAWING METHODS INCLUDING PRETREATMENTS ON QUALITY ATTRIBUTES OF MANDARIN AND STRAWBERRY

### ABSTRACT

In this study, the effects of pretreatments, freezing and thawing methods on the quality of mandarin and strawberry were investigated. Individual quick freezing (IQF, -15°C) and conventional static methods (-18°C and -24°C) were applied as freezing methods while immersing sugar and citric acid solutions as pretreatments. Thawing was carried out in a refrigerator (4°C, 4 hours) and in a microwave (2 min). The color and texture of the samples improved and the drip loss after freezing decreased with immersing into sugar solution before freezing. Immersion into citric acid were found a better way to protect vitamin C after thawing. Quick-freezing significantly reduced the drip loss compared to conventional freezing. Microwave thawing is superior to thawing in the refrigerator considering drip losses. The fast freezing method, IQF is emphasized by reducing time and quality losses.

**Keywords:** Mandarin, Strawberry, Freezing rate, Pre-treatment, Freezing, Thawing

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉ mehmetkoc@adu.edu.tr,

☎ (+90) 256 213 75 03

☎ (+90) 256 213 66 86

### GİRİŞ

Meyve ve sebzeler, sahip oldukları yüksek su (~%85-%95) içeriği nedeniyle hızlı bir şekilde bozulmaktadır. Bozulmaya neden olan biyokimyasal reaksiyonlar ile mikrobiyolojik faaliyetler yüksek su aktivitesi değerlerinde daha hızlı gerçekleşmektedir (Chong vd., 2013). Donma işlemi, meyve ve sebzelerin bozulmalarını önlemek için su aktivitesini düşürecek işlemlerden biridir (Fellows, 2017). Donma işlemi sonucunda gıdaların sıcaklığı düşürülerek, ürün yapısında bulunan serbest su sıvı formdan buz formuna dönüştürülmekte böylece ürünün su aktivitesi düşürülmektedir. Bunun sonucunda ise ürünün yapısında gerçekleşen biyokimyasal, enzimatik ve mikrobiyal reaksiyonların hızı düşerken, ürünün duyu nitelikleri ve besin değerlerinde sınırlı değişiklik gerçekleşmektedir (Fellows, 2017). Demiray ve Tülek (2010) de taze meyve ve sebze özelliklerine en yakın ürünlerin dondurularak muhafaza ile elde edilebildiğini bildirmişlerdir.

Dondurulmuş meyve ve sebzelere, haşlama, çözeltiye daldırma, yenilebilir film ile kaplama gibi ön işlemler donma ve dondurulmuş ürünün depolanması sırasında gelişebilecek olumsuz değişiklikleri önlemek için uygulanmaktadır (Ketata vd., 2013). Meyvelerin dondurulmasında en önemli ön işlemlerden biri olan şeker çözeltisine daldırma, meyvenin oksijen ile temasının engellenerek doğal renk ve görünüşünün korunmasını sağlamanın yanı sıra katı kazanımı ve su kaybı gerçekleştirerek meyvenin tadının ve yapısının gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Parniakov vd., 2015). Diğer bir ön işlem olan organik asit çözeltisine daldırma ise ortam pH'sının düşürerek ürünün oksidasyonu engellerken, rengin koyulaşması önlenmektedir. Abd-Elhady (2014) yaptığı çalışmada, donma ile dokusal yapıda ve renkte ciddi kayıplar yaşanan çileğin sitrik asit çözeltisine daldırılması ile askorbik asit ve toplam antosiyanin içeriğindeki kayıpların azaltıldığı ve esmerleşme indeksinin düşürüldüğü gözlenmiştir. Turmanidze vd. (2017), çilek ve ahududu örneklerini donma işlemi öncesi ön işlem olarak %1 ve %2'lik askorbik asit çözeltisinde 2.5 dak süresince bekleterek, toplam fenolik madde ve C vitamini içeriğini koruduğu tespit edilmiştir.

Donmuş ürün kalitesini etkileyen önemli etkenlerden biri de dondurma yöntemidir. Dondurma yöntemleri soğuk hava ile donma (durgun havada donma ve hava akımında donma), plakalı dondurma metodu ile donma, daldırarak donma ve kriyojenik sıvılarla donma olmak üzere dört ana başlıkta sınıflandırılmaktadır. Ancak evsel koşullarda gıdaların donması için uygulanabilen tek yöntem durağan soğuk hava ile donmadır. Hava akımı ile donma işlemi ise endüstride en çok kullanılan yöntem olup -40°C ve -20°C arasındaki havanın 1-6 m/s hızla uygulanması ile gerçekleştirilmektedir. Durgun hava ile donmada ise kullanılan hava haraketsizdir ve izole edilmiş bir sistemde -15-30°C arasında uygulanmaktadır (Biglia vd., 2016). Donma hızı meyve ve sebze kalitesi üzerinde fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal değişimlere etki etmektedir. Donma hızının artması ile küçük buz kristalleri oluşurken, renk, tat, aroma ve doku değişimi minimum düzeye indirilebilmektedir (Demiray ve Tülek, 2010). Birçok çalışmada, hızlı donma yöntemi ile yüksek kalitede donmuş ürünler arasında yakın ilişki olduğu ve hızlı donmanın nihai kaliteyi maksimum düzeyde koruyarak ürünlerin raf ömrünü uzattığı doğrulanmıştır (Sun ve Li, 2003).

Dondurulmuş gıdalar için önemli unsurlardan biri de dondurulmuş gıdaların çözündürülmesidir. Meyve ve sebzelerin çözündürülmesi için evlerde sıklıkla mikrodalga ve buzdolabında bekleterek çözündürme uygulanmaktadır. Mikrodalgada çözündürme, çözünme süresini dakika bazına indirmesinin yanı sıra çözünme kaybını, mikrobiyal problemleri ve kimyasal bozunmayı azaltmasıyla bilinen bir yöntemdir (Oszmianski vd., 2009; Baysal vd., 2011). Buzdolabında çözündürmede ise paketli dondurulmuş gıda buzdolabına (4-6 °C) yerleştirilerek çözünme işlemi tamamlanuncaya kadar tutulmaktadır. Bu yöntemde çözündürme işleminde çözündürme zamanının uzun oluşu nedeniyle, üründe mikroorganizma gelişimi olabilmekte, damlama kaybının oluşması, üründe yüzey oksidasyonunun ve renk değişimlerinin meydana gelmesi gibi olumsuzluklar görülebilmektedir (Bozkır vd., 2014).

Bu çalışmada donma öncesi ön işlemlerin, donma hızının ve çözündürme yönteminin mandalina ve çilek kalitesi üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Deneysel çalışma sürecinde araştırma materyali olarak kullanılan mandalina ve çilek örnekleri İzmir ilindeki yerel bir marketten temin edilmiştir. Örnekler uygulanacak işlemler öncesinde 4°C'ta saklanmıştır. Mandalinalara yıkama, ayıklama, soyma, segmentlere ayırma; çileklere yıkama işlemleri uygulandıktan sonra ön işlem olarak çözeltiliye daldırma işlemine tabi tutulmuştur. Çözeltiliye daldırma işleminde kullanılan sakkaroz ve sitrik asit gıdalarda kullanılabilir saflıkta olup yerel bir marketten temin edilmiştir.

## YÖNTEM

### Ön İşlemler

Yıkama, ayıklama, soyma, segmentlere ayırma, kesme işlemleri uygulanmış olan mandalina ve yıkanmış çilek örnekleri, donma öncesinde sakkaroz çözeltisi ve sitrik asit çözeltisine daldırılarak ön işleme tabi tutulmuştur.

Mandalina ve çilek örnekleri, meyve/çözelti oranı 1:4 olacak şekilde 25°C ortam sıcaklığında sırası ile %50 ve %40 (w/w) sakkaroz çözeltisi içerisinde 2 saat süre, durağan ortamda ozmotik ön işleme tabi tutulmuştur. Ayrıca mandalina ve çilek örnekleri, bir başka ön işlem olarak meyve/çözelti oranı 1:4 olacak şekilde %1 (w/w) lik sitrik asit çözeltisine 15 dakika süre ile daldırma işlemine tabi tutulmuştur. Uygulanan ön işlem koşulları ön denemeler ile belirlenmiştir. Uygulama sonrası çözeltilerden çıkarılan örnekler kaba filtre kağıdı üzerine alınarak yüzeye yapışan çözeltinin alınması sağlanmıştır.

### Donma İşlemi

Ön işlemlerden geçirilen mandalina ve çilek örneklerine (25°C) durağan havalı ve hava akımlı sistemde olmak üzere farklı yöntemlerle donma işlemi uygulanmıştır. Durağan havalı sistemde a) -18°C'ta ev tipi buzdolabının (Arçelik, Türkiye) dondurucu bölümünde, b) -24°C'taki dondurucuda ve c) hava akımlı sistemde sabit

hava akış hızında -15°C'ta laboratuvar tipi dondurucuda (air blast freezer, Frigoscandia) donma işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak ön işlem uygulanmamış mandalina ve çilek örnekleri de aynı koşullarda dondurulmuştur. Tüm denemelerde ortam ve gıdanın merkez noktasının sıcaklık ölçümü ısı eşler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık değerleri veri kaydetme cihazı ile kaydedilmiş, gıdanın merkez sıcaklığı donma noktasının 10°C daha altına ulaştığında donma işlemine son verilmiştir. Farklı koşullardaki sistemlerde dondurulan örneklerin donma süreleri ve donma hızları hesaplanmıştır.

### Çözündürme işlemi

Dondurulmuş mandalina örnekleri buzdolabının (Arçelik, Model 5500 NM, Türkiye) -24°C'taki dondurucu bölümünde 1 hafta süreyle depolanmış ve çözündürme işlemine geçilmiştir. Dondurulmuş mandalina ve çilek örnekleri, buzdolabında (Arçelik, Türkiye) 4°C'ta 4 saat ve mikrodalga fırında (Arçelik, Model 595, Türkiye) çözündürme fonksiyonunda (360 W) 2 dakika süresince çözündürme işlemine tabi tutulmuştur.

### Analiz Yöntemleri

#### Çözünme Kaybı

Çözünme kaybı, dondurulan meyvelerin dondurucudan çıkarıldıktan sonraki ağırlıkları ile çözüldükten sonraki ağırlıkları arasındaki farkın, başlangıç ağırlığına oranlanması (%) şeklinde hesaplanmıştır (Baysal vd., 2014).

#### Çözünür Madde Tayini

Ön işlem uygulamalarının ürünlerdeki çözünür kuru madde içeriğine etkisini belirlemek için örneklerin çözünür madde içeriği Abbe refraktometresi ile belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2010).

#### Renk

Başlangıçta, ön işlem sonrası ve çözündürülmüş örneklerde renk, yüzeyde ve iç kısımda olmak üzere Hunter Lab (CIE Yxy, L\*a\*b\*) değerleri ölçülerek (CM-2600d/2500d, Konica Minolta) belirlenmiştir. Ön işlem, donma ve çözündürme sırasındaki renk değişimi, ΔE (Eşitlik 1), renk yoğunluğu (croma, C\*) (Eşitlik 2) ve renk tonu



(Hue,  $h^\circ$ ) (Eşitlik 3) hesaplanmıştır. Mandalina örneklerinde ölçümler; üç paralel bir segmentten 5'er ölçüm olacak şekilde; çilekte ise yüzeyden 5'er ölçüm alınarak renk ölçümü gerçekleştirilmiştir.

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

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

$$h^\circ = \frac{\arctan b}{a} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

#### Doku

Donma denemeleri sırasında; taze örnek, ön işlemler ve çözündürme işlemleri sonrasında alınan örneklerde doku analizi (Texture Analyzer TA-XT2, Stable Micro Systems, Haslemere, UK) gerçekleştirilmiştir. Doku analizi için mandalinada iğne başlık (P/2N) kullanılırken, çilekte ise TPA analizi gerçekleştirilmiştir.

Çilek örnekleri doku profil analizi testinde (TPA analizi) set değerleri şöyle seçilmiştir:

Test öncesi hız: 1mm/s

Test hızı: 1 mm/s

Test sonrası hız: 5 mm/s

Sıkıştırma oranı: %80

İki sıkıştırma arasındaki bekleme süresi: 3 s

Tetikleme kuvveti : 5 g

Yük hücresi: 30 kg

Ölçüm başlığı: 36 mm çaplı silindir

Test sırasındaki sıcaklık: 25°C

#### C Vitamini Tayini

Taze, ön işlem sonrası ve çözündürülmüş örneklerin C vitamini içeriği, spektrofotometrik (VARIAN Cary 50 Bio, UV/VIS Spectrophotometer) yöntem kullanılarak 518 nm'de tespit edilmiştir (Hışıl, 2011).

#### İstatistiksel Analiz

Ön işlemler, donma ve çözündürme yöntemlerinin kalite özellikleri (çözünme kaybı, süzüntü kaybı, çözünür madde içeriği, doku, renk değerleri ve C vitamini) üzerine etkisini istatistiksel olarak değerlendirmek için tek değişkenli (Univariate) bir test yöntemi olan Tek Değişkenli Varyans Analizi (Univariate Analysis of Variance) yöntemi uygulanmıştır. İstatistiksel

analizler SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### BULGULAR VE TARTIŞMA

##### Donma Eğrileri ve Donma Hızı

Farklı ön işlem görmüş mandalina ve çilek örneklerinin farklı ortamlarda (-18 °C buzdolabının dondurucu haznesinde, -24 °C'ta durağan ortam dondurucuda ve -15 °C'ta hava akımlı dondurucuda) dondurulması sırasında gözlenen sıcaklık -zaman donma eğrileri Şekil 1a, b ve c ve Şekil 2 a, b ve c'de ve hesaplanan donma hızları Çizelge 1'de gösterilmiştir. Donma noktasının hemen üzerindeki derecelere kadar soğutma aşamasından sonra gelen donma süreci içindeki sıcaklık azalması ürünün donma hızını belirlemektedir. Bir gıda kütlesinin donma hızı; gıdanın merkezi ile yüzeyi arasındaki uzaklığın, yüzey sıcaklığı 0°C olduğu andan merkezdeki sıcaklık donma noktasının 10°C altına düşene kadar geçen süreye oranıdır ve cm/h olarak ifade edilmektedir. 0.2 cm/h donma hızı yavaş, 0.5-3 cm/h donma hızı hızlı, 5-10 cm/h donma hızı çok hızlı ve 10-100 cm/h şok donma olarak adlandırılmaktadır. Aynı terimler ortalama sıcaklık değişim oranı olarak da tanımlanabilmektedir. 1-20 °C/dak yavaş; 20-50 °C/dak çok hızlı olarak ifade edilmektedir (Hui vd. 1995).

Mandalina ve çilek örnekleri için uygulanan donma yöntemleri karşılaştırıldığında hava akımlı donma (IQF) yönteminde diğer yöntemlere göre donma hızının oldukça yüksek ve donma süresinin ise oldukça düşük olduğu görülmektedir. Uygulanan ön işlemlerden sakkaroz çözeltisine daldırma işleminin, meyvelerdeki suda çözünebilir kuru madde içeriğinin artmasına neden olduğu ve buna bağlı olarak donma süresinin artmasına yol açtığı belirlenmiştir. Çilek örneklerine uygulanan sitrik asit çözeltisine daldırma işleminin de meyvedeki suda çözünebilir kuru madde içeriğinin artmasına neden olduğu ve donma süresini artışına neden olduğu görülmektedir. Daha uzun donma süresine sahip kontrol gruplarında ise meyvenin soğutucu ile temas halinde olan yüzeyinin büyüklüğündeki değişimin donma süresini etkilediği görülmektedir (Kesim vd., 1995).

Çizelge 1. Farklı ön işlem ve donma yöntemleri uygulanmış mandalina ve çilek örneklerinin donma hızları  
Table 1. Freezing rates of mandarin and strawberry with different pretreatment and freezing methods

Donma Yöntemi (Freezing method)	Ön İşlem (Pretreatment)	Mandalina (Mandarin)		Çilek (Strawberry)	
		Donma Hızı (Freezing Rate) (cm/h)	Donma Süresi (Freezing Time) (h)	Donma Hızı (Freezing Rate) (cm/h)	Donma Süresi (Freezing Time) (h)
IQF (-15°C)	Kontrol (Control)	6.32	0.16	5.00	0.40
	SÇD*	3.75	0.26	2.58	0.78
	SACD**	4.51	0.22	3.04	0.65
Konvansiyonel (Conventional) (-18°C)	Kontrol (Control)	0.20	4.83	0.52	2.85
	SÇD*	0.21	4.63	0.45	3.34
	SACD**	0.29	3.46	0.38	3.91
Konvansiyonel (Conventional) (-24°C)	Kontrol (Control)	0.83	1.20	0.75	3.33
	SÇD*	0.59	1.68	0.96	2.59
	SACD**	0.69	1.45	0.71	3.50

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (Immersing sugar solution, 2 hours)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (Immersing citric acid solution, 15 min)

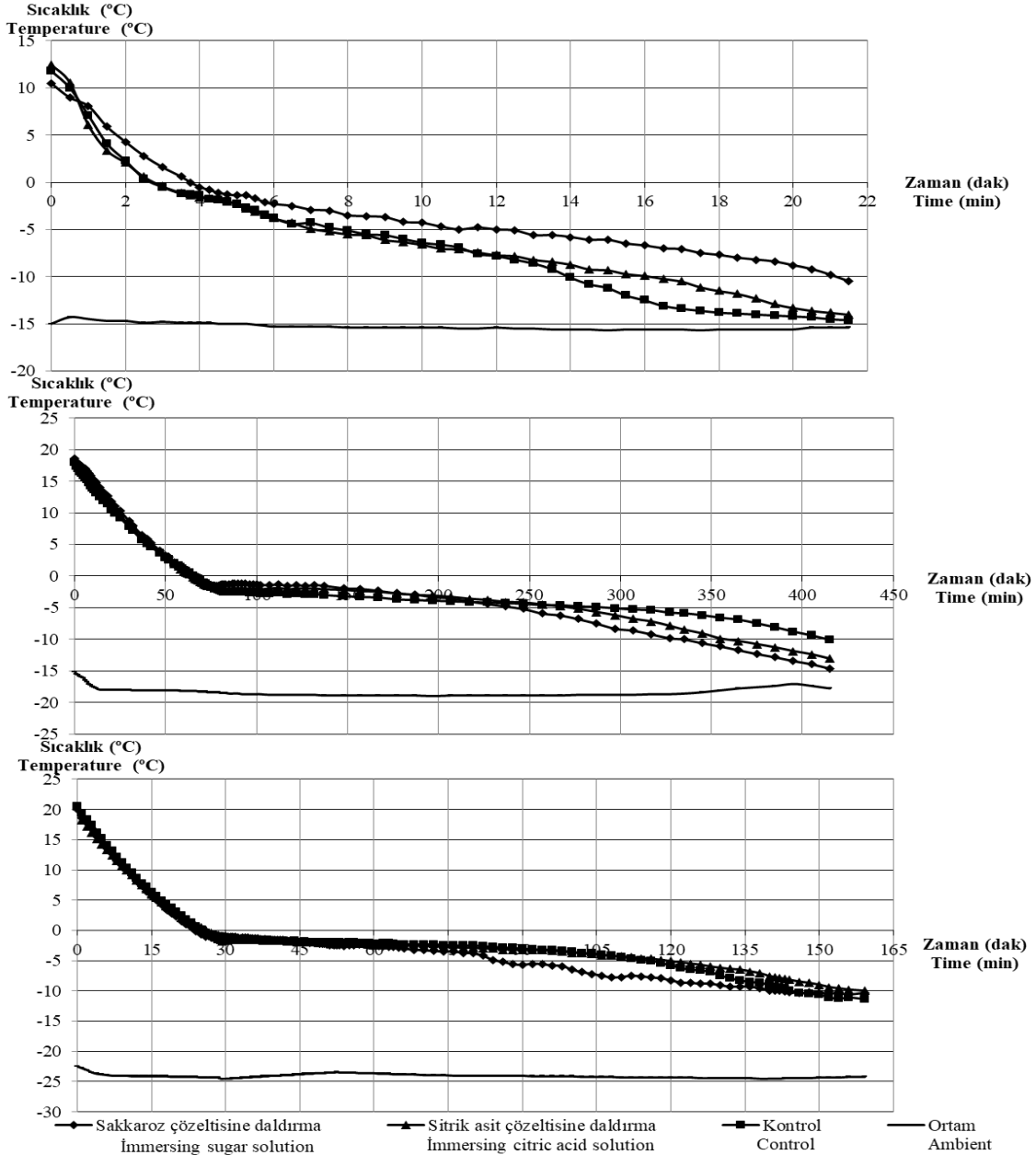
Mandalina örneklerinin IQF yönteminde dondurulması işleminde gözlenen eğri (Şekil 1a), faz değişim aşamasının sakkaroz çözeltisinde osmotik ön işlem uygulanmış mandalina örneklerinde diğer gruplara göre daha uzun sürdüğünü ve hedeflenen sıcaklığa daha geç ulaşıldığını göstermektedir. Şekil 1a, 1b ve 1c incelendiğinde, IQF, konvansiyonel -18°C ve konvansiyonel -24°C için sakkaroz çözeltisi içinde osmoz edilen mandalina örneklerinin, merkez sıcaklığının donma noktasının 10°C daha altına düşmesi için geçen süre sırası ile 15.6 dak, 277.8 dak ve 100.8 dak; sitrik asit çözeltisine daldırılan örneklerde 13.2 dak; 207.6 dak ve 87 dak; kontrol grubu için ise 9.6 dak, 289.8 dak ve 72 dak olarak hesaplanmıştır.

Buzdolabının dondurucu bölmesinde -18°C'ta uygulanan işlemde mandalina örneklerinin yavaş dondurulmasında faz değişim süresinin ve hedeflenen sıcaklığa ulaşma süresinin uzun sürdüğü görülmektedir (Şekil 1b). Örneklerin donma noktasının -3°C ve -4°C aralığında olduğu gözlenmiştir. Çizelge 1 ve Şekil 1 a, b, c incelendiğinde, bulgular IQF yönteminin hızlı donma yöntemi olduğunu desteklemektedir.

Konvansiyonel donma yöntemlerinde ise -24°C'ta uygulanan donma işleminin -18°C'ta uygulanan donma işleminden daha kısa sürdüğü görülmektedir. Konvansiyonel donma yöntemlerinde daha düşük sıcaklık uygulanmasının donma hızında artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Çileklere uygulanan hızlı donma (IQF) işlemi incelendiğinde kontrol grubunda faz değişiminin daha kısa sürede tamamlandığı görülmektedir (Şekil 2a). Faz değişimi süresince örneklerin sıcaklıkları ufak değişimler haricinde sabittir. Osmotik ön işlem uygulanan örneklerde faz değişiminin daha uzun sürdüğü görülmektedir. Daha yüksek kuru madde içeriğine sahip gıdalarda ilk buz kristallerinin oluşması daha düşük sıcaklıkları gerektirmektedir (Pala, 1983). Çekirdeklenme sıcaklığının sakkaroz grubunda -2.8 °C, sitrik grubunda -2.5 °C kontrol grubunda -2 °C olduğu görülmüştür. Çekirdeklenme olayının gerçekleşmesinden sonra çilekler donma sıcaklığına gelmekte ve faz değişimi bu aşamada başlamaktadır. Çekirdeklenme aşamasından sonra gizli ısı salınımı nedeniyle sıcaklık bir miktar yükselmektedir. Bu aşamadan sonra sıcaklık sabit devam etmekte yani üründe faz değişimi

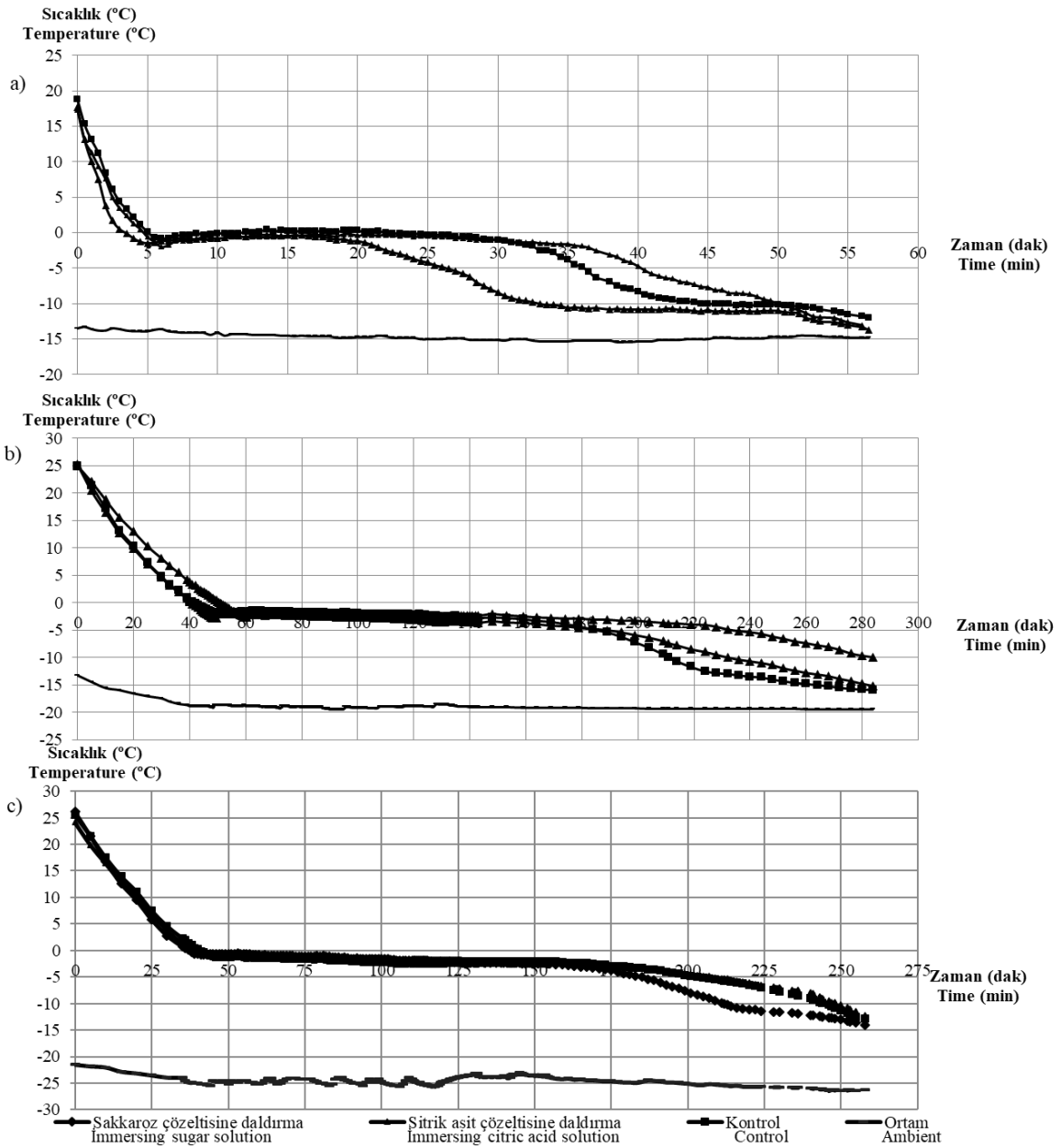
gerçekleşmektedir. Çilek örneklerin merkez noktalarının donma noktasının 10 °C daha altına ulaşma süreleri sırasıyla kısıdan uzuna doğru kontrol grubu; sitrik asit grubu ve sakkaroz grubu şeklinde olmuştur. Kontrol örnekleri 24. dakikada hedeflenen sıcaklığa gelmiştir. Sitrik asit ön işlemi uygulanan grupta bu süre 39 dakika, osmotik ön

işlem uygulanan grupta 46.8 dakika olarak kaydedilmiştir. Çilek örneklerinin konvansiyonel olarak dondurulmasında (-24 °C) hedeflenen merkez nokta sıcaklığına ulaşmak için gerekli donma sürelerinin konvansiyonel olarak -18 °C'ta dondurulan örneklerle göre daha kısa olduğu görülmektedir (Şekil 2b ve 2c).



Şekil 1. a) IQF (-15°C) yöntemi ile b) Konvansiyonel (-18°C) c) Konvansiyonel (-24°C) dondurulan mandalina örneklerinin donma eğrileri

Figure 1. Freezing curves of mandarin for (a) IQF (-15 °C), (b) conventional (-18 °C) and (c) conventional (-24 °C)



Şekil 2. a) IQF (-15°C) yöntemi ile b) Konvansiyonel (-18°C) c) Konvansiyonel (-24°C) dondurulan çilek örneklerinin donma eğrileri

Figure 2. Freezing curves of strawberry for (a) IQF (-15 °C), (b) conventional (-18 °C) and (c) conventional (-24 °C)

### Çözünme Kaybı

Farklı ön işlem görmüş ve farklı sıcaklık ve yöntemler ile dondurulmuş ve çözündürülmüş mandalina ve çilek örneklerinin buzdolabının taze gıda bölümünde 4°C'ta (4 h) ve mikrodalga fırının defrost (buz çözme) ayarında (2 dak) çözündürülmesi sonrası meydana gelen çözünme

kayıbı sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Mandalına ve çilek örnekleri kendi aralarında ve kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında, uygulanan ön işlem, donma yöntemi ve çözündürme yöntemine bağlı olarak örneklerin çözünme kaybı değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir. IQF yöntemiyle dondurulan hem mandalina hem çilek

## Dondurma ve çözündürme işleminin mandalina ve çileğin kalitesine etkisi

örnekleri için her iki çözündürme yöntemi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Ancak gıdaları buzdolabı ortamında çözündürme işlemi zaman alacağı ve bu süre içinde kimyasal değişimlerin olabileceği göz önünde bulundurulmalı ve tüketici ona göre bir tercihe yönlendirilmelidir. Konvansiyonel yöntemle  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ta dondurulan mandalina ve çilek örnekleri için mikrodalga fırında çözündürme işleminde çözünme kaybının buzdolabı ortamındaki kayıplara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Mandalina ve çilek

örneklerinin çözündürülmesinde sakkaroz çözeltisinde ön işlem uygulamasının çözünme kaybı açısından avantaj sağladığı tespit edilmiştir. Örneklerdeki kuru madde miktarının artmasının çözünme kaybını azalttığı görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Konvansiyonel yöntemle  $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ta dondurulan örneklerde de benzer sonuçlar izlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Genel olarak sitrik asit çözeltisinde ön işlem uygulanan grupta hem buzdolabı ortamında hem de mikrodalga fırında çözündürme sırasında çözünme kayıplarının çok daha yüksek olduğu görülmektedir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 2. Farklı ön işlem, donma ve çözündürme yöntemleri uygulanmış mandalina ve çilek örneklerindeki çözünme kaybı değerleri

*Table 2. Drip loss of mandarin and strawberry with different pretreatment, freezing and thawing methods*

Donma Yöntemi (Freezing Method)	Çözündürme Yöntemi (Thawing Method)	Önişlem (Pretreatment)	Çözünme Kaybı (Drip Loss) (%)	
			Mandalina (Mandarin)	Çilek (Strawberry)
IQF ( $-15^{\circ}\text{C}$ )	Buzdolabı (Refrigerator) ( $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 4 h)	Kontrol (Control)	0.69 $\pm$ 0.02 <sup>a,d,g</sup>	0.20 $\pm$ 0.01 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	0.66 $\pm$ 0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.29 $\pm$ 0.02 <sup>b,d,g</sup>
		SAÇD**	0.50 $\pm$ 0.01 <sup>c,d,g</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>c,d,g</sup>
	Mikrodalga (2 dak) (Microwave, 2 min)	Kontrol (Control)	0.73 $\pm$ 0.03 <sup>a,d,h</sup>	0.34 $\pm$ 0.02 <sup>b,d,h</sup>
		SÇD*	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>b,d,h</sup>	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>a,d,h</sup>
		SAÇD**	0.82 $\pm$ 0.03 <sup>c,d,h</sup>	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b,e,h</sup>
Konvansiyonel (Conventional) ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ )	Buzdolabı (Refrigerator) ( $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 4 h)	Kontrol (Control)	1.26 $\pm$ 0.01 <sup>a,e,g</sup>	0.84 $\pm$ 0.03 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	0.09 $\pm$ 0.01 <sup>b,e,g</sup>	0.19 $\pm$ 0.01 <sup>b,e,g</sup>
		SAÇD**	1.46 $\pm$ 0.02 <sup>c,e,g</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>c,e,g</sup>
	Mikrodalga (2 dak) (Microwave, 2 min)	Kontrol (Control)	0.11 $\pm$ 0.01 <sup>a,e,h</sup>	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>a,e,h</sup>
		SÇD*	0.05 $\pm$ 0.01 <sup>b,e,h</sup>	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>b,e,h</sup>
		SAÇD**	0.37 $\pm$ 0.01 <sup>c,e,h</sup>	0.55 $\pm$ 0.01 <sup>c,e,h</sup>
Konvansiyonel (Conventional) ( $-24^{\circ}\text{C}$ )	Buzdolabı (Refrigerator) ( $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 4 h)	Kontrol (Control)	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>a,f,g</sup>	4.58 $\pm$ 0.02 <sup>a,f,g</sup>
		SÇD*	0.34 $\pm$ 0.01 <sup>b,f,g</sup>	1.61 $\pm$ 0.02 <sup>b,f,g</sup>
		SAÇD**	0.75 $\pm$ 0.02 <sup>c,f,g</sup>	2.42 $\pm$ 0.03 <sup>c,f,g</sup>
	Mikrodalga (2 dak) (Microwave, 2 min)	Kontrol (Control)	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>a,f,h</sup>	1.07 $\pm$ 0.01 <sup>a,f,h</sup>
		SÇD*	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>b,f,h</sup>	1.04 $\pm$ 0.01 <sup>b,f,h</sup>
		SAÇD**	0.88 $\pm$ 0.02 <sup>c,f,h</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>c,d,h</sup>

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (Immersing sugar solution, 2 hours)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (Immersing citric acid solution, 15 min)

a,b,c ön işlemler arasındaki farkı istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (a, b, c indicate statistically difference between pretreatments ( $P < 0.05$ )).

d,e,f donma yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (d, e, f indicates statistically difference between freezing method (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

g, h çözündürme yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (g, h indicate statistically difference between dissolution methods (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

## Ön işlem, Donma ve Çözündürmenin Ürün Kalitesi Üzerine Etkileri

### Çözünür Kurumadaki Değişim (ÇKM)

Meyve ve sebzelerin suda çözünür formda olan maddelerinin büyük bir kısmını şekerler oluşturmaktadır. Mandalina ve çilek örneklerinin başlangıç suda çözünür kuru madde (ÇKM) içerikleri sırasıyla % 12 ve %7.5 dir. Osmotik ön işlem ve sitrik asit çözeltisine daldırma sonrası ve çözündürme sonrası mandalina ve çilek örneklerinin ÇKM içerikleri ( $^{\circ}$ Briks) Çizelge 3 ve 4'te gösterilmiştir. Çözündürme işlemi öncesi % ÇKM değerleri incelendiğinde iki ürün içinde uygulanan ön işlemlerin istatistiksel olarak fark oluşturduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Sakkaroz

çözeltisinde osmotik ön işlem uygulanan mandalina ve çilek örneklerinde sakkaroz difüzyonu sonucu Briks değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 3 ve 4). Osmotik ön işlem uygulanan mandalina örneklerinde çözünme sonrası ise Briks değerlerinin daha fazla azaldığı gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Çilek örneklerinde ise sitrik asit çözeltisine daldırılan örneklerde daha fazla çözünür madde kaybı meydana gelmiştir ( $P < 0.05$ ). Mikroalgada çözündürülen çilek örneklerinde daha fazla çözünür madde kaybı gözlemlenmiştir bulgulanmıştır. Yüksek sıcaklıkta konvansiyonel olarak dondurulmuş örneklerde de daha fazla çözünür madde kaybı gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 3. Farklı ön işlem uygulamalarında ve donma yöntemlerinde mandalina örneklerinin çözünür kuru madde, sertlik ve C vitamini değerleri

Table 3. Soluble dry matter (Brix), hardness and vitamin C values of mandarin in different pretreatment and freezing methods

Donma Yönt. (Freezing Method)	Çöz. Yönt. (Thawing Method)	Ön işlem (Pretreatment)	Ön işlem Son. Briks (After Pre. Brix) ( $^{\circ}$ B)	Çöz. Son. Briks (After Thawing Brix) ( $^{\circ}$ B)	Ön işlem Son. Sertlik (After Pre. Hardness) (N)	Çöz. Son. Sertlik (After Thawing Hardness) (N)	Ön işlem Son. C vit. (After Pre. Vit. C) (mg/100 g)	Çöz. Son. C vit. (After Thawing Vit. C) (mg/100 g)
IQF (-15°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	12.00±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.42±0.02 <sup>a,d,g</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	36.28±0.04 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	12.50±0.02 <sup>b,d,g</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.28±0.01 <sup>b,d,g</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	35.33±0.09 <sup>b,d,g</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	11.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.18±0.02 <sup>c,d,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	34.84±0.10 <sup>c,d,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.20±0.05 <sup>a,d,h</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	36.17±0.09 <sup>a,d,h</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	14.00±0.03 <sup>b,d,h</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.28±0.03 <sup>b,d,h</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	30.46±0.07 <sup>b,d,h</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	10.00±0.01 <sup>c,d,h</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.10±0.01 <sup>c,d,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	34.65±0.11 <sup>c,d,h</sup>
Konv. (-18°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	13.50±0.02 <sup>a,e,g</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.24±0.02 <sup>a,e,g</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	34.11±0.06 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	15.75±0.03 <sup>b,e,g</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.27±0.03 <sup>b,e,g</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	36.40±0.06 <sup>b,e,g</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	12.40±0.03 <sup>c,d,g</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.11±0.03 <sup>c,e,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	30.54±0.09 <sup>c,e,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	14.00±0.04 <sup>a,e,h</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.19±0.03 <sup>b,e,h</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	32.63±0.08 <sup>a,e,h</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	16.75±0.04 <sup>b,e,h</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.26±0.01 <sup>b,e,g</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	36.84±0.07 <sup>b,e,h</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	13.00±0.02 <sup>c,e,h</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.09±0.01 <sup>a,e,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	33.52±0.10 <sup>c,e,h</sup>
Konv. (-24°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	12.25±0.02 <sup>a,f,g</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.20±0.04 <sup>b,f,g</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	37.80±0.11 <sup>a,f,g</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	14.75±0.01 <sup>b,f,g</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.22±0.01 <sup>b,f,g</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	34.28±0.08 <sup>b,f,g</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	11.50±0.02 <sup>c,d,g</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.10±0.03 <sup>a,f,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	32.69±0.09 <sup>c,f,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	12.00±0.02 <sup>a,d,g</sup>	12.50±0.02 <sup>a,f,h</sup>	0.37±0.01 <sup>b,d,g</sup>	0.17±0.02 <sup>a,f,g</sup>	45.28±0.09 <sup>a,d,g</sup>	31.59±0.05 <sup>a,f,h</sup>
		SÇD*	16.00±0.02 <sup>b,d,g</sup>	14.25±0.02 <sup>b,f,h</sup>	0.40±0.03 <sup>b,d,g</sup>	0.25±0.04 <sup>b,f,g</sup>	41.61±0.07 <sup>b,d,g</sup>	33.17±0.08 <sup>b,f,h</sup>
		SAÇD**	11.80±0.01 <sup>c,d,g</sup>	11.00±0.01 <sup>c,f,h</sup>	0.15±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.10±0.01 <sup>c,f,g</sup>	37.22±0.13 <sup>c,d,g</sup>	26.12±0.07 <sup>c,f,h</sup>

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (Immersing sugar solution, 2 hours)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (Immersing citric acid solution, 15 min)

a,b,c ön işlemler arasındaki farkı istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (a, b, c indicate statistically difference between pretreatments ( $P < 0.05$ )).

d,e,f donma yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (d, e, f indicates statistically difference between freezing method (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

g, h çözündürme yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (g, h indicate statistically difference between dissolution methods (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

Çizelge 4. Farklı ön işlem uygulamalarında ve donma yöntemlerinde çilek örneklerinin çözünür kuru madde, sertlik ve C vitamini değerleri

Table 4. Soluble dry matter (Brix), hardness and vitamin C values of strawberry in different pretreatment and freezing methods

Donma Yönt.	Çöz. Yönt.	Ön işlem	Ön işlem Son. Brix	Çöz. Son. Brix	Ön işlem Son. Sertlik	Çöz. Son. Sertlik	Ön işlem Son. C vit.	Çöz. Son. C vit.
(Freezing Method)	(Thawing Method)	(Pretreatment)	(After Pre. Brix)(°B)	(After Thawing Brix)(°B)	(After Pre. Hardness) (N)	(After Thawing Hardness) (N)	(After Pre. Vit. C) (mg/100 g)	(After Thawing Vit. C) (mg/100 g)
IQF (-15°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	7.00±0.04 <sup>a,e,g</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	12.01±0.04 <sup>a,e,g</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	34.28±0.02 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	8.20±0.04 <sup>b,e,g</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	9.58 ±0.02 <sup>b,d,g</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	32.86±0.03 <sup>b,e,g</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	7.50±0.03 <sup>c,d,g</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	11.14±0.03 <sup>c,d,g</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	39.17±0.03 <sup>c,e,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	6.80±0.04 <sup>a,d,h</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	14.18±0.02 <sup>a,d,h</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	36.93 ±0.04 <sup>a,e,h</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	8.00±0.07 <sup>b,d,h</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	12.78±0.01 <sup>b,d,h</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	31.65 ±0.02 <sup>b,e,h</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	6.75±0.06 <sup>a,d,h</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	10.42±0.01 <sup>c,d,h</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	39.80 ±0.03 <sup>c,d,h</sup>
Konv. (-18 °C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	6.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	6.73 ±0.02 <sup>a,d,g</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	25.45 ±0.02 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	8.00±0.05 <sup>b,e,g</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	10.41±0.02 <sup>b,e,g</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	26.12 ±0.01 <sup>b,d,g</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	7.25±0.03 <sup>c,e,g</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	7.87 ±0.01 <sup>c,e,g</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	30.18 ±0.03 <sup>c,d,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	6.75±0.03 <sup>a,d,h</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	7.36 ±0.03 <sup>a,e,h</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	20.90±0.02 <sup>a,d,e,h</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	7.75±0.07 <sup>b,d,h</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	9.04 ±0.03 <sup>b,e,h</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	26.21±0.02 <sup>b,d,h</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	7.00±0.04 <sup>c,d,h</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	7.73 ±0.02 <sup>a,e,g</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	25.17±0.01 <sup>c,e,h</sup>
Konv. (-24 °C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	6.50±0.06 <sup>a,d,g</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	15.96±0.03 <sup>a,d,g</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	28.00±0.03 <sup>a,f,g</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	8.00±0.04 <sup>b,d,g</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	12.50±0.01 <sup>b,f,g</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	26.21±0.03 <sup>b,d,g</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	7.20±0.06 <sup>c,f,g</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	9.90 ±0.01 <sup>c,f,g</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	32.80±0.04 <sup>c,d,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	7.50±0.02 <sup>a,d,g</sup>	6.70±0.05 <sup>a,d,h</sup>	41.62±0.04 <sup>a,d,g</sup>	11.65±0.04 <sup>a,f,h</sup>	50.26±0.04 <sup>a,d,g</sup>	17.54 ±0.02 <sup>a,d,h</sup>
		SÇD*	8.50±0.04 <sup>b,d,g</sup>	7.80±0.06 <sup>b,d,h</sup>	34.97±0.06 <sup>b,d,g</sup>	9.68±0.03 <sup>b,f,h</sup>	33.26±0.03 <sup>b,d,g</sup>	24.91 ±0.01 <sup>b,d,h</sup>
		SAÇD**	8.00±0.02 <sup>c,d,g</sup>	7.00±0.02 <sup>c,d,h</sup>	58.26±0.03 <sup>c,d,g</sup>	9.48 ±0.03 <sup>c,f,h</sup>	49.24±0.04 <sup>c,d,g</sup>	19.96 ±0.01 <sup>c,e,h</sup>

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (Immersing sugar solution, 2 hours)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (Immersing citric acid solution, 15 min)

a,b,c ön işlemler arasındaki farkı istatistiksel olarak belirtmektedir (P <0.05). (a, b, c indicate statistically difference between pretreatments (P <0.05)).

d,e,f donma yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir (P <0.05). (d, e, f indicates statistically difference between freezing method (on the same pretreatment) (P <0.05)).

g, h çözündürme yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir (P <0.05). (g, h indicate statistically difference between dissolution methods (on the same pretreatment) (P <0.05)).

### Dokudaki Değişim

Önemli kalite özelliklerinden olan doku, mandalinada iğne başlık kullanılarak sertliğin test edilmesi ile, çilekte ise TPA analizi ile belirlenmiştir. Çizelge 3'te verilen sertlik değerlerine bakıldığında taze mandalınanın sertlik değerinin 0.37 N olduğu görülmektedir. Ön işlem olarak sitrik asite daldırma uygulanan mandalina örneklerinin dokularında önemli düzeyde yumuşama gerçekleşmiştir (P <0.05). Çözünme işlemi ile genellikle sertlik değerlerinin azaldığı görülmektedir. Donmuş çilekteki kuru madde miktarının yüksekliğinin, çözünme sonrası hücresel sıvı kayıplarını azalttığı ve buna bağlı olarak çilekteki doku hasarını azalttığı yapılan bir

çalışmada raporlanmıştır (Reno vd., 2011). Ayrıca buzdolabında çözündürme ile mikrodalga çözünmeye oranla dokunun daha fazla korunduğu tespit edilmiştir (P <0.05). Donma yöntemi olarak IQF'in dokuyu koruduğu saptanmıştır (P <0.05).

Çizelge 5 incelendiğinde, taze çileğin sertlik değerinin 41.62 N olduğu görülmektedir. Genel olarak çilek örneklerine uygulanmış tüm donma ve çözündürme yöntemlerine bakıldığında, ön işlem ve çözündürme sonrasında sertlik değerlerinde büyük oranlarda değişim saptanmıştır. Çileğin çözünme sonrası dokusal bütünlüğünü büyük oranda kaybettiği belirlenmiştir (P <0.05).

Çizelge 5. Uygulanan ön işlem ve çözündürme sonrası mandalina örneklerinin renk değişimi değerleri ( $\Delta E$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$ )Table 5. The color change values ( $\Delta E$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$ ) of mandarin after pretreatment and thawing

Donma Yönt. (Freezing Method)	Çöz. Yönt. (Thawing Method)	Ön işlem (Pretreatment)	Ön işlem Son. (After Pre.) $\Delta E$	Çöz. Son. (After Thawing) $\Delta E$	Ön işlem Son. (After Pre.) Chroma ( $C^*$ )	Çöz. Son. (After Thawing) Chroma ( $C^*$ )	Ön işlem Son. (After Pre.) Hue( $h^\circ$ )	Çöz. Son. (After Thawing) Hue( $h^\circ$ )
IQF (-15°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	20.92±5.67 <sup>a,d,g</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.28±0.03 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	7.59±1.88 <sup>a,e,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	22.65±7.72 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.26±0.03 <sup>a,d,g</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	5.36±4.11 <sup>a,d,g</sup>	23.69±3.67 <sup>a,d,g</sup>	21.02±5.30 <sup>a,d,g</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>a,d,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	28.52±2.54 <sup>a,d,h</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.29±0.04 <sup>a,d,h</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	9.55±3.04 <sup>a,d,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	28.48±5.28 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.38±0.04 <sup>b,e,h</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	5.90±2.02 <sup>b,d,g</sup>	23.69±3.60 <sup>a,d,g</sup>	22.86±5.71 <sup>a,d,g</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.32±0.04 <sup>b,e,h</sup>
Konv. (-18°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	24.42±9.94 <sup>a,d,g</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.29±0.02 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	7.89±2.45 <sup>a,d,e,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	29.25±5.84 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.28±0.04 <sup>a,d,g</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	8.39±3.54 <sup>a,d,g</sup>	23.69±3.60 <sup>a,d,g</sup>	20.61±5.19 <sup>a,d,g</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.32±0.03 <sup>a,e,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	25.19±5.96 <sup>a,d,g</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.25±0.03 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	7.89±2.45 <sup>a,e,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	31.92±3.31 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.28±0.06 <sup>a,e,g</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	8.39±3.54 <sup>a,e,g</sup>	23.69±3.60 <sup>a,d,g</sup>	30.50±6.74 <sup>a,d,h</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.25±0.03 <sup>a,d,h</sup>
Konv. (-24°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	32.88±2.44 <sup>a,d,g</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.26±0.01 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	5.04±1.81 <sup>a,d,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	30.02±4.29 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>a,d,g</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	4.38±1.52 <sup>a,d,g</sup>	23.69±3.60 <sup>a,d,g</sup>	30.50±6.74 <sup>a,d,g</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.25±0.03 <sup>a,e,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	22.67±3.98 <sup>a,d,g</sup>	31.82±4.46 <sup>a,d,g</sup>	1.16±0.02 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.02 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	11.09±3.28 <sup>a,d,g</sup>	4.51±1.00 <sup>a,d,g</sup>	29.56±5.29 <sup>a,d,g</sup>	32.44±3.28 <sup>a,d,g</sup>	1.27±0.04 <sup>b,d,g</sup>	1.23±0.03 <sup>a,d,g</sup>
		SAÇD**	6.74±1.46 <sup>b,d,g</sup>	4.60±1.20 <sup>a,d,g</sup>	23.69±3.60 <sup>a,d,g</sup>	26.09±4.20 <sup>a,d,g</sup>	1.23±0.05 <sup>b,d,g</sup>	1.32±0.03 <sup>b,e,h</sup>

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (Immersing sugar solution, 2 hours)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (Immersing citric acid solution, 15 min)

a,b,c ön işlemler arasındaki farkı istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (a, b, c indicate statistically difference between pretreatments ( $P < 0.05$ )).

d,e,f donma yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (d, e, f indicates statistically difference between freezing method (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

g, h çözündürme yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (g, h indicate statistically difference between dissolution methods (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

### C Vitaminindeki Değişim

Mandalina ve çilek örneklerinin farklı ön işlemler, farklı donma yöntemleri ve farklı çözündürme yöntemleri sonrası C vitamini miktarlarındaki değişim Çizelge 3 ve 4'te verilmiştir. Taze mandalina 45.28 mg/100 g, taze çilek ise 50.26 mg/100 g C vitamini içermektedir. En az kayıp IQF yöntemi ile dondurulan mandalina örneklerinde gözlenmiştir. Bu yöntemle dondurulan, mikrodalgada ve buzdolabında çözündürme yöntemleriyle çözündürülen mandalina örneklerinde C vitamini değişiminin en az olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Çilek örneklerinde çözünme sonrası C vitamini değerleri incelendiğinde en yüksek kaybın kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Sahari ve ark. tarafından 2003 yılında çilekteki askorbik asidin ve diğer kalite karakteristiklerinin korunması için, düşük depolama sıcaklığının ve

dondurma metodlarının kaliteye etkisi üzerine yapılan çalışmada çilekler, -20°C'ta 24 saat bekletildikten sonra -12°C, -18°C ve -24°C 'taki depolarda bekletilerek, uygulanan tüm sıcaklık değerleri arasında askorbik asit, pH, antosiyanin, asitlik tayini yapılmış ve yavaş ve hızlı dondurma yöntemleri karşılaştırılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda askorbik asit içeriği dikkate alındığında -12°C, -18°C ve -24°C'ta depolanan örneklerde sırayla %64,5, %10,7 ve %8,9'luk bir azalma gözlenmiştir. Hızlı dondurmada daha az askorbik asit kaybı olduğu tespit edilmiştir. C vitamini kristal haldeyken dayanıklı bir bileşik olmasına karşın, gıdalarda olduğu gibi yani çözelti halindeyken kolaylıkla parçalanabilmekte ve özellikle oksijen ve ışık etkisiyle dondurarak muhafaza dahil tüm depolama koşullarında askorbik asit kaybı görülmektedir. (Kasak vd., 2009)



### Renk Değişimi

Mandalina ve çilek örneklerine uygulanan ön işlemler ve takiben uygulanan donma ve çözünme işlemleri sonrasında örneklerin L\*, a\* ve b\* değerleri kaydedilmiş ve toplam renk farkını ifade eden  $\Delta E$  değerleri, renk yoğunluğu Chroma değerleri ve renk tonu Hue değerleri hesaplanmış ve Çizelge 5 ve 6'da verilmiştir. Sakkaroz çözeltisi içinde osmoz edildikten sonra IQF yöntemi ile dondurulmuş mandalina dilimlerinde renk değişiminin %31.56 olduğu, sitrik asit çözeltisine daldırılan mandalina örneklerinde ise % 20.47'lik değişim gözlemlendiği belirlenmiştir. Sakkaroz çözeltisi mandalinalarda daha koyu bir renk elde edilmesini sağlamıştır. Renk tonunu belirleyen Hue açısıl değeri incelendiğinde ön işlem uygulanmayan grupta değişim %10.34 olarak belirlenmiştir. Ön işlem uygulamalarında bu değişim sakkaroz çözeltisinde % 0.79, sitrik asit çözeltisinde %3.25 olarak belirlenmiştir. En yüksek Chroma değerinin ise sakkaroz çözeltisinde ön işlem uygulanan mandalina

dilimlerinde gözlemlendiği belirlenmiştir. Sakkaroz çözeltisinde ön işlem uygulanmasının mandalina dilimlerinde renk yoğunluğunu belirgin bir şekilde geliştirdiği anlaşılmaktadır. Çözünme sonrası mandalinadaki Chroma sonuçları incelendiğinde hızlı donma sonrası düşük Chroma değerlerinin elde edildiği görülmektedir ( $P < 0.05$ ).

Renk tonunu belirleyen Hue açısıl değeri incelendiğinde taze çileğin Hue değerinin 0.41 olduğu görülmektedir. Ön işlem ve çözündürme sonrasında çilek örneklerinin Hue değerleri incelendiğinde (Çizelge 6)  $-18^{\circ}\text{C}$ 'ta konvansiyonel olarak dondurulan ve mikrodalga fırında çözündürülen çilek örneklerinde büyük oranlarda değişim olduğu bulgulanmıştır ( $P < 0.05$ ). Hue açısının artması rengin kırmızılığının azaldığını göstermektedir. Chroma değerinin yüksek olması ise renk yoğunluğunun fazla olduğu anlamına gelmektedir. Sakkaroz çözeltisinde ön işlem uygulanmasının çilekte renk yoğunluğunu geliştirdiği anlaşılmaktadır ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 6. Uygulanan ön işlem ve çözündürme sonrası çilek örneklerinin renk değişimi değerleri ( $\Delta E$ ,  $C^*$ ,  $h^{\circ}$ )

Table 6. The color change values ( $\Delta E$ ,  $C^*$ ,  $h^{\circ}$ ) of strawberry after pretreatment and thawing

Donma Yönt. (Freezing Method)	Çöz. Yönt. (Thawing Method)	Ön işlem (Pretreatment)	Ön işlem Son. ( <i>After Pre.</i> ) $\Delta E$	Çöz. Son. ( <i>After Thawing</i> ) $\Delta E$	Ön işlem Son. ( <i>After Pre.</i> ) Chroma ( $C^*$ )	Çöz. Son. ( <i>After Thawing</i> ) Chroma ( $C^*$ )	Ön işlem Son. ( <i>After Pre.</i> ) Hue( $h^{\circ}$ )	Çöz. Son. ( <i>After Thawing</i> ) Hue( $h^{\circ}$ )
IQF (-15°C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	25.70±1.25 <sup>a,e,g</sup>	0.41±0.03 <sup>a,d,g</sup>	0.35±0.02 <sup>b,d,g</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	3.14±0.12 <sup>a,e,g</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	26.91±0.97 <sup>a,d,g</sup>	0.42±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.29±0.02 <sup>a,d,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	27.60±1.35 <sup>a,d,h</sup>	0.41±0.03 <sup>a,d,g</sup>	0.35±0.01 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	4.49±0.68 <sup>a,d,h</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	26.03±1.09 <sup>a,d,g</sup>	0.42±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.42±0.02 <sup>b,d,h</sup>
Konv. (-18 °C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	33.43±2.36 <sup>a,f,g</sup>	0.41±0.03 <sup>a,d,g</sup>	0.55±0.02 <sup>a,e,g</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	4.49±0.68 <sup>a,d,g</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	37.73±3.45 <sup>a,e,g</sup>	0.42±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.58±0.01 <sup>b,e,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	39.18±3.06 <sup>a,e,h</sup>	0.41±0.03 <sup>a,d,g</sup>	0.59±0.02 <sup>a,e,h</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	4.89±0.12 <sup>a,e,g</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	36.77±2.68 <sup>a,e,g</sup>	0.42±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.62±0.01 <sup>a,e,h</sup>
Konv. (-24 °C)	Buzdolabı (Refrigerator) (+4 C, 4 h)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	19.01±1.28 <sup>a,d,g</sup>	0.41±0.03 <sup>a,d,g</sup>	0.38±0.02 <sup>b,d,g</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	7.89±0.23 <sup>a,e,g</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	25.93±2.30 <sup>b,d,g</sup>	0.42±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.35±0.03 <sup>b,f,g</sup>
	Mikrodalga (Microwave) (2 dak)	Kontrol	-	-	29.59±1.27 <sup>a,d,g</sup>	23.68±1.36 <sup>b,d,g</sup>	0.44±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.31±0.02 <sup>a,d,g</sup>
		SÇD*	5.79±0.55 <sup>a,d,g</sup>	5.15±0.03 <sup>b,e,g</sup>	33.10±1.06 <sup>b,d,g</sup>	23.68±1.36 <sup>b,d,g</sup>	0.44±0.01 <sup>a,d,g</sup>	0.31±0.02 <sup>a,d,g</sup>

\* Sakkaroz çözeltisine daldırma (2 saat) (*Immersing sugar solution, 2 hours*)

\*\* Sitrik asit çözeltisine daldırma (15 dak) (*Immersing citric acid solution, 15 min*)

a,b,c ön işlemler arasındaki farkı istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (a, b, c indicate statistically difference between pretreatments ( $P < 0.05$ )).

d,e,f donma yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (d, e, f indicates statistically difference between freezing method (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

g, h çözündürme yöntemleri arasındaki farkı (aynı ön işlem üzerinde) istatistiksel olarak belirtmektedir ( $P < 0.05$ ). (g, h indicate statistically difference between dissolution methods (on the same pretreatment) ( $P < 0.05$ )).

## SONUÇLAR

Farklı ön işlemler uygulanan mandalina ve çileklerin kalitesi üzerine donma hızı ve çözündürme tekniklerinin etkileri incelenmiştir. Donma öncesi meyvelere uygulanan sakkaroz çözeltisi içinde osmotik ön işlem meyvelerin renk özelliklerini geliştirmekte, ayrıca süzüntü kayıplarını azaltarak meyvelerin dokusal kalitesinin korunmasını sağlamaktadır. Donma hızının meyvenin kalite özelliğini önemli ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Yüksek donma hızının mandalina ve çilekte donma sırasında meydana gelen kalite kayıplarında azalma sağladığı belirlenmiştir. Meyvelerde donma işlemi kadar çözündürmenin uygun yöntemle yapılması da önem taşımaktadır. Uygun olmayan çözündürme teknikleri donma işlemi ile yüksek oranda korunması amaçlanan ürün karakteristiklerinde bozunmalar meydana getirmektedir. Mikroalga fırında çözündürme işleminin çözünme kayıplarını azalttığı, buzdolabı koşullarında uzun süren çözünme işlemi ve örneklerin bu süreçte ısı dalgalanmaya maruz kalmasının çözünme sırasındaki çözünme kaybını arttırdığı belirlenmiştir. Yavaş donma işleminde büyük buz kristallerinin oluşumu ile ilişkilendirilen hücre zedelenmeleri, ürünlerin çözünmesi sırasında görülen olumsuz değişimlerin en önemli nedenidir. Buzdolabı ortamında gerçekleşen çözündürme işlemi daha uzun sürmesi ve çözünme sırasında meydana gelen su kaybının fazla olması ile dikkat çekmektedir. Mikroalga fırında çözündürme işleminin kısa süreli olması ve çözünme sonrası meydana gelen su kayıplarının az olması bu yöntemi ön plana çıkarmaktadır.

## KAYNAKLAR

Abd-Elhady, M. (2014). Effect of citric acid, calcium lactate and low temperature prefreezing treatment on the quality of frozen strawberry. *Ann Agr Sci*, 59: 69-75.

Baysal, T., Ergün, A. R., Akkgün, B., Karcı, G., Kaplan, N. (2014). Dondurma işleminde bazı ön uygulamaların çilek ve mandalinaların kalite üzerine etkilerinin incelenmesi. *GIDA*, 39: 203-210.

Baysal, T., İçier, F., Baysal, A.H. (2011). Güncel elektriksel ısıtma yöntemleri. Sıdaş yayınları, İzmir, ISBN: 9786058797666.

Bigliaa, A., Combaa, L., Fabriziob, E., Gaya, P., Aimonino, D.R. (2016). Case studies in food freezing at very low temperature. *Energy Proced*, 101: 305-312.

Bozkır, H. ,Baysal, T., Rayman E. , A. (2014). Gıda Endüstrisinde Uygulanan Yeni Çözündürme Teknikleri. *Akademik Gıda*, 12: 38-44.

Cemeroğlu, B. (2010). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, ISBN: 9759857868.

Chung, H., Kim, D.S., Kim, H.S., Lee, Y.G., Seong, J.H. (2013). Effect of freezing pretreatment on the quality of juice extracted from Prunus mume fruit by osmosis with sucrose. *LWT-Food Sci Technol*, 54: 30-34.

Demiray, E., Tülek, Y. (2010). Donmuş muhafaza sırasında meyve ve sebzelerde oluşan kalite değişimleri. *Akademik Gıda*, 8: 36-44.

Fellows P.J. (2017). Food Processing Technology. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, ISBN 978-1-84569-216-2.

Hışıl, Y. (2011), Enstrümantal Gıda Analizleri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, ISBN: 9754838008.

Hui, Y.H., Guerrero Legarretta, I., Lim, M.H., Murrell, K.D., Nip, W.K. (2004) *Handbook of Frozen Food*; CRC Press: Boca Raton, ISBN:0-8247-4712-7.

Kasnak , C., Toğrul, H. , Çağla, A., Bireysel Hızlı Dondurma Tekniği ile Dondurulmuş Vişnelerde Depolama Süresince Yapısal Değişimler, 2. Geleneksel Gıdalar Kongresi poster bildirisi, 2009

Kesim, M., 1995. Gıda Teknolojisi, Anadolu Üniversitesi Yayınları, No:909, Eskişehir, 260.

Ketata, M., Desjardins, Y., Ratti, C. (2013). Effect of liquid nitrogen pretreatments on osmotic dehydration of blueberries. *J Food Eng*, 116: 202-212.

Oszmianski, J., Wojdy, A., Kolniak, J. (2009). Effect of L-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze-thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries. *LWT-Food Sci Technol*, 42: 581-586.

Pala, M. (1983). Meyve ve Sebzelerin Dondurulması. *GIDA*, 8: 131-137.

Parniakov, O., N.I. Lebovka, O. Bals, Vorobiev E. (2015). Effect of electric field and osmotic pre-treatments on quality of apples after freezing-thawing. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 29: 23-30.

Pukszta, T., Palich, P. (2007). The effect of freezing conditions of strawberry storage on the level of thawing drip loss. *Acta Agrophys*, 9: 203-208.

Reno, M. J., Prado, M. E. T., Resende, J. V. (2011). Microstructural changes of frozen strawberries submitted to pre-treatments with additives and vacuum impregnation. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 31, 247-256.

Sahari, M.A., Boostani, M.F., Hamidi, Z.E., 2003, Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry. *Food Chemistry* 86: 357-363.

Sun, D.W., Li, B. (2003). Microstructural change of potato tissues frozen by ultrasound-assisted immersion freezing. *J Food Eng*, 57: 337-345.

Turmanidze, T., Jgenti, M., Gulua, L., Shaiashvili, V. (2017). Effect of ascorbic acid treatment on some quality parameters of frozen strawberry and raspberry fruits. *Ann Agrarian Sci*, 15: 370-374.

**TÜRKİYE'DE YETİŞEN BİTTİM (*PISTACIA TEREBINTHUS* L.) VE FISTIK (*PISTACIA VERA*) YAĞLARININ YAĞ ASİDİ, STEROL, TOKOL KOMPOZİSYONLARI, TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ebru Pelvan\*, İlknur Demirtaş**

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü Gebze, Kocaeli, Türkiye

Geliş / Received: 11.01.2018; Kabul / Accepted: 04.03.2018; Online baskı / Published online: 24.03.2018

Pelvan, E., Demirtaş, İ. (2018). Türkiye'de yetişen bittim (*Pistacia terebinthus* L.) ve fıstık (*Pistacia vera*) yağlarının yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (3): 384-392 doi: 10.15237/gida.GD18017

*Pelvan, E., Demirtaş, İ. (2018). Determination of fatty acid, sterol, tocol compositions, total phenolic contents and antioxidant activities of turpentine (*Pistacia terebinthus* L.) and pistachio (*Pistachio vera*) oils grown in Turkey. GIDA (2018) 43 (3): 384-392 doi: 10.15237/gida.GD18017*

**ÖZ**

Antep, Siirt ve Mardin yörelerinde yetişen bittim ve fıstık örnekleri toplam yağ içeriği, yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri (oksijen radikali absorban kapasitesi-ORAC) yönünden incelenmiştir. Örneklerin yağ miktarlarının 50.33 ile 54.00 g/100 g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Tanımlanan sekiz yağ asidi arasında sırasıyla, en fazla 18:1ω9 (%55.78-75.10), 18:2ω6c, 16:0 ve 18:0 bulunmuştur. Dokuz sterol ve yedi tokol izoformu (4 tokoferol ve 3 tokotrienol) arasında ise β-sitosterol (148.40-205.90 mg/100 g) ve γ-tokoferolün (33.57-43.94 mg/100 g) ilk sırada yer aldığı saptanmıştır. Örneklerin, toplam fenolik madde içeriğinin ise 3.03 - 4.52 mg galik asit eşdeğer (GAE)/100 g yağ aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Örnekler antioksidan aktivite açısından değerlendirildiğinde, ORAC değerlerinin 371.23-736.48 μmol Trolox eşdeğer (TE)/100 g yağ aralığında değiştiği gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; farklı fıstık türlerinden elde edilen yağların, yağda çözünür biyoaktif bileşikler açısından zengin birer kaynak olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fıstık, bittim, yağ asitleri, tokoller, steroller, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite

**DETERMINATION OF FATTY ACID, STEROL, TOCOL COMPOSITIONS, TOTAL PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF TURPENTINE (*PISTACIA TEREBINTHUS* L.) AND PISTACHIO (*PISTACIA VERA*) OILS GROWN IN TURKEY**

**ABSTRACT**

Oils of turpentines and pistachios from Antep, Siirt and Mardin regions were evaluated for their fatty acid, tocol, and sterol compositions as well as total phenolic contents and oxygen radical absorbance capacities (ORAC). The oil content of the samples varied between 50.33 and 54.00 g/100 g nuts. Eight fatty acids were identified, among which 18:1ω9 predominated (55.78 - 75.10 %) in all samples, followed by 18:2ω6c, 16:0, and 18:0. Among nine phytosterols and seven tocol isoforms, β-sitosterol (148.40-205.90 mg/100 g) and γ-tocopherol (33.57-43.94 mg/100 g) were predominant in samples. Total phenolic contents ranged from 3.03 to 4.52 mg of gallic acid equivalents (GAE)/100 g oil. With regard to antioxidant activity, ORAC values were in the range of 371.23-736.48 μmol of Trolox equivalents (TE)/100 g oil. According to the results of the study, these oils extracted from different species, serve as a good source of nutrients, fat-soluble bioactives, and health-promoting components.

**Keywords:** Pistachio, turpentine, fatty acids, tocols, sterols, total phenols, antioxidant activity

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ebru.pelvan@tubitak.gov.tr,

☎ (+90) 262 677 3262,

☎ (+90) 262 641 2309

## GİRİŞ

Fıstık, sakız ağacı ailesinde bulunan, 11 türe sahip, yaklaşık 80 milyon yıllık bir meyvedir (Kafkas, 2006; Parfitt ve Badenes, 1997), Türkiye’de yetişen *Pistacia vera* (Antep fıstığı) ve *Pistachio terebinthus* L. (bittim, çitlembik ya da menengiç) bu fıstık türlerindedir (Bozorgi vd. 2013). Antep fıstığı olarak bilinen *Pistacia vera* ekonomik açıdan değerlendirildiğinde familya içindeki en önemli türdür (AL-Saghir, 2012). Türkiye’de fıstık türleri genellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilmektedir. FAO (2016)’ya göre yıllık ortalama 170.000 MT üretim ile Türkiye dünyada fıstık üretimi yapan ve ihraç eden öncü ülkelerden biridir. Fıstık sahip olduğu ekonomik önemin yanı sıra besin değeri çok yüksek olan bir meyvedir. Fıstık %50-62 oranıyla, doymamış yağ asitleri bakımından zengin yağ içeriğine sahip olup, sterol miktarı ve antioksidan kapasitesi de diğer kuru yemişlerle kıyaslandığında oldukça yüksektir (Yıldız vd., 1998). Türkiye’de yetişen fıstıkların tekli doymamış yağ asidi olan oleik asit içeriğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu da yağın oksitlenmeye karşı daha dayanıklı olmasını sağlamaktadır (Yazicioglu ve Karaali, 1983).

Fıstık yağları gıda alanında çoğunlukla şekerlemelerde tereyağı ve margarinin yerine kullanılmaktadır. Bunun dışında deriye ve saça olan olumlu etkilerinden dolayı kozmetik endüstrisinde sabun, krem ve şampuanların formülasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır (Catalan vd., 2017; Durmaz ve Gokmen, 2011; Gogus vd., 2011). Fıstık yağları biyoaktif bileşenler yönünden çok zengindir ve sağlığa olan etkileri birçok çalışmada araştırılmıştır. Örneğin; fıstık ilaç endüstrisinde antioksidan özellikteki aktif katkı maddelerinin elde edilmesinde kaynak olarak kullanılmaktadır (Zhang vd., 2010). Fıstığın bazı bağırsak hastalıklarının iyileştirilmesinde, apse tedavisinde, dolaşım sistemindeki rahatsızlıklarda ve diğer hastalıklarda tedavi amaçlı kullanıldığı belirtilmiştir (AL-Saghir, 2012; Barbour vd. 2014).

Fıstık yağları çok sayıda biyoaktif ve sağlığa yararlı bileşikler içermektedir (Alasalvar ve Pelvan, 2011; Alasalvar ve Shahidi, 2009; Matthäus ve Ozcan, 2006; Miraliakbari ve Shahidi, 2008a; Miraliakbari ve Shahidi, 2008b; Ternus vd., 2009). Fıstık yağları tekli doymamış yağ asitleri, çoklu

doymamış yağ asitleri, tokoller ve steroller bakımından oldukça zengindir ve bu bileşenler insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Alasalvar ve Pelvan, 2011; Ertas vd., 2013; Matthäus ve Ozcan, 2006; Seeram vd., 2009; Bolling vd. 2011). Dolayısıyla, Türkiye’de yetişen fıstık yağlarının içeriklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu sebeple, mevcut çalışmada, ülkemizde Antep, Siirt ve Mardin’de yetişen 4 çeşit fıstığın (Antep fıstığı, Siirt fıstığı, Mardin bittimi ve Siirt bittimi) toplam yağ içerikleri, yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Aksi belirtilmediği takdirde kullanılan tüm kimyasallar Sigma-Aldrich-Fluka Co. Ltd. (Prolab, İstanbul, Türkiye)’den temin edilmiştir. Potasyum hidroksit (KOH) ve susuz sodyum sülfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) Carlo Erba (Milano, İtalya)’dan, N,O-bis (trimetilsilil) trifluoroasetamid, trimetil klorosilan, 5 $\alpha$ -kolasten-3- $\beta$ -ol, tokoferol, ve tokotrienoller Merck’den (Darmstadt, Almanya) ve yağ asitlerinin metil esterleri standart karışımı Supelco’dan (Bellefonte, PA, Amerika) temin edilmiştir.

### Örneklerin Hazırlanması

Türkiye’nin güneydoğu bölgesinde (Antep, Siirt ve Mardin) yetişmiş fıstık örnekleri Dicle Kalkınma Ajansı (DİKA) tarafından temin edilmiştir. Örnekler, homojenliğin sağlanması için yöre içerisinde 5 farklı coğrafik noktadan toplanmıştır. Laboratuvara ulaşan örnekler analiz edilene kadar  $4 \pm 1$  °C’de ve karanlıkta saklanmıştır.

### Yağ Ekstraksiyonu

Yağ ekstraksiyonu pilot ölçekli, 3 kW ayarlanabilir hızlı elektrik motora sahip vida pres ekstraktör ile gerçekleştirilmiştir (KMS Soğuk Pres Yağ, İzmir, Türkiye). Vida dönüş hızı, toplam yağın %80’ini ekstrakte edecek şekilde 60 rpm olarak ayarlanmıştır. Elde edilen yağ örneklerinin yağ asidi, tokol, sterol kompozisyonlarının yanı sıra toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Toplam yağ miktarı ise ISO 659 (2009)’a göre dietil eter çözgeni kullanılarak tespit edilmiştir.

### **Yağ Asitleri Kompozisyonun Belirlenmesi**

Örneklerin yağ asidi kompozisyonu ISO:12966-2 (2011) yöntemi modifiye edilerek belirlenmiştir. 0.1 g yağ örneği vida kapaklı tüpe tartılıp, üzerine 0.5 mL 2.0 N KOH ve 5 mL *n*-heptan eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra, susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile kurutulmuştur. Hazırlanan örnekler gaz kromatografisi-alev iyonlaşma detektörü (GC-FID) (Perkin Elmer, Autosystem GLX, Shelton, ABD) ve SP<sup>TM</sup> - 2560 (100 m x 0.25 mm x 0.2 µm (Supelco, Bellefonte, ABD) kolonu ile analiz edilmiştir. GC-FID çalışma koşulları: taşıyıcı gaz, helyum; akış hızı 0.5 mL/dk; enjeksiyon sıcaklığı, 280 °C; detektör sıcaklığı, 260 °C; fırın sıcaklık programı, başlangıç sıcaklığı 120 °C'de 2 dk tutulup 5 °C/dk ile 220 °C'ye çıkartılıp bu sıcaklıkta 10 dk kalacak şekilde ayarlanmıştır. Sonuçlar TotalChrom Navigator ile değerlendirilmiştir.

### **Sterol Kompozisyonun Belirlenmesi**

Örneklerin sterol kompozisyonu ISO:12228 (1999) yöntemi modifiye edilerek belirlenmiştir. Bu yöntemde göre 1 mL iç standart 5α-kolesten-3β-ol (1000 mg/L) ve 0.5 g yağ örneği vida kapaklı tüpe tartılıp 10 mL doymuş metanollü KOH çözeltisi ile 80°C'de 1 saat boyunca sabunlaştırılmıştır. Sonrasında, 5 mL *n*-hekzan ile 3 kez ekstrakte edilmiştir. Ekstraktın hacmi 10 mL'nin altına düşecek şekilde azot altında uçurulduktan sonra 5 mL saf su ile 3 kez ekstrakte edilmiş ve organik faz *n*-hekzan ile 10 mL'ye tamamlanarak susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile kurutulmuştur. 0.5 mL ekstrakt vial içerisine alınıp, üzerine 250 µL bis(trimetilsilil) trifluoroasetamid / trimetilklorosilan (4:1, v/v) ve 250 µL saf piridin eklenip 60 °C'de 15 dakika türevlendirilmiştir. Hazırlanan örnekler gaz kromatografisi-alev iyonlaşma detektörü (GC-FID) (Perkin Elmer, Autosystem GLX, Shelton, ABD) ve SE-54 [5%-phenyl-1%-vinylmethylpolysiloxane, 30 m x 0.32 mm x 0.25 µm (Agilent, Santa Clara, CA, ABD)] kolonu kullanılarak analiz edilmiştir. GC-FID çalışma koşulları: taşıyıcı gaz, helyum; akış hızı 0.8 mL/dk; enjeksiyon sıcaklığı, 280 °C; detektör sıcaklığı, 300 °C; fırın sıcaklık programı, başlangıç sıcaklığı 60 °C'de 2 dk tutulup 40 °C/dk ile 220 °C'ye çıkartılıp 1 dakika tutulup, 5 °C/dk ile 310 °C'ye arttırılıp bu sıcaklıkta 30 dk kalacak şekilde

ayarlanmıştır. Sonuçlar TotalChrom Navigator ile değerlendirilmiştir.

### **Tokol (Tokoferol ve Tokotrienol) Kompozisyonunun Belirlenmesi**

Tokoferol ve tokotrienoller ISO:9936 (2006) metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Metoda göre hazırlanan örnek floresans detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC-FLD) ve normal-faz kolon [5µm LiCrosorb Si60 25 cm x 4.6 mm i.d. (HiChrom Ltd., Theale, İngiltere)] ile analiz edilmiştir. Kromatografik ayırma isokratik tetrahidrofuran / *n*-heptan (% 3.8, v/v) taşıyıcı ile 1 mL/dk akış hızı uygulanarak yapılmıştır. Kolon sıcaklığı 40 °C'de tutulmuştur. Detektörün dalga boyu uyarılma için 270 nm, emisyon için 310 nm olarak ayarlanmıştır.

### **Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi**

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edilmiştir. Yağdaki fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için Capannes vd. (2000)'nin belirttiği üzere 2.5 g yağ 2.5 mL *n*-hekzan ile seyreltikten sonra metanol / su (80:20, v/v) karışımı ile 5 dk boyunca karıştırılmıştır. Sonrasında 5000 g'de (Hettich Zentrifugen Rotina 420 R, Tuttlingen, Almanya) santrifüj edilen örneğe aynı işlem iki kez daha uygulanmıştır. Yöntemde belirtildiği üzere metanollü ekstraktlara Folin-Ciocalteu ve sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) eklendikten sonra 765 nm'de (FLUOstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Almanya) absorbans değerleri okunup sonuçlar 100 g yağda gallik asit eşdeğer (GAE) olarak verilmiştir.

### **Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Örneklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için, toplam fenolik madde miktarı tespitinde hazırlanan metanollü ekstraktlar fosfat tamponu (75 mM, pH 7.4) ile seyreltilip oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Hidrofilik ORAC değerleri Huang vd. (2002)'nin belirttiği üzere mikropilaka okuyucu kullanılarak (FLUOstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg, Almanya), floresanın azalma eğrisi altında kalan alana göre hesaplanmış olup 100 g yağda Trolox eşdeğer (TE) olarak verilmiştir.

**İstatistiksel Analizler**

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir ( $n=3$ ). Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS istatistiksel bilgisayar programı (SPSS, Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmış ve analiz sonuçlarının varyans analizleri (ANOVA) yapılarak istatistiksel olarak %95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

**SONUÇ VE TARTIŞMA****Yağ Asitleri**

Fıstık örneklerinin yağ içerikleri 50.33-54.00 g/100 g arasında değişmekte olup sonuçlar literatürdeki değerlerle uyumludur (Alasalvar ve Pelvan, 2011; Kashaninejad vd., 2006; Matthäus ve Ozcan, 2006; Miraliakbari ve Shahidi, 2008b; Venkatachalam ve Sathe, 2006). Çizelge 1 incelendiğinde Antep fıstığının en düşük, Siirt bittiminin ise en yüksek toplam yağ değerine sahip olduğu görülmektedir. Yağ örneklerinde toplam sekiz adet yağ asidi tanımlanmış olup, örneklerde %55.78-75.10 oranıyla en fazla oleik asit (18:1 $\omega$ 9) tespit edilmiştir. Diğer yağ asitlerinin miktarları sırasıyla; linoleik asit (18:2 $\omega$ 6c) %12.66-31.00, palmitik asit (16:0) %8.02-9.19 ve stearik asit (18:0) %1.41-3.51 arasında değişmektedir (Çizelge 1). Siirt bittiminin diğer örneklerle kıyasla çok daha

fazla 18:2 $\omega$ 6c içerdiği saptanmıştır. Toplam doymamış yağ asitleri (DYA) oranının %10.64-11.83 aralığında olduğu, tekli doymamış yağ asitlerinin (TDYA) ise %56.85-76.10 aralığı ile en yüksek orana sahip olduğu tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitleri oranının (ÇDYA) %12.91-31.40 arasında değiştiği, doymamış yağ asitlerinin toplamının ise (TDYA+ÇDYA) toplam yağ asitlerinin %87.58-89.12'sini oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde örnekler arasında farklılıklar ( $P < 0.05$ ) gözlenmiştir (Çizelge 1). Analiz edilen tüm örneklerin yüksek oranda doymamış yağ asidi içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir. Ertas vd. (2013) bittim ve fıstığın tohum ve zarında yaptıkları çalışmada, %51.2-67.5 oranıyla en fazla oleik asit (18:1 $\omega$ 9) tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada diğer yağ asitlerinin sırasıyla, linoleik asit (18:2 $\omega$ 6c) %11.5-31.6, palmitik asit (16:0) %7.7-25.8 ve stearik asit (18:0) %2.0-5.6 arasında değiştiği vurgulanmıştır. Matthäus ve Ozcan, (2006)'ın yabancı bittimlerde yaptığı çalışmada en çok bulunan yağ asitleri sırasıyla; %46.9 ile oleik asit (18:1 $\omega$ 9), %21.7 ile linoleik asit (18:2 $\omega$ 6c) ve %21.6 ile palmitik asittir (16:0). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatür ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 1. Bittim ve fıstık örneklerinin yağ oranları (g/100 g) ve yağ asidi kompozisyonları.

Table 1. Oil content (g/100 g) and fatty acid compositions (%) of pistachios and turpentines.

	Antep Fıstığı <i>Antep Pistachio</i>	Siirt Fıstığı <i>Siirt Pistachio</i>	Mardin Bittimi <i>Mardin Turpentine</i>	Siirt Bittimi <i>Siirt Turpentine</i>
Yağ Oranı <i>Oil Content</i>	50.33 $\pm$ 0.11	51.52 $\pm$ 0.57	52.44 $\pm$ 0.19	54.00 $\pm$ 0.07
Yağ Asitleri <i>Fatty Acids</i>				
16:0	8.16 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	8.02 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	8.08 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	9.19 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
16:1	0.55 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.39 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
18:0	2.27 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	2.56 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	3.51 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.41 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>
18:1 $\omega$ 9	71.71 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	75.10 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	66.76 $\pm$ 0.54 <sup>c</sup>	55.78 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>
18:2 $\omega$ 6c	16.07 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	12.66 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	19.30 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>	31.00 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
20:0	0.21 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.21 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
18:3 $\omega$ 3	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.25 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
20:1 $\omega$ 9	0.50 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	0.60 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	0.75 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.51 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
$\Sigma$ DYA $\Sigma$ SFA	10.64	10.79	11.83	10.74
$\Sigma$ TDYA $\Sigma$ MUFA	72.76	76.10	67.90	56.85
$\Sigma$ ÇDYA $\Sigma$ PUFA	16.36	12.91	19.68	31.40

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir ( $n=3$ ).

Aynı satırda verilen farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Kısaltmalar: DYA, doymuş yağ asitleri; TDYA, tekli doymamış yağ asitleri; ve ÇDYA, çoklu doymamış yağ asitleri.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD ( $n=3$ ).

Means  $\pm$  SD followed by different letters, within a row, are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Abbreviations: SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; and PUFA, polyunsaturated fatty acids.

**Steroller**

Fıstık örneklerinden elde edilen yağlarda dokuz adet, bittim örneklerinde ise yedi adet sterol tespit edilmiştir (Çizelge 2). Örnekten bağımsız olarak,  $\beta$ -sitosterolün (Antep fıstığı: 173.50 mg/100g, Siirt fıstığı: 205.90 mg/100g, Siirt bittimi: 148.40 mg/100g ve Mardin bittimi: 152.80 mg/100g) en çok bulunan sterol olduğu; diğer sterollerinse sırasıyla şu şekilde azaldığı:  $\Delta 7$ -stigmastenol,  $\Delta 5$ , 24-stigmastadienol,  $\Delta 5$ -avenasterol+sitostanol, kampesterol,  $\Delta 5,23$ -stigmastadienol, ve  $\Delta 7$ -avenasterol gözlenmiştir. 24-Metilen kolesterol ve stigmasterol ise bittimden elde edilen yağlarda tespit edilmemiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde örnekler arasında farklılıklar ( $P <$

0.05) olduğu gözlenmiştir (Çizelge 2). Örneklerdeki toplam sterol miktarı 205.87 mg/100 g yağ (Siirt bittimi) ve 279.12 mg/100 g yağ (Siirt fıstığı) aralığında tespit edilmiştir. Amerika'da çok tüketilen kuruyemiş ve tohumlarda yapılan çalışmada Antep fıstığı için sterol miktarı 279.00 mg/100 g yağ olarak bulunmuştur (Phillips vd., 2005). Örneklerin sterol miktarı ve kompozisyonundaki değişimlerin; tür, coğrafik orijin, yetiştirme koşulları, olgunluk seviyesi, gübrenin etkisi, hasat zamanı, sezon, toprak türü, iklim, yükseklik ve depolama koşulları gibi pek çok koşula bağlı olduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Alasalvar ve Pelvan, 2011; Matthäus ve Ozcan, 2006).

Çizelge 2. Bittim ve fıstık örneklerinin sterol kompozisyonları (mg/100 g).

Table 2. Sterol compositions (mg/100 g) of pistachios and turpentines.

Sterol Kompozisyonu <i>Sterol composition</i>	Antep Fıstığı <i>Antep Pistachio</i>	Siirt Fıstığı <i>Siirt Pistachio</i>	Mardin Bittimi <i>Mardin Turpentine</i>	Siirt Bittimi <i>Siirt Turpentine</i>
24-Metilen Kolesterol <i>24-Methylene Cholesterol</i>	5.14 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>	4.00 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	nd	nd
Kampesterol <i>Campesterol</i>	5.49 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>	6.85 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	7.94 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	5.87 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>
Stigmasterol <i>Stigmasterol</i>	3.11 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	1.46 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	nd	nd
$\Delta 5,23$ -Stigmastadienol <i><math>\Delta 5,23</math>-Stigmastadienol</i>	4.26 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>	3.36 $\pm$ 0.16 <sup>d</sup>	4.93 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	6.99 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
$\beta$ -Sitosterol <i><math>\beta</math>-Sitosterol</i>	173.50 $\pm$ 21.90 <sup>b</sup>	205.90 $\pm$ 8.00 <sup>a</sup>	152.80 $\pm$ 11.20 <sup>b</sup>	148.40 $\pm$ 10.60 <sup>b</sup>
$\Delta 5$ -Avenasterol + Sitostanol <i><math>\Delta 5</math>-Avenasterol + Sitostanol</i>	12.08 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	9.83 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	10.54 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	12.23 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>
$\Delta 5,24$ -Stigmastadienol <i><math>\Delta 5,24</math>-Stigmastadienol</i>	9.32 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>	18.12 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	18.21 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	17.34 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>
$\Delta 7$ -Stigmastenol <i><math>\Delta 7</math>-Stigmastenol</i>	27.33 $\pm$ 1.72 <sup>a</sup>	24.29 $\pm$ 1.16 <sup>b</sup>	19.42 $\pm$ 1.04 <sup>c</sup>	11.87 $\pm$ 0.51 <sup>d</sup>
$\Delta 7$ -Avenasterol <i><math>\Delta 7</math>-Avenasterol</i>	4.63 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	5.28 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	nd	3.11 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>
$\Sigma$ Sterol <i><math>\Sigma</math> Sterols</i>	244.82 $\pm$ 24.32 <sup>b</sup>	279.12 $\pm$ 9.61 <sup>a</sup>	213.84 $\pm$ 11.53 <sup>c</sup>	205.87 $\pm$ 10.60 <sup>d</sup>

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir ( $n = 3$ ).

Aynı satırda verilen farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

nd: tespit edilemedi  $< 0.01$  mg/kg.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

Means  $\pm$  SD followed by different letters, within a row, are significantly different ( $P < 0.05$ ).

nd: not detected  $< 0.1$  mg/kg.



**Tokoller**

Fıstık örneklerinden elde edilen yağlarda yedi tokol izomeri tespit edilmiştir (Çizelge 3). Tanımlanan tokoller arasında en fazla  $\gamma$ -tokoferol (33.57-43.94 mg/100g) olduğu; diğer tokollerinse sırasıyla  $\gamma$ -tokotrienol ve  $\alpha$ -tokoferol şeklinde azaldığı görülmüştür.  $\beta$ -tokotrienol ise örneklerde tespit edilmemiştir. Tokotrienollerin toplam

tokollerin sadece %2.40-19.10'unu oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde örnekler arasında farklılıklar ( $P < 0.05$ ) gözlenmiştir (Çizelge 3). Toplam tokol miktarlarının Siirt fıstığında 42.73 mg/100 g, Antep fıstığında 47.94 mg/100 g; Mardin bittiminde 57.81 mg/100 g, Siirt bittiminde ise 63.32 mg/100 g olduğu saptanmıştır.

Çizelge 3. Bittim ve fıstık örneklerinin tokol kompozisyonları (mg/100 g).

Table 3. Tocol compositions (mg/100 g) of pistachios and turpentines.

Tokol Kompozisyonu <i>Tocol composition</i>	Antep Fıstığı <i>Antep Pistachio</i>	Siirt Fıstığı <i>Siirt Pistachio</i>	Mardin Bittimi <i>Mardin Turpentine</i>	Siirt Bittimi <i>Siirt Turpentine</i>
$\alpha$ -Tokoferol <i><math>\alpha</math>-Tocopherol</i>	1.01 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	1.80 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	4.83 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	4.92 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
$\beta$ -Tokoferol <i><math>\beta</math>-Tocopherol</i>	0.67 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.73 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.38 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.18 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
$\gamma$ -Tokoferol <i><math>\gamma</math>-Tocopherol</i>	43.57 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	33.57 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	43.24 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	43.94 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
$\delta$ -Tokoferol <i><math>\delta</math>-Tocopherol</i>	1.52 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.18 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>	1.18 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
$\alpha$ -Tokotrienol <i><math>\alpha</math>-Tocotrienol</i>	0.14 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.45 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.70 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
$\beta$ -Tokotrienol <i><math>\beta</math>-Tocotrienol</i>	nd	nd	nd	nd
$\gamma$ -Tokotrienol <i><math>\gamma</math>-Tocotrienol</i>	1.03 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	4.30 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	5.83 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	9.80 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
$\delta$ -Tokotrienol <i><math>\delta</math>-Tocotrienol</i>	nd	0.81 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.90 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.60 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
$\Sigma$ Tokoferol <i><math>\Sigma</math> Tocopherols</i>	46.77 (%97.60)	37.40 (%87.50)	50.63 (%87.60)	51.22 (%80.90)
$\Sigma$ Tokotrienol <i><math>\Sigma</math> Tocotrienols</i>	1.17 (%2.40)	5.33 (%12.50)	7.18 (%12.40)	12.10 (%19.10)
$\Sigma$ Tokol <i><math>\Sigma</math> Tocols</i>	47.94	42.73	57.81	63.32

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir ( $n = 3$ ).

Aynı satırda verilen farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

nd: tespit edilemedi  $< 0.01$  mg/kg.

Parantez içindeki değerler toplam tokol miktarı içindeki yüzdesini belirtmektedir.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ) on a fresh weight basis.

Means  $\pm$  SD followed by different letters, within a row, are significantly different ( $P < 0.05$ ).

nd: not detected  $< 0.01$  mg/kg.

Numbers in parentheses indicate the percentage in the total amount of tocals.

Miraliakbari ve Shahidi (2008b) yaptığı çalışmada kuruyemiş ve tohum yağlarındaki tokoferol miktarlarını incelemişlerdir. Yapılan çalışmada  $\alpha$ -ve  $\gamma$ - tokoferoller, kuruyemiş ve tohum yağlarında en çok bulunan tokoferoller olarak belirtilmiştir. Fıstık yağında  $n$ -hekzan ve kloroform / metanol

ile yapılan ekstraksiyonda toplam tokol miktarları sırasıyla, 33.43 mg/100 g yağ ve 39.77 mg/100 g yağ olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları arasındaki farklılığa neden olan tür, sezon, olgunluk seviyesi, lokasyon, hasat zamanı, toprak tipi gibi pek çok faktör bulunmaktadır.

Matthäus ve Ozcan (2006), 14 bittım yağında tokoferol miktarını incelemiştir. Sonuçlar,  $\alpha$ - ve  $\gamma$ -tokoferolün sırasıyla, ortalama 13.49 mg/100 g ve 13.56 mg/100 g ile en çok bulunan tokoferoller olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ise  $\alpha$ -tokoferolün (Mardin bittımı: 4.83 mg/100 g yağ ve Siirt bittımı: 4.92 mg/100 g yağ);  $\gamma$ -tokoferole göre (Mardin bittımı: 43.24 mg/100 g yağ ve Siirt bittımı: 43.94 mg/100 g yağ) daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir.

### Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Aktivite

Fıstık örneklerinden elde edilen yağların toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri (hidrofilik ORAC yöntemi

kullanılarak) belirlenmiştir (Çizelge 4). Toplam fenolik madde miktarları 3.03-4.52 mg GAE/100 g yağ arasında değişirken, en az Siirt fıstığında en çoksa Mardin bittımında tespit edilmiştir. Miraliakbari ve Shahidi (2008a)'nin kuruyemiş ve tohum yağlarının toplam fenolik madde miktarlarını karşılaştırdıkları çalışmada, Antep fıstığının *n*-hekzan ve kloroform / metanol ile elde edilen ekstraktlarında toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 15.80 ve 37.90 mg GAE/100 g yağ olarak tespit edilmiştir. Bu değerlerin Çizelge 4'te yer alan değerlerden çok yüksek olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon yöntemi, kullanılan çözümler, tür, sezon, olgunluk seviyesi, lokasyon, hasat zamanı, toprak tipi gibi faktörler yağlardaki toplam fenolik madde miktarını etkileyebilmektedir.

Çizelge 4. Bittım ve fıstık örneklerinin toplam fenolik madde miktarları ve ORAC değerleri.

Table 4. Total phenolic contents and ORAC values of pistachios and turpentines.

	Toplam Fenolik Madde Total Phenolics (mg GAE/100 g)	ORAC Değeri ORAC Value ( $\mu$ mol TE/ 100 g)
Antep Fıstığı <i>Antep Pistachio</i>	3.07 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	736.48 $\pm$ 34.14 <sup>c</sup>
Siirt Fıstığı <i>Siirt Pistachio</i>	3.03 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	557.19 $\pm$ 36.57 <sup>b</sup>
Mardin Bittımı <i>Mardin Turpentine</i>	4.52 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>	710.26 $\pm$ 55.38 <sup>c</sup>
Siirt Bittımı <i>Siirt Turpentine</i>	3.38 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	371.23 $\pm$ 33.87 <sup>a</sup>

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir ( $n = 3$ ).

Aynı sütunda verilen farklı harfler istatistiksel açıdan fark olduğunu göstermektedir ( $P < 0.05$ ).

Toplam fenolik madde sonuçları, 100 gram yağda milligram gallik asit eşdeğer (GAE) olarak verilmiştir.

ORAC değerleri, 100 gram yağda mikromol Trolox eşdeğer (TE) olarak verilmiştir.

Data are expressed as mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

Means  $\pm$  SD follow by the same letter, within a column, are not significantly different ( $P < 0.05$ ).

Total phenolics are expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per 100 gram pistacia species oil.

ORAC values are expressed as milligrams of Trolox equivalents (TE) per 100 gram pistacia species oil.

Örneklerin antioksidan aktiviteleri değerlendirildiğinde ise (en düşük değer 371.23  $\mu$ mol TE/100 g ile Siirt bittımı ve en yüksek değer 736.48  $\mu$ mol TE/100 g ile Antep fıstığı) türler arasında istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Miraliakbari ve Shahidi (2008a) tarafından kuruyemiş ve tohum yağlarının (badem, fındık, Pikan cevizi, Brezilya fındığı, çam fıstığı, Antep

fıstığı ve ceviz) ORAC değerlerinin belirlendiği çalışmada Antep fıstığı yağı 224  $\mu$ mol  $\alpha$ -tokoferol eşdeğer sonucu ile dördüncü sırada yer aldığı bildirilmiştir (ilk üç sırasıyla Pikan cevizi, ceviz ve fındık yağı). Birim farklılıkları sebebiyle yapılan çalışmanın sonuçları ile çalışmamızın sonuçları kıyaslanamamıştır.

USDA (2010)'ın zeytinyağında yaptığı çalışmada ORAC değerleri ve toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 106-766 µmol TE/100 g ve 0-10 mg GAE/100 g aralığında değiştiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında; analiz edilen yağların hidrofilik ORAC değerlerinin zeytinyağının değerleri ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların daha önce literatürde verilen değerler ile benzer olduğu görülmüştür. Antep, Siirt ve Mardin yörelerinde yetişen fıstık ve bittimlerden elde edilen yağların, yağda çözünür biyoaktif bileşikler açısından zengin birer kaynak olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple bu yağlar, fonksiyonel gıda ya da kozmetik üretiminde hammadde olarak kullanılabilir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Dicle Kalkınma Ajansı (DİKA) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı DİKA'ya teşekkürlerimizi sunarız.

### KAYNAKLAR

AL-Saghir, M.G., Porter, M.D. (2012). Taxonomic revision of the genus pistacia L. (*Anacardiaceae*). *Am J Plant Sci*, 3: 12-32.

Alasalvar, C., Pelvan, E. (2011). Fat-soluble bioactives in nuts. *Eur J Lipid Sci Technol*, 113(8): 943-949.

Alasalvar, C., Shahidi, F. (2009). Natural antioxidants in tree nuts. *Eur J Lipid Sci Technol*, 111(11): 1056-1062.

Barbour, J.A., Howe, P.R.C., Buckley, J.D., Bryan, J., Coates, A.M. (2014). Nut consumption for vascular health and cognitive function. *Nutr Res Rev*, 27: 131-158.

Bolling, B.W., Chen, C-Y. O., McKay, D.L., Blumberg, J.B., (2011). Tree nut phytochemicals: Composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutr Res Rev*, 24: 244-275.

Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Surmaghi, M.H.S., Shams-Ardekani, M., Rahimi, R. (2013). Five Pistacia species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P.*

*terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*: a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *Sci World J*, 2013: 1-33.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., Parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chem*, 71(4): 553-562.

Catalan, L., Alvarez-Orti, M., Pardo-Gimenez, A., Gomez, R., Rabadan, A., Pardo, J.E (2017). Pistachio oil: A review on its chemical composition, extraction systems, and uses. *Eur J Lipid Sci Technol*, 119(5): 1-8.

Durmaz, G., Gokmen, V. (2011). Changes in oxidative stability, antioxidant capacity and phytochemical composition of Pistacia terebinthus oil with roasting. *Food Chem*, 128(2): 410-414.

Ertas, E., Bekiroglu, S., Ozdemir, I., Demirtas, I. (2013). Comparison of fatty acid, sterol, and tocol compositions in skin and kernel of turpentine (*Pistacia terebinthus* L.) Fruits. *J Am Oil Chem Soc*, 90(2): 253-258.

FAO (2016). FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Accessed: 09 January 2018).

Gogus, F., Ozel, M., Kocak, D., Hamilton, J., Lewis, A. (2011). Analysis of roasted and unroasted Pistacia terebinthus volatiles using direct thermal desorption-GCxGC-TOF/MS. *Food Chem*, 129(3): 1258-1264.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Prior, R.L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem*, 50: 4437-4444.

ISO 659 (2009). Oilseeds-Determination of oil content.

ISO 9936 (2006). Animal and vegetable fats and oils-determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography.

- ISO 12228 (1999). Animal and vegetable fats and oils-determination of individual and total sterols contents Gas chromatographic method.
- ISO 12966-2 (2011). Animal and vegetable fats and oils-Gas chromatography of fatty acid methyl esters-Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids.
- Kafkas, S. (2006). Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* by AFLP markers. *Plant Syst Evol*, 262(1-2): 113-124.
- Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A., Tabil, L. (2006). Some physical properties of Pistachio (*Pistacia vera* L.) nut and its kernel. *J Food Eng*, 72(1): 30-38.
- Matthäus, B., Ozcan, M.M. (2006). Quantitation of fatty acids, sterols, and tocopherols in turpentine (*Pistacia terebinthus* Chia) growing wild in Turkey. *J Agric Food Chem*, 54(20): 7667-7671.
- Miraliakbari, H., Shahidi, F. (2008a). Antioxidant activity of minor components of tree nut oils. *Food Chem*, 111(2): 421-427.
- Miraliakbari, H., Shahidi, F. (2008b). Lipid class compositions, tocopherols and sterols of tree nut oils extracted with different solvents. *J Food Lipids*, 15(1): 81-96.
- Parfitt, D., Badenes, M. (1997). Phylogeny of the genus *Pistacia* as determined from analysis of the chloroplast genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(15): 7987-7992.
- Phillips, K., Ruggio, D., Ashraf-Khorassani, M. (2005). Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. *J Agric Food Chem*, 53(24): 9436-9445.
- Seeram, N.P., Zhang, Y., Bowerman, S., Heber, D. (2009). Phytochemicals and health aspects of pistachio (*Pistacia vera* L.). In: *Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health Effects*, Alasalvar, C., Shahidi, F. (Eds.), FL (USA): CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Ternus, M.E., Lapsley, K., Geiger, C.J. (2009). Health benefits of tree nuts. In: *Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health Effects*, Alasalvar, C., Shahidi, F. FL (USA): CRC Press, Taylor & Francis Group.
- USDA (2010), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods, Release 2, May 2010; U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD.
- Venkatachalam, M., Sathe, S. (2006). Chemical composition of selected edible nut seeds. *J Agric Food Chem*, 54(13): 4705-4714.
- Yazicioglu, T., Karaali, A. (1983). On the fatty acid composition of Turkish vegetable oils. *Eur J Lipid Sci Technol*, 85(1): 23-29.
- Yildiz, M., Gurcan, S., Ozdemir, M. (1998). Oil composition of pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) from Turkey. *Eur J Lipid Sci Technol*, 100(3): 84-86.
- Zhang, J., Kris-Etherton, P., Thompson, J., Heuvel, J. (2010). Effect of pistachio oil on gene expression of IFN-induced protein with tetratricopeptide repeats 2: A biomarker of inflammatory response. *Mol Nutr Food Res*, 54: 83-92.

## ÇİYA TOHUMUNDAN ULTRASON DESTEKLİ YAĞ EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU

Sultan Arslan Tontul<sup>1\*</sup>, Ceren Mutlu<sup>2,3</sup>, Andaç Koç<sup>3</sup>, Mustafa Erbaş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Balikesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / Received: 08.01.2018; Kabul / Accepted: 15.03.2018; Online baskı / Published online: 04.04.2018

Arslan Tontul, S., Mutlu, C., Koç, A., Erbaş, M. (2018). Çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonunun optimizasyonu. *GIDA* (2018) 43 (3): 393-402 doi: 10.15237/gida.GD18013

Arslan Tontul, S., Mutlu, C., Koç, A., Erbaş, M. (2018). Optimization of ultrasound assisted oil extraction from chia seeds. *GIDA* (2018) 43 (3): 393-402 doi: 10.15237/gida.GD18013

### ÖZ

Bu çalışmada çiya tohum yağının, ultrason destekli ekstraksiyon sisteminde eldesi ve uygulama sırasındaki ekstraksiyon parametrelerinin (ultrason gücü, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresi) cevap yüzey metodu kullanılarak optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucuna göre, modelin sadece ekstraksiyon verimi üzerine etkili olduğu ancak peroksit sayısı ve serbest yağ asitliği değerleri üzerinde etkili olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan deneme desenine göre elde edilen ekstraksiyon verimi, peroksit değeri ve serbest yağ asitliği değerlerinin sırasıyla 36.19-49.45/100 g yağ, 0.33-7.33 mEqnO<sub>2</sub>/kg ve %1.13-2.26 arasında değiştiği belirlenmiştir. Optimizasyon sonucunda ise en yüksek yağ verimi olan %49.45 değerine; yaklaşık %75 ultrason gücünde, 25 dakikalık ekstraksiyon süresinde ve 55°C ekstraksiyon sıcaklığında ulaşılabileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Çiya, omega-3, ultrason, optimizasyon, cevap yüzey metodu

## OPTIMIZATION OF ULTRASOUND ASSISTED OIL EXTRACTION FROM CHIA SEEDS

### ABSTRACT

In this study, chia seed oil was obtained in ultrasound assisted extraction technique and extraction parameters (ultrasound power, extraction temperature and extraction time) was optimized by using response surface method. According to the results of statistical analysis, it was found that the model was only effective on extraction yield it did not affect the number of peroxides and free fatty acid values. In addition, according to experimental design used in the study, it was determined that extraction yield, peroxide and free fatty acid value were 49.45/100 g oil, 0.33-7.33 mEqnO<sub>2</sub>/kg and 1.13-2.26%, respectively. As a result of the optimization, the highest oil yield was 49.45% and this value could be ensured at 75% ultrasound power and at the temperature of 55°C for 25 minutes.

**Key words:** Chia, omega-3, ultrasound, optimization, response surface method

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ sultan.arslan@selcuk.edu.tr,

☎ (+90) 332 223 2937,

☎ (+90) 332 241 0108

## GİRİŞ

Çiya (*Salvia hispanica* L.), *Lamiaceae* familyasına ait tek yıllık otsu bir bitkidir (Magali Alvarez-Chavez vd., 2008; Martinez vd., 2012; Magdalena Julio vd., 2015; Bodoira vd., 2017; Dabrowski vd., 2017; Oliveira-Alves vd., 2017). Bitkinin asıl anavatanı Meksika ve Guatemala olup kullanımına bağlı olarak artan ilgi nedeniyle ekim alanları genişletilmiş ve Arjantin, Kolombiya, Ekvador, Peru, Bolivya ve Paraguay gibi Güney Amerika ülkelerine de yayılmıştır (Magdalena Julio vd., 2015; Oliveira-Alves vd., 2017). Çiya tohumları, sahip oldukları yüksek biyoaktif bileşikler nedeniyle tane halinde veya öğütüldükten sonra meyve suyu, yoğurt, fırıncılık ürünleri, salata ve sporcu besini gibi farklı gıdalara katılarak tüketilebilmektedir (Imran vd., 2016; Oliveira-Alves vd., 2017; Timilsena vd., 2017).

Çiya tohumu, %38-40 oranına kadar çıkabilen yüksek yağ içeriği ile bilinmekte olup bu yağ miktarı yetiştirildiği bölgeye ve iklime göre değişiklik gösterebilmektedir (Magali Alvarez-Chavez vd., 2008; Martinez vd., 2012; de Mello vd., 2017; Timilsena vd., 2017). Tohum yağında bulunan en önemli biyoaktif grubu ise bir omega-3 esansiyel yağ asiti olan linolenik asit oluşturmaktadır (Magali Alvarez-Chavez vd., 2008; Martinez vd., 2012; Magdalena Julio vd., 2015; Bodoira vd., 2017; Dabrowski vd., 2017; de Mello vd., 2017; Oliveira-Alves vd., 2017). Yapılan çalışmalarda çiya tohumu yağı kompozisyonunun yaklaşık %60'dan fazlasının linolenik asitten oluştuğu bildirilmiştir (Ayerza 1995; Magali Alvarez-Chavez vd., 2008; Imran vd., 2016; Bodoira vd., 2017). Omega-3 yağ asitlerinin, kalp-damar hastalıklarının, astım, diyabet, hipertansiyon ve retinal bozuklukların önlenmesinde ve beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde faydalı olduğu bilinmektedir (Ayerza 1995; Magali Alvarez-Chavez vd., 2008; O' Dwyer vd., 2013; Bodoira vd., 2017). Son yıllarda omega-3 esansiyel yağ asitlerinin bu tür yararlı sağlık etkileri nedeniyle fonksiyonel ürün geliştirme çalışmalarında, çiya tohumuna gösterilen ilgi de artmıştır (Magdalena Julio vd., 2015). Bu ilginin bir başka nedeni ise tüketicilerin, en temel omega-3 kaynağı olarak bilinen balığa alternatif yeni kaynak arayışına girmeleridir.

Çünkü son zamanlarda sanayinin gelişmesi ile birlikte balık yetiştirilen tatlı ve tuzlu su alanları, hızla ağır metal ve organik kimyasallar ile kirletilmiştir. Bu nedenle üretici ve tüketiciler omega-3 kaynağı olarak kullanılacak başka bitkisel materyallere yönelmiştir (Smutna vd., 2009; Timilsena vd., 2017).

Çiya tohumu, omega-3 yağ asitlerinin yanında yapısında bulundurduğu yüksek miktarda mineral, protein, diyet lif ve fenolik bileşikler ile de önem kazanmıştır (Martinez vd., 2012; Magdalena Julio vd., 2015; Oliveira-Alves vd., 2017). Ayrıca tohum dışını saran ve yapısında glikoz ve metil glukuronik asit bulunduran, sulu ortamlarda jel oluşturan polisakkaritler nedeniyle de kıvam arttırıcı olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Magali Alvarez-Chavez vd., 2008). Bu alanda yapılan çalışmalar her yıl hızla artmakta olup son 3 yılda ise konu ile ilgili olarak yaklaşık 500 adet makale yayınlanmıştır (ISI 2017). Çiya tohumu sahip olduğu bu tür biyolojik ve teknolojik etkileri nedeniyle, sağlık hassasiyeti yüksek ve iyi beslenme alışkanlığına sahip bireyler arasında önemli bir besin takviyesi rolü üstlenmektedir (Magali Alvarez-Chavez vd., 2008).

Tohumlardan yağ eldesi günümüzde genellikle soğuk/sıcak pres veya çözücü ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilmektedir (Shalmashi 2009; Martinez vd., 2012; Dabrowski vd., 2017). Presleme genellikle yüksek enerji tüketimine karşın düşük verim sağlamakta olup çözücü ekstraksiyonunda ise çevreye zararlı kimyasalların kullanımı ve ekstraksiyon süresinin uzun olması gibi bir takım sıkıntılar bulunmaktadır (Shalmashi 2009). Bu iki yöntemin dışında ise daha maliyetli teknikler olan enzimatik ve süperkritik karbondioksit altında ekstraksiyon yöntemlerine de başvurulabilmektedir (Martinez vd., 2012; Li vd., 2015; de Mello vd., 2017). Son yıllarda tohumlardan yağ eldesinde bu tür tekniklerde karşılaşılan sıkıntılar nedeniyle, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanmaya başlanmıştır (Shalmashi 2009; Li vd., 2015).

Bu yöntemin temel prensibi, ses dalgaları nedeniyle ortaya çıkan akustik kavitasyonlar ve hidrostatik basınç nedeniyle daha fazla miktarda

çözücü transferine imkan tanıyarak ekstraksiyon etkinliğinin ve veriminin artırılmasına dayanmaktadır (Shalmashi 2009; Barizao vd., 2015; Hernandez-Santos vd., 2016). Günümüzde ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi; sadelik, ekipman ucuzluğu, çözücü miktarının azaltılabilmesi, endüstriyel ölçeğe uyarlanabilme, daha düşük sıcaklıklarda ve sürede çalışma imkanı sağlaması gibi çeşitli avantajları nedeniyle geleneksel ekstraksiyon yöntemleri yerine tercih edilmektedir (Abdullah and Koc 2013; Samaram vd., 2013; Barizao vd., 2015; Li vd., 2015; de Mello vd., 2017). Yapılan bir çalışmada ultrason destekli ekstraksiyonun, geleneksel yöntem ile kıyaslandığında 30 dakika gibi kısa bir sürede önemli bir miktarda papaya tohum yağı eldesine imkan tanıdığı tespit edilmiştir (Samaram vd., 2013). Ayrıca düşük sıcaklıklarda ve sürelerde çalışma imkanı sağlaması bu yöntemi, sıcaklık hassasiyeti yüksek biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için aranan bir teknik haline getirmiştir (Shalmashi 2009). Tüm bunlara ilaveten ultrason destekli ekstraksiyon sistemleri; enerji tüketimini azaltması ve yenilenebilir doğal çözücülerin kullanımına imkan tanıması yönleriyle de yeşil ve ekonomik bir ekstraksiyon yöntemi olarak kabul edilmektedir (Hernandez-Santos vd., 2016; Castejon vd., 2018).

Tohum yağı ekstraksiyonu sırasında verim üzerine, kullanılan çözücünün türü, uygulanan sıcaklık ve ekstraksiyon süresi gibi faktörler son derece etkili olabilmektedir (Barizao vd., 2015). Bu nedenle tercih edilecek ekstraksiyon parametrelerinin iyi seçilmesi ve optimize edilmesi zorunlu hale gelmektedir. İlgili parametreler çok değişkenli istatistiksel metotlarla optimize edilebilmekte olup son dönemde bu amaçla cevap yüzey metodu yaygın olarak kullanılmaktadır (Barizao vd., 2015). Cevap yüzey metodu optimizasyonunda temel amaç; bağımsız farklı birçok değişkenin birbirleri ile olan interaksiyonlarının bir veya daha fazla hedef veriye olan etkilerinin bir araya getirilerek anlamlı sonuçlar elde edilebilmesidir (Koç and Kaymak-Ertekin 2009; Li vd., 2015). Bu teknikteki en önemli avantaj ise faktöriyel dizayn ile karşılaştırıldığında daha az sayıdaki deneme ile sonucun elde edilebilmesidir (Li vd., 2015).

Yapılan literatür taramasında daha önce yapılan çalışmalarda ultrason destekli ekstraksiyonda ultrason gücü, süresi ve sıcaklık parametrelerinin çay tohumu (Shalmashi 2009), papaya çekirdeği (Samaram vd., 2013; Samaram vd., 2015), karpuz çekirdeği (Bimacr vd., 2012), nar çekirdeği (Barizao vd., 2015) ve kabak çekirdeği (Hernandez-Santos vd., 2016) gibi farklı bitkisel materyallerden elde edilen yağların ekstraksiyon verimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Ancak yapılan literatür çalışmasında çiya tohumlarından ultrason destekli yağ eldesine dair yalnızca bir çalışmaya (de Mello vd., 2017) rastlanmış olup bu çalışmada da ultrason gücünün etkilerinin araştırılmadığı görülmüştür. Ayrıca bu konuda yürütülmüş ulusal literatürde yer alan herhangi bir çalışma da tespit edilememiştir. Bu nedenlerle ilgili çalışmada çiya tohumu yağının, ultrason destekli ekstraksiyon sisteminde eldesi ve kullanılacak parametrelerin (ultrason gücü, uygulanan sıcaklık ve ekstraksiyon süresi) optimizasyonu amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada kullanılan çiya tohumu (*Salvia hispanica* L.) paketli olarak yerel bir marketten temin edilmiştir. Tohumlar bir blender (7011HG, Waring, New Hartford, ABD) yardımı ile öğütüldükten sonra 1.40 mm'lik elekten geçirilerek, sızdırmaz kilitli poşetlerde ve +4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Örneklerin ekstraksiyon işlemleri, öğütüldükten sonra aynı gün içerisinde gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasallar ise Merck (Darmstadt, Almanya) ve Sigma (Taufkirchen, Almanya) firmalarından temin edilmiştir.

### Yöntem

#### Çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonu

Araştırmada, yağ ekstraksiyonu ultrasonik özellikte su banyosu (DL102H, Bandelin, Berlin, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öğütülmüş tohum örneklerinden, vida kapaklı 100 mL ölçeğindeki cam şişeler içerisine yaklaşık 10 g tartılmış ve üzerine 50 mL hekzan ilave edilmiştir. Örnek şişeleri, saf su doldurulmuş su banyosu içerisine yerleştirilerek ekstraksiyon

gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sırasında kullanılan; ultrason gücü, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık değerleri Design Expert 8 (Stat-Ease Co., Mineapolis, ABD) istatistik programı kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraksiyondan sonra örnekler santrifüj tüpüne aktarılmış ve 7500 rpm dönüş hızında 5 dakika santrifüj edilerek katı fazın ayrılması sağlanmıştır. Santrifüj yardımıyla ayrılan üst faz, evapore edilerek hekzan uçurulmuş ve çiya tohum yağı ayrılmıştır. Elde edilen tohum yağları tüplere alınarak analiz edilene kadar +4°C'de karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

### Deneme deseni ve cevap yüzey metodu

Çalışma Box-Benken Deneme Desenine göre yürütülmüş olup, bağımsız değişken olarak ultrason gücü, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı (sırasıyla  $X_1$ ,  $X_2$  ve  $X_3$ ) seçilmiş ve bu değişkenlerin maksimum, minimum ve orta noktaları Çizelge 1'de verilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen bağımlı değişkenler ise verim ( $Y_1$ ), peroksit sayısı ( $Y_2$ ) ve serbest asitlik değeri ( $Y_3$ ) olarak belirlenmiştir. Deneysel verilerin en uygun olduğu matematik modelin kuadratik model olduğu belirlenmiş olup bu modele ait katsayılar aşağıdaki eşitlik (Eşitlik 1) ile hesaplanmıştır.

$$Y_1 = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \epsilon \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Çizelge 1. Ekstraksiyon deneme deseninde kullanılan parametreler  
Table 1. Parameters used in experimental design of extraction

Değişkenler <i>Variables</i>	Minimum (-1) <i>Minimum</i>	Orta Nokta (0) <i>Medium</i>	Maksimum (+1) <i>Maximum</i>
Ultrason gücü (%) <i>Ultrasound power (%)</i>	60	80	100
Ekstraksiyon süresi (dk.) <i>Extraction time (min.)</i>	10	20	30
Sıcaklık (°C) <i>Temperature (°C)</i>	30	45	60

Bu eşitlikte  $\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_{11}$ ,  $\beta_{22}$ ,  $\beta_{33}$ ,  $\beta_{12}$ ,  $\beta_{13}$  ve  $\beta_{23}$  cevap değerlerine ait regresyon katsayılarını ifade etmektedir. Elde edilen analiz verileri çoklu regresyon metodu ile analiz edilmiştir. Model yeterliliği;  $R^2$ , düzeltilmiş  $R^2$  ve uyum eksikliği (lack-of-fit) testleri Design Expert 10 (Stat-Ease Inc. USA) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İlgili çalışmada çoklu regresyon analizine göre önemli ( $P < 0.05$ ) olan katsayılar incelenmiştir.

### Ham yağ tayini

Çiya tohumlarının toplam yağ miktarı kontrol olarak kullanılmak üzere, Soxhlet yöntemi ile belirlenmiştir (AACC 1987).

### Nem miktarı

Çiya tohumlarının nem miktarı, örneklerin öğütüldükten sonra 105°C etüvde sabit tartıma gelene kadar bekletilmesi sonucunda % olarak belirlenmiştir (AACC 1975).

### Ekstraksiyon verimi

Verim değeri, ekstraksiyon sonunda elde edilen yağ miktarının tohum örneklerinin toplam yağ miktarına oranlanması sonucunda g/100 g yağ olarak hesaplanmıştır.

### Peroksit analizi

Ekstraksiyonlardan elde edilen çiya tohum yağlarının peroksit analizi için, 0.3 g yağ üzerine 10 mL asetik asit/izooktan (3:2) karışımı ilave edilerek bir girdap karıştırıcıda karıştırılmıştır. Ardından karışım üzerine 0.5 mL doymuş potasyum iyodür çözeltisi ilave edilmiş ve 1 dakika beklemeye bırakılmıştır. Süre sonunda karışım üzerine 10 mL saf su ilave edilmiş ve 0.002 N sodyum tiyosülfat ile kolorimetrik olarak titre edilmiştir. Titrasyon sırasında indikatör olarak ise %0.5'lik nişasta çözeltisi kullanılmıştır (Tontul 2011).



**Serbest yağ asitliği analizi**

Çiya tohumu örneklerinden elde edilen yağın serbest asitlik değeri, tartılan 0.5 g örneğin 2 mL etil alkol/dietil eter (1:1) çözeltisi ile karıştırılmasından sonra 0.1 N potasyum hidroksit ile titrasyonu sonucunda belirlenmiştir (Gölükçü 2006).

**BULGULAR VE TARTIŞMA**

**Ekstraksiyon sonucunda elde edilen yağın kimyasal özellikleri**

Belirlenen bağımsız değişkenler ile yürütülen yağ ekstraksiyonu çalışması sonucunda elde edilen analiz sonuçları Çizelge 2’de verilmektedir. Çalışmada kontrol olarak kullanılan ve Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilen yağ ekstraksiyonu sonucunda, tohumların yağ miktarının 42.24 g/100 g kurumadde olduğu

belirlenmiştir. Ultrason destekli yağ ekstraksiyonu denemelerinde ise çiya tohumlarının içerdiği bu yağın, 36.22-49.45%’inin ekstrakte edilebildiği belirlenmiştir. Analiz sonuçlarından anlaşılacağı üzere geleneksel yöntemde daha yüksek yağ verimi elde edilmekle birlikte bu sonucun tam tersini ortaya koyan çalışmalar da literatürde bulunmaktadır. Benzer yağ verimi değerleri farklı çözücülerde ultrason destekli ekstraksiyon yöntemini deneyen Castejon vd., (2018) tarafından da elde edilmiştir. Çiya tohumu ile yapılan bir çalışmada, ultrason uygulamasının geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemine göre yağ verimini %20 oranında arttırdığı bildirilmiştir (de Mello vd., 2017). Başka bir çalışmada ise keten tohumu yağ veriminin ultrason uygulaması ile %17 oranında daha fazla geri kazanılabildiği rapor edilmiştir (Zhang vd., 2008).

Çizelge 2. Deneme desenine göre elde edilen analiz sonuçları  
Table 2. Analysis results obtained according to the experimental design

Deneme (Run)	X <sub>1</sub> (Güç) (Power)	X <sub>2</sub> (Süre) (Time)	X <sub>3</sub> (Sıcaklık) (Temperature)	Verim (g/100 g yağ) (Yield)	Peroksit değeri (mEqO <sub>2</sub> /kg) (Peroxide value)	Serbest yağ asitliği (% oleik asit) (Free fatty acid)
1	80	10	30	39.81	0.67	1.13
2	100	10	45	40.67	1.00	2.25
3	80	30	30	42.94	1.00	2.26
4	60	20	60	46.89	0.33	2.26
5	80	20	45	49.45	1.00	1.13
6	80	20	45	48.88	1.33	1.13
7	60	30	45	44.03	0.33	1.69
8	60	20	30	36.22	0.33	2.26
9	80	10	60	42.96	2.00	1.70
10	60	10	45	36.19	5.33	1.13
11	80	20	45	48.66	1.33	1.13
12	80	30	60	46.80	5.00	1.69
13	100	20	60	37.65	2.67	1.69
14	100	20	30	40.28	6.67	2.26
15	100	30	45	41.86	7.33	1.13

Çiya tohumlarının nem içeriği, 7.47 g/100 g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ekstraksiyon sırasında uygulanan güç, süre ve sıcaklık değerlerinin peroksit değerinde oldukça farklı sonuçlar verdiği (0.33-7.33 mEqnO<sub>2</sub>/kg) belirlenmiştir. Bu sonucun nedeni ise doymamış yağ asidi içeriği yüksek olan çiya tohum yağının ekstraksiyonu sırasında uygulanan ultrason nedeni ile ortaya çıkan kavitasyonların, oksidasyon üzerinde

arttırıcı etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çizelge 2’de görüldüğü üzere en yüksek ultrason gücü uygulaması olan %100 değerinde ve en uzun ekstraksiyonu süresi olan 30 dakikalık işlem süresinde peroksit değeri 7.33 mEqnO<sub>2</sub>/kg değerine ulaşmıştır. Zhang vd., (2017), fıstık yağı eldesinde ultrason uygulamasının, geleneksel yöntem ile elde edilen kontrol örneğine göre peroksit değerini

arttırdığını tespit etmiştir. Yapılan bir çalışmada petrol eteri ile ekstrakte edilen çiya tohumu yağının peroksit değerinin 4.33 mEq O<sub>2</sub>/kg olduğu tespit edilmiştir (Timilsena vd., 2017).

Çalışmada elde edilen çiya tohum yağının serbest yağ asitliği değerinin ise oleik asit cinsinden %1.13 ile 2.26 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Farklı teknikler ile çiya tohumundan yağ eldesinin amaçlandığı bir çalışmada serbest asitlik değerinin benzer olarak 1.4-1.9 mg KOH/g olarak değiştiği belirlenmiştir (Dabrowski vd., 2017).

### Ekstraksiyon parametrelerinin verim üzerine etkisi

Elde edilen verilerin cevap yüzey metodu sonucuna göre, modelin sadece ekstraksiyon verimi üzerine önemli ( $P < 0.05$ ) bir etkide bulunduğu, ancak peroksit sayısı ve serbest yağ asitliği değeri üzerine önemli ( $P > 0.05$ ) bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle optimizasyon işlemi yalnızca ekstraksiyon verimini maksimize edecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon verimi değerlerine ait regresyon katsayıları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Ekstraksiyon verimi değerlerine ait regresyon katsayıları

Table 3. Regression coefficients of extraction yield values

Bağımsız değişkenler <i>Variables</i>	Regresyon katsayısı <i>Regression coefficients</i>	P değeri <i>P value</i>
Sabit ( <i>Intercept</i> )	49.00	0.0023*
$X_1$	-0.36	0.4562
$X_2$	2.00	0.0065*
$X_3$	1.88	0.0084*
$X_1 \cdot X_2$	-1.66	0.0463*
$X_1 \cdot X_3$	-3.33	0.0033*
$X_2 \cdot X_3$	0.17	0.7930
$X_1^2$	-5.59	0.0004*
$X_2^2$	-2.72	0.0090*
$X_3^2$	-3.15	0.0049*
$R^2$	0.9716	
Düzeltilmiş $R^2$ ( <i>Adjusted R<sup>2</sup></i> )	0.9214	
Uyum eksikliği ( <i>Lack of fit</i> )	0.0609	

Varyans analiz sonuçlarına göre; yağ ekstraksiyonu üzerine, doğrusal olarak ekstraksiyon süre ve sıcaklığının, ultrason gücünün süre ve sıcaklık ile interaksyonlarının ve kuadratik olarak üç değişkenin de önemli düzeyde etkili ( $P < 0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. Modelin doğruluğunu ifade eden  $R^2$  değerinin 0.92 olarak tespit edilmesi ise modelin deneysel tahmin kapasitesinin yüksek olduğunu ifade etmektedir.

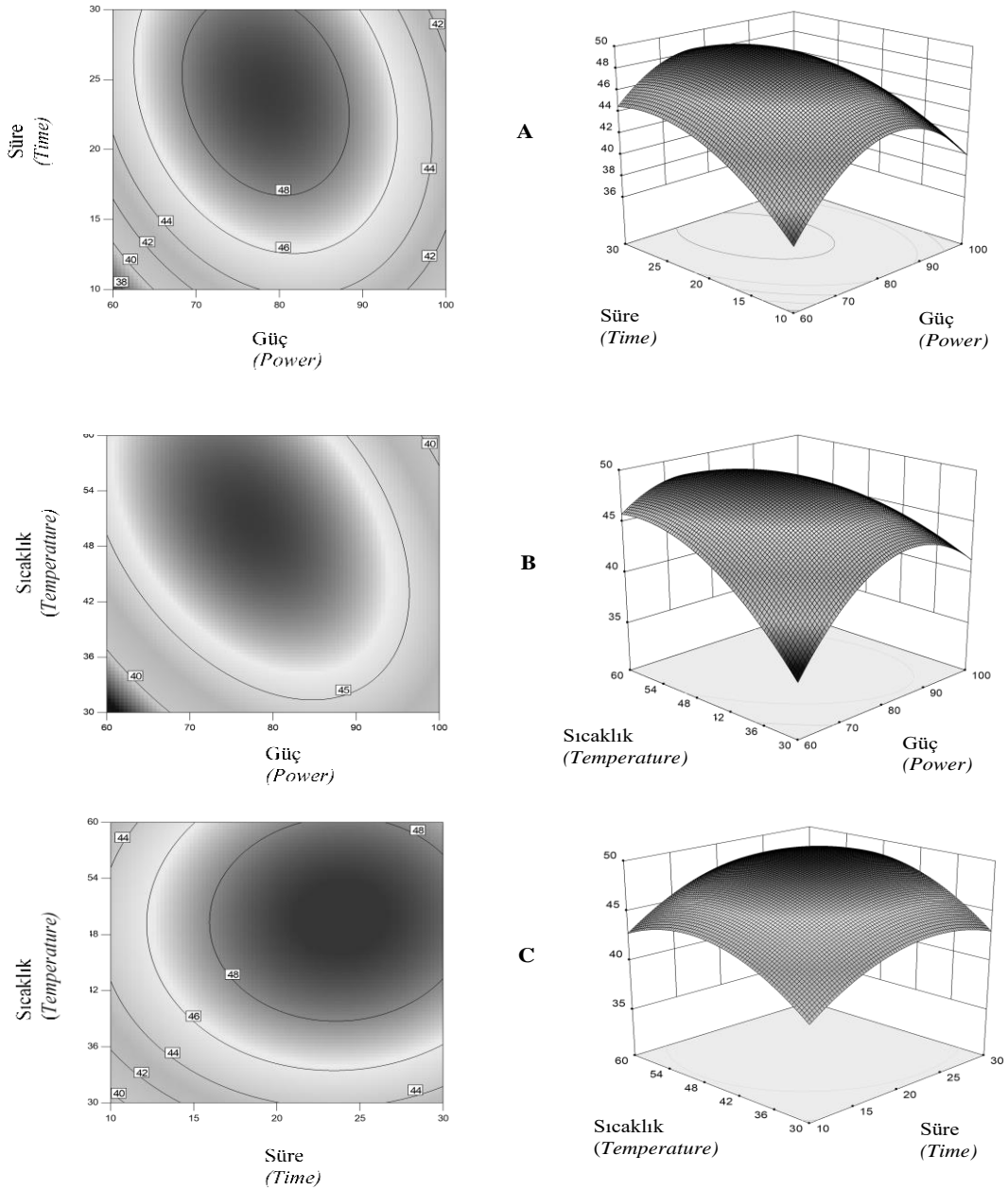
### Verim üzerine güç ve süre interaksyonunun etkisi

Yağ verimi üzerine, güç ve sürenin etkisi Şekil 1A'da gösterilmektedir. Şekilden de anlaşılacağı üzere çiya tohum yağı eldesinde, %80'e varan ultrason gücü uygulamasının uzayan ekstraksiyon süresi ile birlikte verim üzerine pozitif bir etkisinin

olduğu; ancak artan güçlerde ise negatif bir etkide bulunduğu görülmektedir. Bu etkinin temel nedeni ise, artan ultrason gücü kaviteasyonları arttırmakta olup bu etki sonucu oluşan baloncuklar daha yüksek enerji ve hızda patlamaktadır. Bu baloncuk oluşum ve patlama mekanizması ise çözücünün bitkisel hücre materyali içerisine girişimini arttırmakta ve böylece daha fazla miktarda yağ materyalden çözünerek ortama salınmaktadır (Shalmashi 2009; Samaram vd., 2015). Ancak artan ultrason gücünün zamanla verimi düşürmesinin nedeni ise artan kaviteasyon oranı ile doğru orantılı bir şekilde ortamdaki baloncuk yoğunluğunun artması ve bu etki sonucunda çözgen-doku interaksyonunun azalması nedeniyle yağ salınımının azalmasından

kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer bir şekilde çay tohumlarından ultrason destekli yağ ekstraksiyonu çalışmasında, artan ultrason gücünün ekstraksiyon verimini arttırdığı ancak 50 W'lık artıştan sonra verim üzerine önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Shalmashi

2009). Benzer sonuçlar Li vd., (2015) tarafından da tespit edilmiş olup ultrason destekli perilla tohumlarından yağ eldeğinde 400 W'a kadar uygulanan ultrason gücünün yağ verimini arttırdığı ancak bu güçten sonra herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Li vd., 2015).



Şekil 1. Çiya tohum yağı ekstraksiyonunda kullanılan bağımsız değişken etkileşimlerinin verim üzerine etkisine ait iki ve üç boyutlu grafikler

Figure 1. Two and three dimensional graphs of the effects of independent variable interactions on yield, used in chia seed oil extraction

### **Verim üzerine sıcaklık ve güç interaksiyonunun etkisi**

Ultrason gücü ile ilgili belirlenen yukarıda bahsedilen durum, Şekil 1B'de sıcaklık ve güç interaksiyonunda da görülmektedir. Artan ekstraksiyon sıcaklığı değerleri yağ verimini pozitif yönde etkilerken %80 değerinin üzerinde uygulanan ultrason gücü ise negatif yönde etkili olmuştur. Ayrıca düşük ekstraksiyon sıcaklığının (<36 °C) ise ultrason gücünden bağımsız olarak verimi etkilemediği de tespit edilmiştir. Samaram vd., (2015) ultrason destekli yağ ekstraksiyonu çalışmasında ekstraksiyon sıcaklığının optimizasyonda belirleyici olan en önemli parametre olduğunu rapor etmiştir. Bu durum ise sıcaklık artışı ile yağın çözünürlüğünün artması ve çözücü viskozitesinin azalması ile birlikte kütle transfer hızının artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Barizao vd., 2015; de Mello vd., 2017). Benzer bir şekilde çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonu çalışmasında artan sıcaklıkla doğru orantılı olarak yağ veriminin de arttığı tespit edilmiştir (de Mello vd., 2017).

Sürekli artan ekstraksiyon sıcaklıklarında ise belli bir sıcaklık değerinin üstünde yağ veriminde herhangi bir değişiklik tespit edilemediği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada artan sıcaklığın ekstraksiyon verimini arttırdığı ancak 60°C'nin üzerindeki sıcaklıkların ise verimi düşürdüğü tespit edilmiştir (Shalmashi 2009). Li vd., (2015) ise perilla yağı ekstraksiyonunda ultrason altında 40°C'ye kadar yağ veriminde bir artış olduğu ancak ilerleyen sıcaklıklarda ise herhangi bir artış tespit edilemediğini bildirmiştir (Samaram vd., 2015).

### **Verim üzerine sıcaklık ve süre interaksiyonunun etkisi**

Ekstraksiyon verimi üzerine sıcaklık ve süre interaksiyonunun etkisi ise Şekil 1C'de verilmiştir. Artan sıcaklık ve süre değerlerinde çiya tohumundan daha fazla yağ elde edilebildiği ancak limit sıcaklık ve süre değerlerinin (<36 °C ve 15 dk) ise ekstraksiyon verimine etki etmediği tespit edilmiştir. Sıcaklık artışından bağımsız olarak 15 dakikanın altındaki ekstraksiyon sürelerinde verim artışı sağlanamamaktadır. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiş olup

yapılan bir çalışmada ultrason uygulaması altında süre artışının verimi belli bir noktadan sonra etkilemediği tespit edilmiştir (Barizao vd., 2015). Başka bir çalışmada ise en yüksek ekstraksiyon veriminin 20. dakikada elde edildiği ve bu sürenin üzerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminin ise verimi azalttığı bildirilmiştir (Goula 2013).

Ekstraksiyon temelde iki aşamadan meydana gelmekte olup birinci aşamada çözücü, katı bitkisel materyal içerisine difüze olmakta, ikinci aşamada ise çözücü ile birlikte yağ porözlü hücre dışına salınmaktadır (Barizao vd., 2015). Bu mekanizma ise hücre içerisindeki önemli miktardaki yağın çözücü içerisine salınımına kadar devam etmekte ve süre ne kadar uzatılırsa uzatılsın belirli bir noktadan sonra durağan faza geçmektedir. İşte bu optimum süreden sonra uygulanacak süre artışı sadece işlem süresini uzatmakta olup yağ veriminde herhangi bir artışa neden olmamaktadır.

### **Cevap yüzey metoduna göre ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu**

Ekstraksiyonda kullanılan farklı ultrason güç, süre ve sıcaklık uygulamalarının verim üzerindeki etkileri tespit edilerek, ultrason destekli ekstraksiyon yönteminde yüksek verimlilikte çiya tohumu yağı eldesi için cevap yüzey metodu kullanılarak optimum şartlar belirlenmiştir. Buna göre ekstraksiyon sonucunda en yüksek yağ verimi olan %49.45 değerine; yaklaşık %75 ultrason gücünde, 25 dakikalık sürede ve 55°C'lik sıcaklıkta ulaşılabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda ekstraksiyonda farklı çözücüler kullanılması nedeniyle farklı optimizasyon parametreleri elde edilmiştir. Etil asetatın çözücü olarak tercih edildiği çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonu çalışmasında en yüksek yağ veriminin optimum olarak 40 dakikalık işlem süresinde ve 50°C ekstraksiyon sıcaklığında elde edildiği bildirilmiştir (de Mello vd., 2017).

Geleneksel ekstraksiyonda işlem süresinin uzun olması, sıcaklık hassasiyeti yüksek biyoaktif bileşiklerin inaktive olmasına sebep olabilmektedir (Hernandez-Santos vd., 2016). Bu

nedenle kısa sürede yüksek yağ verimini sağlayacak ultrason uygulaması gibi teknikler önem kazanmaktadır. Yapılan bir çalışmada çiya ile benzer yüksek oranlarda omega-3 yağ asidi içeren *Echium plantagineum* L. bitkisinden ultrason destekli yağ eldesinde, biyoaktif bileşiklerin degradasyonunun engellenmesi için 55°C limit ekstraksiyon sıcaklığı olarak belirlenmiştir (Castejon vd., 2018). Bu çalışma sonucunda tespit edilen optimizasyon sıcaklığının düşük olması da çiya tohum yağında yüksek oranda bulunan omega-3 yağ asitlerinin oksidasyonunun engellenmesi için ayrıca önemlidir.

### SONUÇ

Çiyaya olan ilgi son yıllarda, içeriğinde bulundurduğu yüksek miktardaki omega-3 doymamış yağ asitleri nedeniyle hızla artmakta olup fonksiyonel ürün geliştirme çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır.

Bu çalışma ile çiya tohum yağının yüksek verimle elde edilebilmesi için son zamanlarda sıkça başvurulan bir teknik olan ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve cevap yüzey metoduna göre optimum ekstraksiyon parametreleri belirlenmiştir. Buna göre ekstraksiyon sonucunda en yüksek yağ verimi olan %49.45 değerine; yaklaşık %75 ultrason gücünde, 25 dakikalık işlem süresinde ve 55°C sıcaklıkta ulaşılabilmektedir. Bu optimum parametrelerin altında veya üstünde gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmalarının ise hem enerji ve zaman kaybına yol açabileceği hem de çiya tohum yağı verimini azaltabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışma sonucunda ulusal literatüre katkı sağlanmış olup elde edilen verilerin yeni çalışmalara imkan sağlayabileceği düşünülmektedir.

### KAYNAKLAR

AACC, (1975). Method 44-15A. Approved Methods of the AACC. American Associate of Cereal Chemists., St. Paul, Min, USA.

AACC, (1987). Method 46-11. Approved methods of the AACC. American Association of Cereal Chemists, Inc., St Pau, Minn, USA.

Abdullah, M., Koc, A.B. (2013). Kinetics Of Ultrasound-Assisted Oil Extraction From Black

Seed (*Nigella sativa*). *J Food Proces Pre*, 37(5): 814-823.

Ayerza, R. (1995). Oil Content and Fatty-Acid Composition of Chia (*Salvia hispanica* L) from 5 Northwestern Locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc*, 72(9): 1079-1081.

Barizao, E.O., Boeing, J.S., Martins, A.C., Visentainer, J.V., Almeida, V.C. (2015). Application of Response Surface Methodology for the Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed Oil. *Food Anal Method*, 8(9): 2392-2400.

Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Adzahan, N.M., Sarker, M.Z.I., Ganjloo, A. (2012). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Crude Oil from Winter Melon (*Benincasa hispida*) Seed Using Response Surface Methodology and Evaluation of Its Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Fatty Acid Composition. *Molecule*, 17(10): 11748-11762.

Bodoira, R.M., Penci, M.C., Ribotta, P.D., Martinez, M.L. (2017). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *Lwt-Food Sci Technol*, 75: 107-113.

Castejon, N., Luna, P., Senorans, F.J. (2018). Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. *Food Chem*, 244: 75-82.

Dabrowski, G., Konopka, I., Czaplicki, S., Tanska, M. (2017). Composition and oxidative stability of oil from *Salvia hispanica* L. seeds in relation to extraction method. *Eur J Lipid Sci Technol*, 119(5).

De Mello, B.T.F., Dos Santos Garcia, V.A., Da Silva, C. (2017). Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds: Optimization Extraction and Fatty Acid Profile. *J Food Proc Eng*, 40(1).

Goula, A.M. (2013). Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil-Kinetic modeling. *J Food Eng*, 117(4): 492-498.

Gölükçü, M. (2006). Bazı avocado (*Persea americana* mill.) çeşitlerinin püre üretimine uygunluklarının belirlenmesi ve ürün stabilitesi üzerine depolama sıcaklığının etkisi. , Akdeniz Üniversitesi, Antalya. 160 s.

- Hernandez-Santos, B., Rodriguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J.G., Carmona-Garcia, R., Juarez-Barrientos, J.M., Chavez-Zamudio, R., Martinez-Sanchez, C.E. (2016). Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrason Sonochem*, 31: 429-436.
- Imran, M., Nadeem, M., Manzoor, M.F., Javed, A., Ali, Z., Akhtar, M.N., Ali, M., Hussain, Y. (2016). Fatty acids characterization, oxidative perspectives and consumer acceptability of oil extracted from pre-treated chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Lipid Health Dis*, 15.
- ISI (2017). Citation report. (Son erişim tarihi: 29.12.2017)
- Koç, B., Kaymak-Ertekin, F. (2009). Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. *GIDA*, 35(1): 1-8.
- Li, H.-Z., Zhang, Z.-J., Hou, T.-Y., Li, X.-J., Chen, T. (2015). Optimization of ultrasound-assisted hexane extraction of perilla oil using response surface methodology. *Ind Crop Prod*, 76: 18-24.
- Magali Alvarez-Chavez, L., De Los Angeles Valdivia-Lopez, M., De Lourdes Aburto-Juarez, M., Tecante, A. (2008). Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Int J Food Prop*, 11(3): 687-697.
- Magdalena Julio, L., Yanet Ixtaina, V., Alejandra Fernandez, M., Torres Sanchez, R.M., Ricardo Wagner, J., Maria Nolasco, S., Cristina Tomas, M. (2015). Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of omega-3 fatty acids. *J Food Eng*, 162: 48-55.
- Martinez, M.L., Marin, M.A., Salgado Faller, C.M., Revol, J., Penci, M.C., Ribotta, P.D. (2012). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. *Lwt-Food Sci Technol*, 47(1): 78-82.
- O' Dwyer, S.P., O' Beirne, D., Eidhin, D.N., O' Kennedy, B.T. (2013). Effects of sodium caseinate concentration and storage conditions on the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chem*, 138(2): 1145-1152.
- Oliveira-Alves, S.C., Vendramini-Costa, D.B., Betim Cazarin, C.B., Marostica, M.R.J., Borges Ferreira, J.P., Silva, A.B., Prado, M.A., Bronze, M.R. (2017). Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chem*, 232: 295-305.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C.P., Ghazali, H.M. (2013). Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) and Solvent Extraction of Papaya Seed Oil: Yield, Fatty Acid Composition and Triacylglycerol Profile. *Molecule*, 18(10): 12474-12487.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C.P., Ghazali, H.M., Bordbar, S., Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chem*, 172: 7-17.
- Shalmashi, A. (2009). Ultrasound-Assisted Extraction of Oil From Tea Seeds. *Journal of Food Lipids*, 16(4): 465-474.
- Smutna, M., Kruzikova, K., Marsalek, P., Kopriva, V., Svobodova, Z. (2009). Fish oil and cod liver as safe and healthy food supplements. *Neuroendocrinol Lett*, 30: 156-162.
- Timilsena, Y.P., Vongsivut, J., Adhikari, R., Adhikari, B. (2017). Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chem*, 228: 394-402.
- Tontul, İ. (2011). Keten Tohumu Yağının Püskürterek Kurutmayla Mikroenkapsülasyonu Üzerine Farklı Taşıyıcı Madde ve Emülsiyon Uygulamalarının Etkilerinin Araştırılması, Akdeniz Üniversitesi, Antalya. 86 s.
- Zhang, L., Zhou, C., Wang, B., Yagoub, A.E.-G.A., Ma, H., Zhang, X., Wu, M. (2017). Study of ultrasonic cavitation during extraction of the peanut oil at varying frequencies. *Ultrason Sonochem*, 37: 106-113.
- Zhang, Z.-S., Wang, L.-J., Li, D., Jiao, S.-S., Chen, X.D., Mao, Z.-H. (2008). Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *Sep Purif Technol*, 62(1): 192-198.



**SCREENING OF TETRACYCLINE AND FLORFENICOL ANTIBIOTIC RESIDUES IN BROILER MEAT USING ELISA AND CONFIRMATION BY LIQUID CHROMATOGRAPHY/TANDEM MASS SPECTROMETRY**

**Yeliz Tekgul<sup>1\*</sup>, Filiz Kok<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Food Processing, Adnan Menderes University, Kosk Vocational School, Aydın, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Aydın, Turkey

Received / Geliş: 21.08.2017; Accepted / Kabul: 11.02.2018; Published online / Online baskı: 04.04.2018

Tekgöl, Y., Kok, F. (2018). Screening of tetracycline and florfenicol antibiotic residues in broiler meat using elisa and confirmation by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. GIDA (2018) 43 (3): 403-412 doi: 10.15237/gida.GD17082

**ABSTRACT**

The aim of this study was to investigate the presence of tetracycline and florfenicol residues in broiler meat that sailed in Aydın city, Turkey. For this purpose, 80 broiler meats that brands of local and national commercial were used. ELISA technique was used to investigate the presence of antibiotic residues and liquid chromatography/ tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) technique was used to confirm the residue. As result of the ELISA, 24 samples (30%) were positive for tetracycline. Florfenicol residues were found in any of the samples. 24 samples that is confirmed by LC-MS/MS were included an average of 30 ppb level. Residual amounts of the samples were found to be below the maximum residue limit (MRL) values.

**Keywords:** Florfenicol, tetracycline, ELISA, LC-MS/MS

**BROİLER ETLERİNDEKİ TETRASİKLİN VE FLORFENİKOL ANTİBİYOTİK KALINTILARININ ELISA İLE GÖRÜNTÜLENMESİ VE SIVI KROMATOĞRAFİSİ KÜTLE/ KÜTLE SPEKTROMETRESİ İLE DOĞRULANMASI**

**ÖZ**

Bu çalışmada Aydın ilinde tüketime sunulan broiler etlerindeki tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntılarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı satış yerlerinden farklı zamanlarda toplanan 80 adet broiler örneği kullanılmıştır. Antibiyotik kalıntı varlığı ELISA test kitleriyle belirlenmiş ve LC-MS/MS cihazı ile doğrulama yapılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre incelenen örneklerin 24'ünün (%30) tetrasiklin pozitif olduğu ve örneklerin hiçbirinde florfenikole rastlanılmadığı gözlenmiştir. Tetrasiklin içeren ve LC-MS/MS'de doğrulaması yapılan 24 örnekteki antibiyotik düzeyi ortalama 30 ppm olarak bulunmuştur. Bulunan değer maksimum kalıntı düzeyinin (MRL) altında olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Florfenikol, tetrasiklin, ELISA, LC-MS/MS

\* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ yeliz.tekgul@adu.edu.tr

☎ (+90) 256 212 02 58 / 196

☎ (+90) 256 214 68 34

## INTRODUCTION

Antibiotics have been widely used for treating infectious diseases and for promoting food producing animals growth and yields too (Aarestrup, 2012).  $\beta$ -lactam, tetracyclines, chloramphenicol, sulfonamide nitrofurans, quinolones and macrocyclics groups are the most commonly used drugs for these purposes (Cháfer-Pericás et al., 2010). However, their improper and illegal use may produce residues in meat, milk, eggs, honey and the other edible tissues of animals (Passantino and Russo, 2008). The presence of antibiotic residues induces allergic reactions in humans and give rise to an increase in the antibiotic resistance of pathogenic bacteria that may result in hazardous health problems (Gomes and Demoly, 2005; Martínez, 2005; Raison-Peyron, 2001). Therefore international organizations and national regulatory agencies have installed maximum residue limits (MRLs) for veterinary drugs that are allowed to be present in foods of animal origin (Bryant Christie Inc, 2016; CODEX, 2016).

Tetracycline is an antibiotic widely used in the cultivation of poultry (Carrique-Mas et al., 2015). Florfenicol is prohibited in Turkey because of toxic property. However, in some countries the freedom of use, and the imports with countries relations to investigate the importance of the presence of residues in products offered for sale. Because of the health risks that caused by antibiotic residues (human, toxic, carcinogenic and allergenic effects and the development of resistance in microorganisms) in poultry meat and meat products should be researched to identify the residues. The monitoring of food from animal origin for the presence of antibiotic residues, broadly speaking, is usually performed by two categories of analytical methods: screening methods that include microbiological tests, and confirmatory or quantitative methods mostly based on liquid chromatography coupled to mass spectrometry (Do et al., 2016). LC-MS/MS is the most promising as a highly specific, broadly applicable detection method that provides both qualitative and quantitative data (Mavungu et al., 2009).

This study aimed to survey the occurrence and quantification on florfenicol and tetracycline residues in broiler meat samples marketed in Aydın, Turkey. To achieve this goals, we used LC-MS/MS method validated to European Commission Decision 202/657/EC for confirmatory assay (European Commission, 2002).

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Eighty broiler samples were used which were collected from commercial products of various brands gathered from butcher's and supermarkets in and around the province of Aydın, Turkey. Samples were transported to the laboratory immediately after sampling.

### Methods

#### Preparation of Samples

Muscular tissues which come to the laboratory for analysis, were made homogenize after excoriation of their skin and fat with the help of a blender. Acquired samples after blender process were kept and waited in nylon bags varying 50-100 g at -20 °C until the time of analysis.

#### Sample extraction and clean-up

$2 \pm 0.02$  grams of muscle tissue sample was weighed to put into 50 mL-polypropylene centrifuge tube. 100  $\mu$ L of internal study standard solution was loaded and after a few seconds of vortex motion process 200  $\mu$ L 0.1 M NaEDTA and 10 mL from 70% MeOH were added onto it. And, it was exposed to vortex motion again for 15 minutes and subsequently it was centrifuged at 4°C at 4000 rpm for 15 minutes. 0.5 mL from the liquid of the top phase of each sample was transferred to clean glass tubes and upon adding 2 mL pure water onto tubes, then the procedure followed 2 minute-vortex-motion. Afterwards, 0.45 micron RC was filtrated so that it was replaced to 2 mL-glass vials and injected to 20  $\mu$ L LC-MS/MS system (Chico et al., 2008).

#### Immunoassay

In order to identify the residuals of tetracycline antibiotics; Tecna SuperScreen Tetra HS ELISA test kit (code AB710/AB711) was used. And, so as to identify the residuals of florfenicol



antibiotics; Green Spring Florfenicol ELISA test kit (LSY-10008) was used. ELISA plate washer from Nunc Maxisarp (Roskilde, Denmark), a microtiter plate reader (Wallac, model Victor 1420 multilabel counter, Turku, Finland) with photometric and time-resolved fluorometric detection was used for absorbance (490 and 650 nm) and fluorescence measurements (samarium filters 340 nm, 642 nm), respectively. UV-vis spectra were recorded on an Agilent 8453 diode array spectrophotometer (Palo Alto, CA).

### LC-MS/MS chromatographic system

The analysis of LC-MS/MS was carried out via Agilent 6460 Triple Quadrupole mass spectrometer. Chromatographic distinction of Zorbax SB - C18, 100 x 4.6 mm was performed by a column in width of 3.5 mm. Mobile phase A, was prepared with 0.001% M oxalic acid (0.002% formic acid ) in water and Mobile phase B was prepared with acetonitrile (0.001% formic acid). Rate of flow was arranged as 0.8 mL per minute (mL/min) and from 0 to 7.5 minute 90% A, 10% B; from 7.5 minute to 8th minute 49% A, 51% B and from the 8th minute on 90% A and 10% B. The injection volume was arranged as 20 µL and the temperature of the column was arranged as 35 °C.

Mass spectrometer detector was used in positive ionized mode. MS/MS conditions were given at Table 1. The heat of source block was held at 350 °C and electrospray capillary voltage was held at +4000 V. Nitrogen was used as collision gas.

Table 1. MS/MS conditions

Ionisation mode	ESI+
Collision gas	Nitrogen
Collision gas temperature	350 °C
Collision gas flow rate	12 L/m
API nebulising gas pressure	45 psi
Drying gas temperature	400 °C
Capillary	4000 V
Scan time	0.4 s

### Solutions

#### The Preparation of Mobile Phase A

0.126 g oxalic acid (Merck Millipore, Guyancourt, France) was solved in water (approximately 500 mL). Then, 2 mL of formic acid was added into it

and the volume were increased to 1 L. It was kept in ultrasonic bath for 15 minutes.

#### The Preparation of Mobile Phase B

1 mL of formic acid was added into the 900 mL Acetonitrile (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) which is in gradient purity so as to make it 1 L in total amount.

### ELISA procedure

#### Tetracycline residues

One of the test kits was made use of for the analysis of tetracycline. The kits were taken out of the refrigerator at least 30 minutes earlier than the analysis and waited at room temperature.

Previously made homogen broiler samples were taken 2 grams at a time and onto each sample was added 8 mL of 10 times diluted buffer. Then, each of them was homogenised with the help of vortex for 1 minute. All the instances were incubated for 15 minutes at 4 °C. After incubation, instances were centrifuged at 2000 rpm and then they all were filtered by using Whatman 1 filter paper. Each and every samples' pH-value was arranged to 7.4 with the help of 0.5 N NaOH. Sample preparations and analysis of tetracycline were done according to the instructions of the tetracycline kit.

#### Florfenicol residues

Three grams were weighed from the homogenised sample for florfenicol, upon adding 6 mL ethyl acetate it was mixed in the shaker for 5 minutes and finally it was centrifuged at 4000 rpm at room temperature for 10 minutes. At the end of this process, 2 mL of supernatant was taken and was flown at 50 - 60 °C under nitrogen. The remaining residual part was solubilized by 1 mL n-hexane. And, by adding 1 mL redissolving solution (which was already inside the kit and also diluted before the analysis) the remaining residual part was subjected to shaking process vigorously in the shaker for 30 seconds. Then, it was centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes at room temperature. Fifty microliters of centrifugalized samples were used for analysis. Sample preparations and florfenicol analysis were done according to the instructions of the florfenicol kit. All reactives and plates were ensured to be at room temperature (20 - 25 °C).

## RESULTS AND DISCUSSION

In this study, it was aimed to research residues of antibiotics in broiler meat (chicken) that is sold in the province of Aydın. In the study, 80 different broiler meat in total which were obtained from various point of sales were analyzed. The samples were analyzed with the help of ELISA test kits. Hereby, it was examined whether the residues of

tetracycline and florfenicol antibiotics were present at the broiler meat or not. The obtained results were compared with the ones that were acquired by using LC-MS/MS. Parametres form ms/ms monitoring of TCs were exposed at Table 2.

Table 2. Parametres form MS/MS monitoring of TCs

Compound	MS MH <sup>+</sup> (m/z)	MS/MS ( <i>m/z</i> )	Collision energy (Ev)
Chlortetracycline (CTC)	479	444	20
Oxytetracycline (OTC)	461	426	15
Doxycycline (DXC)	445	410	25
Tetracycline (TC)	445	410	15

According to the results of the analysis; residues of florfenicol weren't encountered in none of the examined samples. As it was stated in the test kit which was used for tetracycline analysis; 0, 0.75, 1.5, 2.5, 5 and 10 ng/mL standards were prepared. When the absorbance results obtained from

standards were taken into consideration, tetracycline residues weren't determined in 56 of broiler samples. Nonetheless; the remaining 24 samples were evaluated as suspicious positive (Table 3).

Table 3. Tetracycline residues (ng/mL) in the chicken meat samples determined by ELISA

Assay	No. of negative samples, n (%)	No. of positive samples, n (%)	Residue level (ng/mL) (%)	Exceed legal limit, n (%)
ELISA	56 (70)		<0.7	0(0)
		24 (30)	>0.7	0(0)

The suspicious positive samples in terms of tetracycline according to the ELISA test results were then analyzed through LC-MS/MS device so as to determine the amount of residues. In order to measure the accuracy of used method, the antibiotics - free sample and samples which were injected 100 ppb and 500 ppb tetracycline were analyzed. In samples which were injected 100 ppb antibiotics, the rate of tetracycline's revocation was determined as 96 - 103%. On the other hand, in samples which were injected 500 ppb antibiotics; this rate was determined as 104 - 106%. Chromatograms obtained as a result of the analysis were presented in figures below: Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3 and Fig. 4.

In the present study, 80 chicken samples were subjected to LC-MS/MS for confirmatory

analysis of the TC compounds. LC-MS/MS chromatograms of chicken meat samples positive for DXC (31.5 µg kg<sup>-1</sup>) are shown in Fig.4. The limits of detection (LOD=3.3\*SD/m) and quantification (LOQ=10\*SD/m) were determined by analysing the linearity assay for TC, DXC, CTC and OTC in the samples. The R<sup>2</sup> values for the system chicken meat samples spiked with standard solutions of the TCs. Table 4 shows the results of the results were all >0.99 for the linear regression equations in the concentration ranges (50-100 µg kg<sup>-1</sup>) tested. The repeatability of the method and recovery were calculated using chicken meat samples spiked with two different concentrations of 50 and 100 µg kg<sup>-1</sup> of each of the TCs. The results are presented in Table 4.

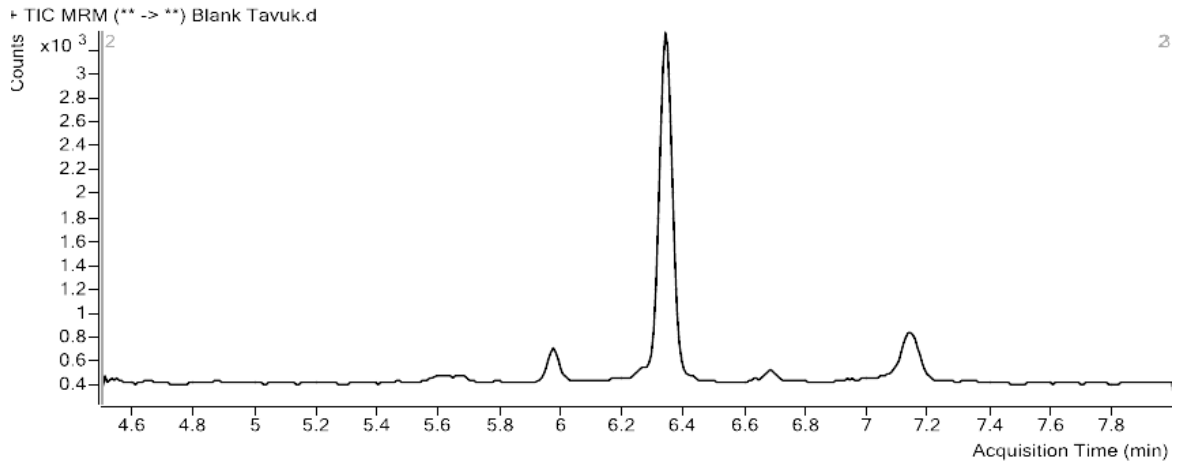


Figure 1. Typical chromatogram of a blank broiler sample

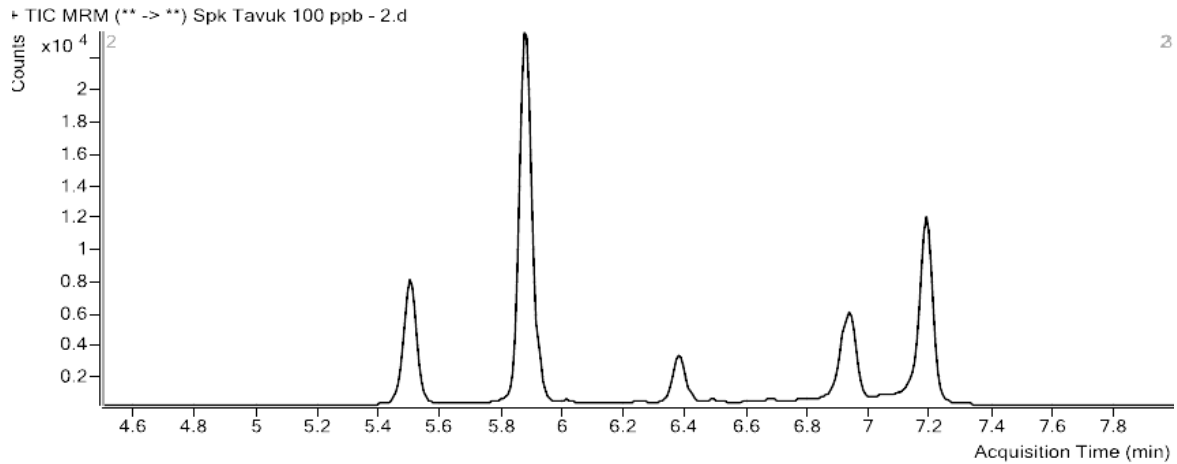


Figure 2. Typical chromatogram of a broiler sample fortified with tetracycline (TC) at 100 ppb

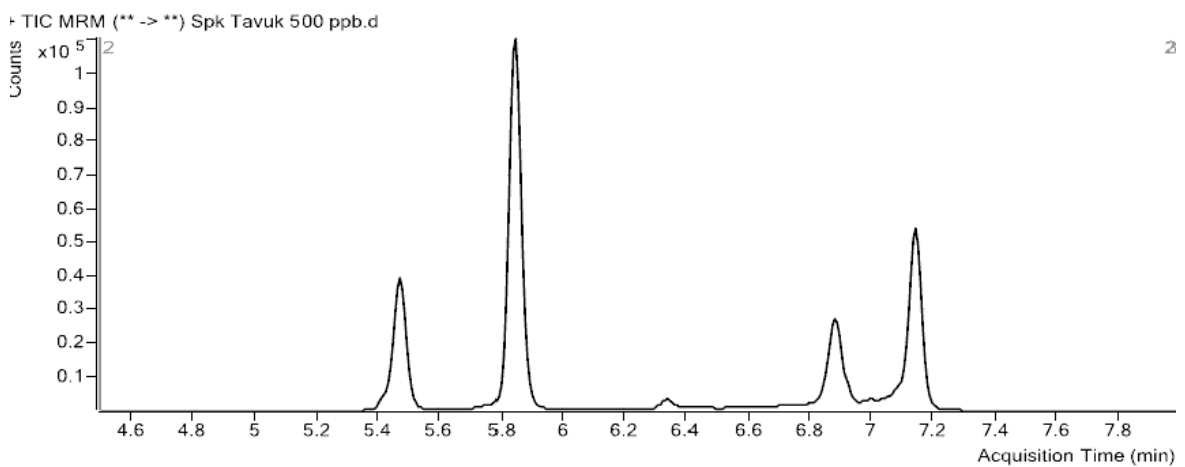


Figure 3. Typical chromatogram of a broiler sample fortified with tetracycline (TC) at 500 ppb

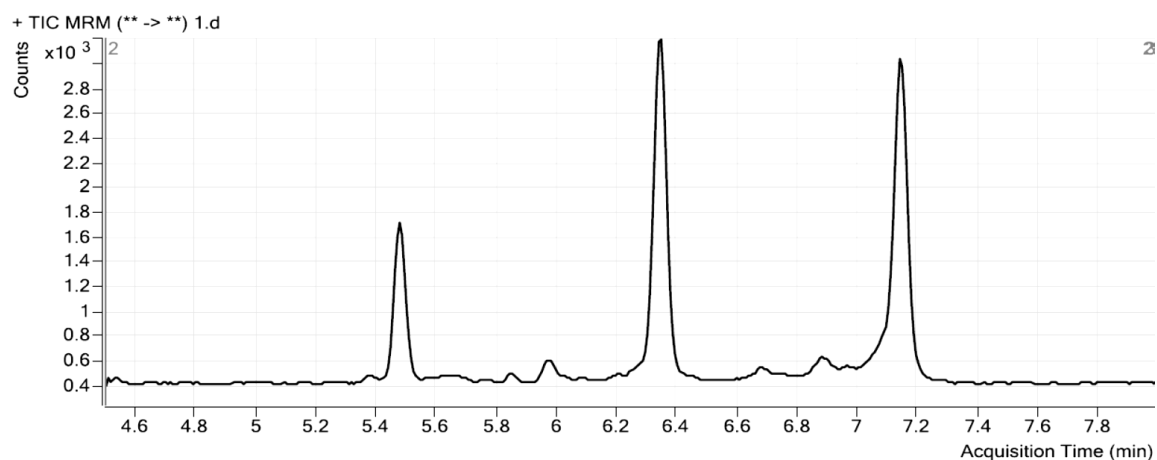


Figure 4. Typical chromatogram of broiler meat sample positive for tetracycline

Table 4. Data summary showing the LC-MS/MS results

Antibiotics	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Recovery (%)	RSD	$R^2$
OTC	0.8	2.3	95.1	8.3	0.9996
TC	0.3	0.8	97.8	9.4	0.9996
CTC	1.3	3.5	100.4	9.2	0.9991
DXC	8.8	25.9	105.1	8.7	0.9996

The average amount of residue in suspicious positive samples on account of tetracycline residues was determined as 30.06 ppb. On the one hand, the least amount of residue in tetracycline including samples was found as 5.1 ppb. On the other hand, the highest amount of residue in

tetracycline including samples was found as 76 ppb. Among the 24 samples which were analyzed by using LC-MS/MS; it was found that in 7 samples the level of antibiotics were below the limit value.

Table 5. Obtained Residue Levels at Broiler Meat As a Result of LC-MS/MS Analysis

Sample	Number of samples	Number of positive samples	Average Level $\pm$ (SD) (ppb)	Minimum(ppb)	Maximum (ppb)
Broiler meat	80	24	30.06 $\pm$ 0.07	5.1	76

Results obtained from LC-MS/MS (Table 5); 24 samples were evaluated in accordance with the Turkish Food Codex on Animal Origin Food Veterinary Medicine Maximum Residue Levels Edict. According to the edict mentioned above; tetracycline residue limit value for poultry is 100  $\mu\text{g}/\text{g}$ . It is determined that the level of tetracycline

in the samples analyzed was below than allowed limits.

ELISA test was applied for the purpose of determining and investigating antibiotics residues in broiler meat sold in the province of with Aydın. At the end of this investigation process via ELISA test, it was concluded that 24 of the samples were

evaluated as suspicious positive in terms of tetracycline group antibiotics residue; whereas the presence of florfenicol residue wasn't detected in the whole 80 samples. In order to confirm the exact amount of residue in 24 suspicious positive sample, LC-MS/MS device was used. According to the analysis results; it was observed that the amount of tetracycline in the whole 24 samples was below the MRL values.

In studies conducted in our country in this context; Acet et.al. (1998) stated that upon giving oxytetracycline (20 mg/kg) and tetracycline (50 mg/kg) orally to the broiler chicken, residues of oxytetracycline were encountered only in kidneys at the level of 0.32 – 0.56 µg/g, residues of tetracycline were detected in all the tissues except from plasma at the level of 0.080 – 0.240 µg/g.

Akar (1991) investigated residues of chloramphenicol, erythromycin, monensin, and tylosin with the method of lamellae chromatography / bioautography in total 350 samples of which 175 chicken meat and 175 chicken liver. The amounts of residues found in chicken meat and chicken liver could be seen below:

2.3% chloramphenicol, 2.3% erythromycin and 1.1% tylosin residues were present in chicken meat. Also; 0.57% chloramphenicol, 1.4% erythromycin, 1.7% tylosin residues were present in chicken liver.

Obekci (2002) investigated 200 chicken meat and 200 chicken liver samples that he obtained from various cities of Turkey with HPLC method. He reported that residues at the rate of 8.1% oxytetracycline, 7% tetracycline and 5.5% chlortetracycline were found in chicken meat and residues at the rate of 74% oxytetracycline, 47% tetracycline and 5.5% chlortetracycline were found in chicken liver.

Bergner-Lang et.al. (1993) reported that from the samples of 517 kidneys, 312 chicken meat and liver; they respectively detected antibiotics residues in 223 (43%), in 135 (43%) and in 18 (45.59). Moreover, they reported that 151 of samples (10-13.5 µg/kg) had tetracycline residues;

60 of samples (0.5-100 µg/kg) had chloramphenicol residues and 2 of them (12-250 µg/kg) had quinolone residues.

It was searched for chloramphenicol residues with intertest and three plate test methods in 444 raw and pasteurized milk samples provided by public and private sector enterprises in around Ankara. 78 positive (17.56%), 65 suspicious (14.63%) and 301 negative (67.79%) results were obtained with intertest method. 24 positive (5.40%), 1 suspicious (0.22%) and 419 negative (94.36%) results were obtained by three plate method with *B. Subtilis* (Onal et al., 1993).

Lee et. al. (2005), analyzed 13 antibiotics contained tetracycline, macrolide, penicilin, aminoglycoside and chloramphenicol varieties with microbiological tests in various animal products. They reported that from the 459 samples of 34 were suspicious positive.

Sajid et al. (2016) detected that out of 80 poultry meat samples only 4 samples were positive for antibiotic residues. The highest concentrations of antibiotic residue found in these tissues were tetracycline (8%) followed by ampicilin (4%), streptomycine (2%) and aminoglycosides (1%) as compared to other antibiotics like sulfonamides, neomycine and gentamycine.

Wang et al. (2017) screened 20 common antibiotic (three tetracyclines, four fluoroquinolones, three macrolides, three b-lactams, four sulfonamides, and three phenicols) residues in 125 samples from common type of livestock and poultry meat, milk and aquatic products in Shanghai by ultraperformance liquid chromatography coupled to high-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Antibiotics were found in 28.6% of livestock and poultry meat (35.3% for pork and 22.2% for chicken), 10.6% of milk, and 52.1% of aquatic products.

Salehzadeh et al. (2006) reported that tetracycline residue above maximum residual limits (MRLs), which were 27.77%, 95.55% and 18.88% in muscles, liver and kidney samples respectively. Hussein and Khalil (2013) exposed the residual of tetracycline in poultry meat ranged from 0.156

µg/g to 0.900 µg/g with a mean value of  $0.394 \pm 0.111$  µg/g. Tajik et al. (2010) reported chloramphenicol level as minimum and maximum levels of 0.54 and 155.2 ng/g in the kidney and liver, respectively.

In Iran, 22% of samples were reported positive and containing sulfonamides of that 1% contained aminoglycosides and none of sample contained [beta]-lactams, tetracyclines (Farideh et al., 2014). In Algeria, similar work has recorded 86.20% positive samples including 64.83% containing [beta]-lactam or tetracyclines (Hakem et al., 2013). Nkaya (2004) detected that in Senegal, 20% of broiler carcasses were positive to the four plate test of which 4% containing [beta]-lactam and tetracyclines.

In the studies carried out in our country and in many other countries, it was reported that antibiotics residues were detected in animal food submitted for consumption. Due to the fact that antibiotics residues in foodstuffs is a very serious problem affecting public health, livestock controls in coops should be performed by breeders more carefully and also it is understood that it is necessary to follow up these controls strictly. In order to determine the residues in food, supervision conducted by related public institutes should be tightened. This must be the case for especially poultry rearing industry. Selling and applying of banned medicine should be prevented.

## CONCLUSION

Antibiotics used for animals caused developing of resistant bacteria and also some effects which resulted in depleting the importance of antibiotics used in human health. In treating animals that can be eaten or having food value, even the usage of low dose chloramphenicol can create risks for presence of residues and this, thus can harm human health. Because of these reasons, in European Union member countries, in United States of America and in Turkey among with many other countries the usage of chloramphenicol in animals having food value is banned. Also, maximum residue limit for tetracycline is stated in those countries mentioned

above. Yet, in the light of the data acquired from the previous studies; it was concluded that antibiotics were used illegally in breeding animals that have food value. Due to this reason, specific and analytical methods are needed so as to observe chloramphenicol and tetracycline group antibiotics in animal food. Different methods such as liquid chromatography (LC), gas chromatography (GC) and immunoassay (ELISA) are being used for residual analysis. In accordance with the commission resolution 2002/657/EC; in order to confirm suspicious positive samples mass spectrometry (MS) is an efficient method and it has to be used together with chromatographic differentiation method. LC-MS/MS is a reliable and analytical method that can be used for “zero tolerance residual level” medicines in animal tissues.

In the conducted study, antibiotics residues above the limits determined by the authorities weren't detected in analyzed poultry samples. However, as detected antibiotics residues above MRL limits in animal food compose a potential risk factor in terms of food safety and public health; poultry and meat products should be analyzed in certain intervals on account of antibiotics residues. With the aim of preventing the risk that may occur, the frequency of supervision should be increased for production and sales companies. Suitable production and conservation conditions should be provided for broiler meats and other animal origin foods. Hereby, it must be aimed that the whole quality criteria and antibiotics residues in particular are suitable to Turkish Food Codex Notification of Meat Products until the end of shelf-life.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by Adnan Menderes University (Grant Number VBH-YL-2012/0001).

## REFERENCES

- Aarestrup, F. (2012). Sustainable farming: Get pigs off antibiotics. *Nature*, 486: 465-466.
- Acet, A., Ates, M., Erganis, O. (1998). Determination of antimicrobial residues in animal tissues by agar diffusion technique. *Journal of*

- Selcuk University Faculty of Veterinary Medicine*, 3: 197-205.
- Akar F. (1991). Investigating some antibiotic residues with thin layer chromatography methods in chicken meat and liver that was sold in Ankara. The Scientific and Technical Research Council of Turkey.
- Bergner-Lang, B., Bourgeois, B., Edelhauser, M., Klein, E., Lippold, R., Mollers, M., Pletscher, D. (1993). Chemical Drug Residue Analysis of Inhibitor-positive Samples of Meat, Kidney and Liver. Editors: Haagsma N, Rutter A, Eysenberg PBC. Euro Residue II, Conference of Residues of Veterinary Drugs in Food. Veldhoven, The Netherlands, 186-191 p.
- Bryant Christie Inc Global MRL database (2016) Available at: <https://www.globalmrl.com> (Accessed: 22.03.2016)
- Carrique-Mas, J. J., Trung, N. V., Hoa, N. T., Mai, H. H., Thanh, T. H., James. Campbell, J. A., et al. (2015). Antimicrobial Usage in Chicken Production in the Mekong Delta of Vietnam. *Zoonoses Public Health*, 1: 70-78.
- Cháfer-Pericás, C., Maquieira, A., Puchades, R. (2010). Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(9): 1038-1049.
- Chico, C., Rúbies, A., Centrich, F., Companyó, R, Prat, M.D., Granados, M., 2008. High-throughput multiclass method for antibiotic residue analysis by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1213(2): 189-199.
- Codex alimentarius commission, veterinary drug residues in food (2016) Codex Veterinary Drug Residues in Food Online Database Available at: <http://www.codexalimentarius.org/standards/vetdrugs/veterinary-drugs/en> (Accessed: 14.11.2016)
- Do, M.H.N., Yamaguchi, T., Okihashi, M., Harada, K., Konishi, Y., Uchida, K., Bui, L.T., Nguyen, T.D., Phan, H.B., Bui, H.D.T., Nguyen, P.D., Kajimura, K., Kumeda, Y., Dang, C.V., Hirata, K., Yamamoto, Y. (2016). Screening of antibiotic residues in pork meat in Ho Chi Minh City, Vietnam, using a microbiological test kit and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Control*, 69: 262-266.
- European Commission (2002). Commission Decision 2002/657/EC of 14 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation of results. *Off J L*, 221: 8-36.
- Farideh, G., Behrooz, F. and Abdollah, J. (2014). Detection of antibiotic residues in poultry carcasses in Mashhad poultry abattoir. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 6(1): 30-36.
- Gomes, E. R. and Demoly, P. (2005). Epidemiology of hypersensitivity drug reactions. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 5: 309-316.
- Hakem A., Y. Titouche, K. Houali, B. Yabrir, O. Malki, N. Chenouf, Y. Ahiaouis, M. Labiad, H. Ghenim, S. Kechih-Bounar, F. Chirila, A. Lapusan and N.I. Fit (2013). Screening of Antibiotics Residues in Poultry Meat by Microbiological Methods. *University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 70(1): 1843-5270.
- Hussain, S., Khan, S., Ali, J., Sultan, A., Chand, N. and Rafiullah. (2013) Antibiotic residues in commercial poultry meat and egg. International Workshop on Dairy Science Park, Pakistan.
- Lee, J.B., Chung, H.H, Chung, Y.H., Lee, K.G. (2005). Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods. *Food Chemistry*, 105: 1726-1731.
- Martínez, U. Z. (2005). Health official: clenbuterol cases rising. Miami Herald, Mexico Edition, Available at: <http://www.eluniversal.com.mx/miami/15989.html> (Accessed: 28.11.2005).
- Mavungu, J.D.D., Monbaliu, S., Scippo, M., Maghuin-Rogister, G., Schneider, Y., Larondelle, Y., Callebaut, A., Robbens, J., Peteghema, C.V., Saegera, S.D. (2009). LC-MS/MS multi-analyte method for mycotoxin determination in food

- supplements. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 26(6), 885-895.
- Nkaya, T. (2004). Comparative study of the presence of antibiotic residues in the broiler muscles of the thigh and the breastbone in the Dakar region. Dakar, Senegal. Inter-State School of Veterinary Sciences and Medicine. Veterinary thesis.
- Obekci J. (2002). Determination of the tetracycline group of antibiotics in chicken meat and liver by HPLC. Ministry of Agriculture and Rural Affairs.
- Onal, A., Aydın, N., Ayaz, Y., Iscan, D., Savas, N. (1993). To be detected some antibiotics present in milk and meat by various methods. *Journal of Veterinary Microbiology Institute*, 7: 48-51.
- Passantino, A. and Russo, C. (2008). Maximum Residue Levels of Veterinary Medicines in Relation to Food Safety: European Community Legislation and Ethical Aspects. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 3: 351-358.
- Raison-Peyron, N., Messaad, D., Bousquet, J., and Demoly, P. (2001). Anaphylaxis to beef in penicillin-allergic patient. *Allergy*, 56: 796-797.
- Sajid, A., Kashif, N., Kifayat, N. and Ahmad, S. (2016). Detection of antibiotic residues in poultry meat. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29(5): 1691-1694.
- Salehzadeh, F., Madani, R., Salehzadeh, A., Rokhni, N. and Golchinfar, F. (2006) Oxytetracycline residues in chicken tissues from Tehran slaughterhouses in. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 5(4): 377-381.
- Tajik, H., Malekinejad, H., Razavi-Rouhani, S.M., Pajouhi, M.R., Mahmoudi, R. and Haghazari, A. (2010) Chloramphenicol residues in chicken liver, kidney and muscle: A comparison among the antibacterial residues monitoring methods of four plate test, ELISA and HPLC. *Food and Chemical Toxicology*, 2464-2468.
- Wang, H., Ren, L., Yu, X., Hu, J., Chen, Y., He, G. and Jiang, Q. (2017). Antibiotic residues in meat, milk and aquatic products in Shanghai and human exposure assessment. *Food Control*, 80: 217-225.



## İNÜLİN VE MALTODEKSTRİN İLAVESİNİN KEFİRLERİN KONJÜGE LİNOLEİK ASİT İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Selin Özge Dinç, Ayşe Özbey\*, Özlem Erinç**

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

Geliş / Received: 12.02.2018; Kabul / Accepted: 12.03.2018; Online baskı / Published online: 04.04.2018

Dinç, S.Ö., Özbey, A., Erinç, Ö. (2018). İnülin ve maltodekstrin ilavesinin kefirlerin konjüge linoleik asit içeriği üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (3): 413-421 doi: 10.15237/gida.GD18025

Dinç, S.Ö., Özbey, A., Erinç, Ö. (2018). Effect of inulin and maltodextrin addition on conjugated linoleic acid content of kefir. *GIDA* (2018) 43 (3): 413-421 doi: 10.15237/gida.GD18025

### ÖZ

Kefir tarihi yüzyıllar öncesine dayanan Kafkas dağları, Tibet ve Moğolistan kökenli fermente bir süt ürünüdür. Bazı bakteriler gelişim ve metabolizmalarının sonucu olarak süt ürünlerinde fermantasyon boyunca farklı yağ asidi profilleri ve fonksiyonel yağ asitleri oluşturabilirler. Çalışmada kefir üretimleri inek sütüne %1, %2 ve %3 oranlarında maltodekstrin ve inülin eklendikten sonra gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak maltodekstrin ve inülin eklenmemiş süttten kefir üretilmiştir. Kefir üretiminden önce çiğ sütte genel kimyasal bileşim (kurumadde, yağ, protein ve kül analizi) ve konjüge linoleik asit (KLA) analizi gerçekleştirilmiştir. Kefirlerde depolamanın 0, 2, 7, 14 ve 21. günlerinde KLA analizleri yapılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları fermantasyon işlemi ile KLA miktarının arttığını fakat maltodekstrin ve inülin ilavesinin depolama boyunca KLA miktarı üzerine bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kefir, konjüge linoleik asit, inülin, maltodekstrin, depolama.

## EFFECT OF INULIN AND MALTODEXTRIN ADDITION ON CONJUGATED LINOLEIC ACID CONTENT OF KEFIRS

### ABSTRACT

Kefir is a fermented dairy product which has origin in Caucasus Mountains, Tibet and Mongolia for many centuries. Some of the bacteria may produce different fatty acid profiles and functional fatty acids during the fermentation in dairy products by virtue of their metabolism. In this study productions of kefir were performed after 1, 2, 3% addition of maltodextrin and inulin into milk. Control kefir was produced by using milk without maltodextrin and inulin. General chemical compound (dry matter, fat, protein and ash analysis) and conjugated linoleic acid (CLA) analysis was performed in raw milk. CLA analyses of kefir were performed on 0, 2, 7, 14 and 21 days of the storage. This study showed that CLA content increased by fermentation but maltodextrin and inulin addition didn't affect CLA amount during the storage.

**Keywords:** Kefir, conjugated linoleic acid, inulin, maltodextrin, storage.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ayse.ozbey@gmail.com,

☎ (+90) 388 225 4305,

☎ (+90) 388 225 0110

## GİRİŞ

Fermente süt ürünleri özellikle probiyotik etkilerinden kaynaklanan fonksiyonel özelliklerinden dolayı ilgi çekmektedir. Dünya piyasalarında bulunan yüzlerce çeşit süt ürünü düşünüldüğünde çoğunun üretiminde laktik asit fermantasyonunun etkisi göze çarpmaktadır. Fermente fonksiyonel ürünler bu fonksiyonel etkilerini hem canlı mikroorganizmaların alımı ile hem de mikrobiyal metabolitlerin alımıyla gösterirler (Vinderola, 2008). Kefir, fermantasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefirii*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir danelerinin kullanıldığı fermente süt ürünüdür (Anonim, 2009). Kefir daneleri laktozu fermente eden ve etmeyen mayalar ile homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterilerinin farklı türlerini içeren kompleks bir mikrofloraya sahiptir (Marshall vd., 1984; Piodux vd., 1990).

Bazı bakteriler, gelişim ve metabolizmalarının sonucu olarak süt ürünlerinde fermantasyon boyunca farklı yağ asidi profilleri ve fonksiyonel yağ asitleri oluşturabilirler (Santo vd., 2012). Fermantasyon koşulları gibi stres durumlarında laktik asit bakterilerinin desaturaz aktivitelerinin artış gösterdiği bilinmektedir. Desaturaz aktivitesi doymuş yağ asitlerini doymamış yağ asitlerine dönüştürebilir (Vieria vd., 2015). Probiyotik laktik asit bakterileri süt yağının lipolizi sonucu serbest yağ asitleri üretirler (Santo vd., 2010). Süt ürünlerinde fonksiyonel yağ asitlerinin en önemlisi konjuge linoleik asittir (KLA) (Santo vd., 2012).

KLA, omega 6 yağ asidi olan 9*cis*-12*cis* oktadekadienoik asitin (LA) konjüge formundaki pozisyonel ve geometrik izomerleri için kullanılan genel bir terimdir. Konjüge çift bağlar, karbon zincirinde 7,9; 8,10; 9,11; 10,12; 11,13 ya da 12,14 pozisyonlarında ve farklı *cis-trans* konfigürasyonlarında (*cis-cis*; *trans-trans*; *cis-trans* ya da *trans-cis*) bulunurlar (Pariza vd., 2001; Bhattacharya vd., 2006). KLA'nın insan metabolizması üzerinde olası faydaları;

antikarsinogenik etkiler, bağışıklık sistemini geliştirici, kolesterol düşürücü, arterioskleroz riskini düşürücü, gelişmeyi ve büyümeyi teşvik edici, vücutta yağ birikimini azaltıcı, diyabete karşı koruyucu, kas gelişimini artırıcı, serbest radikal yok edici, antibakteriyel etki ve antioksidatif etkidir (Ercoskun vd., 2005).

Rumen bakterisi olan anaerob *Butyrivibrio fibrosolvens* KLA ürettiği kanıtlanan ilk bakteridir (Kepler vd., 1966). Daha sonraki araştırmalarda KLA'nın yalnızca rumen bakterileri tarafından üretilmediği anlaşılmış ve birçok bakteri izole edilerek KLA üretiminde kullanılmıştır. *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei* gibi kefir mikroflorasında bulunan birçok bakterinin KLA üretme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Xu vd., 2004).

Günümüzde inülin ve fruktooligosakkaritler gibi prebiyotik bileşenlerin süte ilavesi ile sinbiyotik fermente süt ürünleri elde edilmektedir. Bu prebiyotik bileşenler insan sağlığı için faydalı olduğu düşünülen bifidobakterilerin gelişimini teşvik etmektedir (Tratnik vd., 2006). Yoğurt ve fermente süte lif eklenmesinin KLA içeriğine etkisini inceleyen çalışmalar vardır ancak kefirde maltodekstrin ve inülin eklenmesinin KLA üzerine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Santo vd. (2012) dört farklı probiyotik suşla üretilen yağsız yoğurtlarda elma, muz ve çarkıfelek meyvesi liflerinin yağ asidi profili üzerine etkilerini çalışmışlardır. Çalışmada lif eklenmenin yağ asidi profilini geliştirdiği ancak KLA üzerine etkilerinin ise lif kompozisyonu ve probiyotiklerle sinerjist etkisine bağlı olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* ve *Bifidobacterium lactis* ile *Streptococcus thermophilus* ve maltodextrin, oligofruktoz ve polidekstroz eklenmesiyle üretilen fermente sütlerde en yüksek KLA içeriği *S. thermophilus*-*L. acidophilus* kültürü ve maltodekstrin eklenmiş örnekte saptanmıştır (Oliveira vd., 2009).

Bu çalışmanın amacı kefir danesi kullanılarak üretilen kefirlerin KLA miktarlarının, maltodekstrin ve inülin ilavesi ile değişimini belirlemektir.

**MATERYAL VE YÖNTEM****Materyal**

Araştırmada kullanılan inek sütü Niğde civarındaki bir mandıradan, kefir üretiminde kullanılan kefir danesi ise Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan maltodekstrin ve inülin Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır.

**Yöntem*****Kefir danesi aktivasyonu***

Uygun saklama koşullarında bekletilen daneler aseptik teknik yardımıyla Niğde'deki marketlerden temin edilen yarım yağlı UHT sültere aktarılmış ve 24-25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. pH değeri 4.6 değerine ulaşan örnekler süzülerek daneler ayrılmıştır. Aynı işlemler birkaç kez tekrarlanarak daneler aktif edilmiştir.

***Kefir üretimi***

Çiğ inek sütüne %1, %2 ve %3 oranlarında maltodekstrin ve inülin eklendikten sonra kefir üretimleri gerçekleştirilmiştir. Çiğ süt (3 L) su banyosunda 90°C'de 10 dk pastörize edildikten sonra hızla 25°C'ye soğutulmuştur. Sütler su banyosunda 25°C'de kefir danesi (%2) ile inoküle edilmiş ve bu sıcaklıkta pH değeri 4.6'ya ulaşana kadar inkübasyona bırakılmıştır. Ürün elde edildikten sonra daneler süzülerek ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bu süre sonunda ilk gün analizleri için kefir örnekleri alınmıştır. Kefirler homojen şekilde karıştırıldıktan sonra steril, ağzı vida kapaklı, plastik örnek kaplarına yaklaşık 100 mL konularak 4°C'de depolanmıştır. Kontrol olarak maltodekstrin ve inülin eklenmemiş süttten kefir üretilmiştir.

***Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması***

Süt ve kefir örneklerinin yağ asitleri metil esterlerinin oluşturulmasında Güzel-Seydim vd. (2006) tarafından belirtilen yöntem modifiye edildikten sonra kullanılmıştır. Bu amaçla yaklaşık 0.5 gram süt ve kefir örnekleri ağzı kapaklı cam tüplere alındıktan sonra üzerine 1 mL 2-propanol ve 1 mL izo-oktan ilave edilmiş ve 60 sn vorteks ile karıştırılmıştır. Üst fazdan 100 µL alınarak vakumlu etüvde (VacuCell – MMM Medcenter Einrichtung, Almanya) kurutulduktan sonra 2

mL NaOCH<sub>3</sub>/MeOH (0.5 M metanolde) çözeltisi eklenip 60 sn vorteks ile karıştırılmıştır. Örnekler 50°C'de 10 dk su banyosunda tutulduktan sonra 10 dk oda sıcaklığında soğutulmuştur. Tüplere 1.5 mL %1'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (metanolde) çözeltisi eklendikten sonra tekrar 60 sn vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 80°C'de 10 dk tutulduktan sonra 10 dk oda sıcaklığında soğutulmuştur. Örnekler 1 mL izo-oktan ile ekstrakte edilmiş ve %6'lık 3.5 mL K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiştir. Tüpler vorteks ile karıştırılıp -18°C'de depolanmıştır.

***KLA analizi***

Çiğ sülterin ve kefirlerin KLA analizi, Sehat vd. (1999) tarafından önerilen metot kullanılarak belirlenmiş olup bu amaçla hazırlanan yağ asidi metil esterlerini içeren örnekten HPLC cihazına (Shimadzu, Japonya) 20 µL enjekte edilmiştir. Örneğin bileşenlerine ayrıştırılmasında seri bağlı 2 adet "Chromspher 5 lipit" analitik kolonu (4.6 mm ID, 250 mm, 5 µm partikül boyutu, Varian, Kaliforniya, Amerika) ve belirlenmesinde ise 233 nm'ye ayarlanmış UV dedektörü kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak %0.1 asetonitril içeren hekzan kullanılmış olup akış hızı 1 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. İzomerlerin tam olarak tespiti için aynı şartlarda standartların enjeksiyonu yapılmıştır. Miktar belirlemek için 0.1-2 mg/mL 9*trans*-11*trans* KLA standart kurve çiziminde kullanılmıştır.

***pH Analizi***

pH değeri, 0.1 pH birimi doğrulukta dijital pH-metre ile tayin edilmiştir.

***Kurumadde Analizi***

Örneklerin kurumadde miktarı gravimetrik olarak belirlenmiştir (TS 1018, 2002).

***Yağ Analizi***

Örneklerin yağ tayini Gerber yöntemine göre (Anonim, 2008) gerçekleştirilmiştir.

***Protein Analizi***

Azot içeriklerinin belirlenmesinde mikro kjeldahl yöntemi kullanılmıştır. Azot oranlarının 6.38 faktörü ile çarpılması ile örneklerin protein içerikleri hesaplanmıştır (Anonim 2001).

**İstatistiksel Analiz**

İki tekerrür, iki paralel (n=4) olarak elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları alınarak standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS Statistics V17.0 programında ANOVA analizi kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılık ise Duncan testi kullanılarak belirlenmiştir.

**SONUÇ VE TARTIŞMA**

Kefir üretiminde kullanılan inek sütünün sütün kurumadde içeriği %11.99±0.156, protein içeriği %3.12±0.044, yağ içeriği %3.66 ±0.055 ve kül içeriği ise %0.70±0.007 olarak belirlenmiştir.

Literatürde inek sütünün bileşiminin başta ırk olmak üzere çeşitli faktörlerin etkisi altında

değişiklik gösterdiği ve inek sütünün kuru madde oranı %10.5-14.5, yağ oranı %2.5-6.0, laktoz oranı %3.6-5.5, protein oranı %2.9-5.0 ve mineral madde oranı %0.6-0.9 arasında değiştiği bildirilmiştir (Metin, 2012). Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar literatür sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Çiğ süt üzerine yapılan analizlerde çiğ sütün KLA içeriği 0.725±0.0194 mg/g çiğ süt olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmada farklı oranlarda (%1-2-3) maltodekstrin ve inülin ilavesi ile üretilen kefir örneklerinin KLA içeriklerinin depolama süresi (21 gün) boyunca değişimi gözlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 1 ve 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Farklı yüzdelerde maltodekstrin içeren kefir örneklerinin KLA içeriği (mg/g kefir)<sup>1</sup>  
Table 1. *CLA content of kefir samples containing different amounts of maltodextrin (mg/g kefir)*<sup>1</sup>

Depolama günleri <i>Storage Days</i>	<i>9cis-11trans</i> KLA (mg/g örnek) <i>9cis-11trans</i> CLA (mg/g sample)			
	Kontrol <i>Control</i>	%1	%2	%3
0	0.761±0.0367 <sup>A,a</sup>	0.701±0.0336 <sup>B,a</sup>	0.753±0.0561 <sup>B,a</sup>	0.644±0.0734 <sup>C,a</sup>
2	0.766±0.0138 <sup>A,a</sup>	0.689±0.0183 <sup>B,a</sup>	0.725±0.0399 <sup>B,a</sup>	0.693±0.0240 <sup>B,a</sup>
7	0.758±0.0084 <sup>A,a</sup>	0.705±0.0310 <sup>B,a</sup>	0.744±0.0368 <sup>B,a</sup>	0.685±0.0316 <sup>C,a</sup>
14	0.748±0.0200 <sup>A,a</sup>	0.700±0.0543 <sup>A,a</sup>	0.672±0.0624 <sup>A,a</sup>	0.699±0.0317 <sup>A,a</sup>
21	0.728±0.0205 <sup>A,a</sup>	0.683±0.0211 <sup>A,a</sup>	0.653±0.0774 <sup>A,a</sup>	0.665±0.0203 <sup>A,a</sup>

<sup>1</sup>Ortalama ± standart sapma

<sup>A</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan farklıdır ( $P \leq 0.05$ )

<sup>a</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan farklıdır ( $P \leq 0.05$ )

<sup>1</sup>*Average ± standard deviation*

<sup>A</sup>*Different letters on the same row mean statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ )*

<sup>a</sup>*Different letters on the same column mean statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ )*

Çizelge 2. Farklı yüzdelerde inülin içeren kefir örneklerinin KLA içeriği (mg/g kefir)<sup>1</sup>  
 Table 1. CLA content of kefir samples containing different amounts of inulin (mg/g kefir)<sup>1</sup>

Depolama günleri Storage Days	9cis-11trans KLA (mg/g örnek) 9cis-11trans CLA (mg/g sample)			
	Kontrol Control	%1	%2	%3
0	0.761±0.0367 <sup>A,a</sup>	0.755±0.0224 <sup>A,a</sup>	0.733±0.0400 <sup>A,a</sup>	0.736±0.0231 <sup>A,a</sup>
2	0.766±0.0138 <sup>A,a</sup>	0.763±0.0353 <sup>A,a</sup>	0.740±0.0331 <sup>A,a</sup>	0.716±0.0244 <sup>B,a</sup>
7	0.758±0.0084 <sup>A,a</sup>	0.762±0.0247 <sup>A,a</sup>	0.749±0.0041 <sup>A,a</sup>	0.703±0.0248 <sup>B,a</sup>
14	0.748±0.0200 <sup>A,a</sup>	0.740±0.0136 <sup>A,a</sup>	0.734±0.0231 <sup>A,a</sup>	0.697±0.0142 <sup>B,a</sup>
21	0.728±0.0205 <sup>A,a</sup>	0.734±0.0382 <sup>A,a</sup>	0.733±0.0259 <sup>A,a</sup>	0.699±0.0080 <sup>A,a</sup>

<sup>1</sup>Ortalama ± standart sapma

<sup>A</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan farklıdır ( $P \leq 0.05$ )

<sup>a</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan farklıdır ( $P \leq 0.05$ )

<sup>1</sup>Average ± standard deviation

<sup>A</sup>Different letters on the same row mean statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ )

<sup>a</sup>Different letters on the same column mean statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ )

Elde edilen bulgulara göre ilave edilen maltodekstrin ve inülin, depolama süresi ve maltodekstrin ve inülin oranına ait sonuçlar istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ) iken diğer etkileşimlerin KLA içeriği üzerinde anlamlı bir değişime neden olmadığı bulunmuştur ( $P \geq 0.05$ ).

Kontrol grubu olarak maltodekstrin ve inülin ilavesiz üretilen kefirler incelendiğinde depolama sürecinde KLA içeriği değişimi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P \geq 0.05$ ) ve en yüksek KLA içeriği depolamanın 2. gününde  $0.766 \pm 0.0138$  mg/g kefir iken en düşük değer ise depolamanın 21. gününde  $0.728 \pm 0.0205$  mg/g kefir olarak gözlemlenmiştir.

Geleneksel bir Hint yoğurdu olan Dahi'nin KLA içeriği üzerine yapılan bir çalışmada bufalo ve inek sütlerinin başlangıç KLA içerikleri sırasıyla %0.5 ve %0.6 olarak belirlenmiş ve fermantasyon sürecinin ardından Dahi örneklerinin KLA içerikleri sırası ile %0.9 ve %1.0 olarak bildirilmiştir (Aneja ve Murthi, 1990). Probiyotik

Dahi (*L. acidophilus* ve *L. casei*)'nin fermantasyon süresi boyunca KLA içeriğinin değişimi üzerine yapılan bir başka çalışmada KLA içeriğinin fermantasyon ile arttığı bildirilmiştir (Yadav vd., 2007).

Trigueros ve Sendra (2015), tam yağlı, az yağlı ve çok yağlı süt örneklerini kullanarak yaptıkları çalışmada yoğurt kültürü ile hazırlanmış yoğurt örnekleri ve prebiyotik kültürlerle hazırlanmış fermente süt ürünlerinin KLA içeriklerini direkt metilasyon yöntemi ile belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre fermantasyon ile KLA miktarının değişebileceğini bildirmişlerdir; fakat fermantasyon boyunca KLA içeriğini etkileyen faktörleri tanımlayan çok az çalışma mevcuttur. Fermantasyon boyunca KLA içeriğinin değişimini etkileyen önemli faktörleri incelemek üzere yapılan bir çalışmada bakteri türü, hücre sayısı, optimum substrat konsantrasyonu, nötral pH değeri, inkübasyon süresi gibi sayısız faktörün KLA içeriği üzerine etkisi saptanmıştır (Kim ve Liu, 2002).

Shantha vd. (1995), farklı peynir, yoğurt, krema ve dondurmada yaptıkları bir çalışmada depolama sürecinde KLA miktarında istatistiksel olarak önemli bir değişim belirleyememişlerdir. Benzer şekilde Boylston ve Beitz (2002), inek sütünden yoğurt üretimi ve 7 günlük depolama süresince KLA ve diğer yağ asitlerinin miktarında değişim gözlemlenmemişlerdir.

Konu ile ilgili yapılan bir başka çalışmada ise Dahi'nin zenginleştirilmesiyle elde edilen probiyotik Dahi örneklerinde KLA içeriği fermantasyon boyunca artmış ve depolamanın 10. gününe kadar sabit kalmıştır. Bununla birlikte bütün çalışma boyunca kontrol Dahi örneklerinde KLA miktarında önemli bir yükselme gözlenmemiştir. Bu durum test edilen *Lactobacillerin* doğal süt yağının lipolizi ile fermantasyon sırasında sütte KLA üretme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Yadav vd., 2007).

Çizelge 2'de verilen değerler incelendiğinde kontrol grubu olarak hazırlanan maltodekstrin ve inülin ilavesiz numunelerde istatistiksel olarak önemli olmayan bir KLA değişimi gözlenmiştir. En yüksek KLA değeri depolamanın 2. gününde belirlenmiş ve ardından tüm depolama süreci boyunca bir düşüş gözlenmiştir. Maltodekstrin ilaveli örnekler incelendiğinde %1 ve %2 oranında maltodekstrin ilaveli örneklerde depolamanın ilk üç gününde (0, 2 ve 7. gün) KLA içeriği istatistiksel olarak önemli olmayan bir dalgalanma göstermiştir ve depolamanın son iki gününde (14 ve 21. gün) ise yine istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalma gözlenmiştir. Maltodekstrin ilaveli örnekler incelendiğinde ise tüm örnekler arasındaki en düşük KLA içeriğinin %3 maltodekstrin ilaveli örneğin 0. gününde  $0.644 \pm 0.0734$  mg/g kefir olarak bulunduğu gözlenmiştir ve yine %3 maltodekstrin ilaveli örneklerde depolamanın 2. gününde artan KLA içeriği 7. günde düşmüş, 14. gününde %3 maltodekstrin ilaveli örnekler arasındaki en yüksek değere ulaşarak son depolama gününde (21. gün) tekrar düşüşe geçmiştir.

Çizelge 2'de verilen değerler depolama günleri baz alınarak değerlendirildiğinde 0. günde en yüksek

değer kontrol grubunda bulunmuştur. %1 ve %2 maltodekstrin ilaveli örneklerde istatistiksel olarak önemsiz bulunan bir dalgalanma ve %3 maltodekstrin ilaveli örneklerde bir düşüş gözlenmiştir. 2. günde en yüksek KLA değeri kontrol grubunda bulunmuş ve sonraki günler için elde edilen değerlerdeki dalgalanmalar istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlenmiştir. Yedinci gün ve 14. gün değerleri incelendiğinde sonuçlarda gözlenen dalgalanmalar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 21. gün değerlerinde kontrol grubundan itibaren gözlenen düşüş ile %3 ilaveli numunelerde görülen artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P > 0.05$ ).

Maltodekstrin ve inülin ilaveli örnekler genel olarak değerlendirildiğinde en yüksek KLA değeri %2 maltodekstrin ilaveli örneklerin 0. gününde  $0.753 \pm 0.0561$  mg/g kefir olarak bulunmuştur. En düşük KLA değeri ise yine %2 oranında maltodekstrin ilavesinin 21. gününde  $0.653 \pm 0.0774$  mg/g kefir olarak gözlenmiştir.

Oliveira vd. (2009) fermente sütlerde maltodekstrin ilavesinin (%4 oranında) 24 saat depolama sonunda yağ asidi profili ve KLA içeriği üzerine etkisini incelemişlerdir. *S. thermophilus*-*L. acidophilus* ikili kültürü ile ve maltodekstrinle zenginleştirilen fermente sütlerde KLA miktarı en yüksek seviyeye çıktığı bildirilmiştir (kontrol grubundan %38 daha fazla).

Çizelge 1'de verilen değerler incelendiğinde kontrol grubu, %1 ve %2 inülin ilaveli örneklerin KLA içeriklerinde depolama süresince istatistiksel olarak önemsiz artış ve azalışlar gözlenmiştir ( $P > 0.05$ ). %3 inülin ilaveli örneklerin sonuçları incelendiğinde 0. günden itibaren KLA değerlerinde bir düşüş gözlenirken 21. günde istatistiksel olarak önemsiz bulunan bir artış gözlenmiştir ( $P > 0.05$ ).

Depolamanın 0. ve 21. günlerinde elde edilen verilerdeki değişimler istatistiksel olarak önemsiz ( $P > 0.05$ ) bulunurken 2, 7 ve 14. günlerin verileri değerlendirildiğinde %3 inülin ilaveli örneklerin KLA içeriklerinde istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ) bulunan bir düşüş gözlenmiştir.

Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde ise inülin ilaveli örnekler arasında en büyük değer  $0.763 \pm 0.0353$  mg/g kefir olarak %1 inülin ilavesinin 2. depolama gününde gözlenmiştir. En düşük KLA içeriği ise %3 inülin ilaveli örneğin 14. depolama gününde  $0.697 \pm 0.0142$  mg/g kefir olarak bulunmuştur.

Krem peynirlerin probiyotik (*Bifidobacterium animalis* ve *L. acidophilus*) ve prebiyotik (inülin) ile zenginleştirilmesi ile hazırlanan örneklerin 15 günlük depolamada KLA miktarlarında önemli değişim gözlenmemiştir (de Lima Alves vd., 2011). Bir başka çalışmada ise peynirlerin prebiyotik (fruktooligosakkarit ve/veya inülin) ilavesi ile zenginleştirilmesi ve depolama boyunca KLA değişimi incelenmiş ve 60 günlük olgunlaşma aşamasında KLA miktarında artış gözlenmiştir (Rodrigues vd., 2011; 2012).

Sonuçlar Bisig vd. (2007)'nin, peynir üzerinde yaptıkları çalışmadaki üretim ve olgunlaşma aşamasında KLA içeriğinin değişmediği sonuçlarıyla çelişmiştir. Koyun sütünden *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ile elde edilen yoğurda farklı oranlarda inülin (%0, 2, 4, ve 6) ilavesinin yoğurdun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yağ asidi miktarının metabolik aktiviteye bağlı olarak değişim gösterdiği ve %2'lik inülin ilavesi ile depolama boyunca 1. günden 28. güne kadar KLA seviyesinin 0.38 mg/mL'den 0.68 mg/mL'ye kadar çıktığı gözlenmiştir. Fakat çalışma genelinde farklı oranlarda inülin uygulamasının KLA içeriği üzerine istatistiksel olarak önemli bir katkısının olmadığı gözlenmiştir (Balthazar vd., 2016). Benzer şekilde Hennessy vd. (2009), yağsız süte %2'lik inülin uygulamasının önemli olmayan bir *9cis-12cis* KLA artışına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Inülin ilavesi ile ilgili yapılan kaynak araştırmasında inülin ilavesi ile hazırlanan fermente ürünlerde depolama sürecinde KLA değişimi üzerine ya çok az etkisinin olduğu ya da hiç etkisinin olmadığı saptanmıştır (Hennessy vd., 2009; de Lima Alves vd., 2011; Balthazar vd., 2016). Elde edilen veriler ile kaynak araştırma sonuçları uyumludur.

## SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları fermantasyon ile KLA miktarının arttığını fakat maltodekstrin ve inülin ilavesinin depolama boyunca KLA miktarı üzerine bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Bu durumun KLA dönüşümünü sağlayan doğal mikroflorada var olan bakterilerin canlılığı ile ilgili olabileceği öngörülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, FEB2015/39 numaralı "Kefirlerin Konjüge Linoleik Asit (KLA) İçerikleri" isimli BAP projesinden üretilmiş olup, projeye destek sağlayan Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Aneja, R.P. Murthi, T.N. (1990) Conjugated linoleic acid contents of Indian curds and ghee. *Indian Journal of Dairy Science*, 43(2): 231-238.
- Anonim (2001) ISO 8968-5:2001, IDF 20-5: 2001, Milk - Determination of nitrogen content, Part 5: Determination of protein-nitrogen content.
- Anonim (2008) ISO 2446:2008, IDF 226: 2008, Milk - Determination of fat content.
- Anonim (2009). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2009/25.
- Balthazar, C.F., Junior, C.C., Moraes, J., Costa, M.P., Raices, R.S.L., Franco, R.M. and Silva, A.C.O. (2016). Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. *Journal of Dairy Science*, 99(6): 4160-4168.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., Fernandes, G. (2006). Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(12): 789-810.
- Bisig, W., Eberhard, P., Collomb, M., Rehberger, B. (2007). Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products-a review. *Le Lait*, 87(1): 1-19.
- Boylston, T.D., Beitz, D.C. (2002). Conjugated linoleic acid and fatty acid composition of yogurt produced from milk of cows fed soy oil and

- conjugated linoleic acid. *Journal of Food Science*, 67(5): 1973-1978.
- de Lima Alves, L., dos Santos Richards, N.S.P., Mariutti, L.R.B., Nogueira, G.C., Bragagnolo, N. (2011). Inulin and probiotic concentration effects on fatty and linoleic conjugated acids in cream cheeses. *European Food Research and Technology*, 233(4): 667-675.
- Ercoskun, H., Uğuz, Ş., Kıralan, M. (2005). Konjuge linoleik asit. *Gıda Mübendisleri Odası Gıda Mübendisliği Dergisi*, 9(19): 42-46.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A K., Taş, T. (2006). Determination of antimutagenic properties of acetone extracted fermented milks and changes in their total fatty acid profiles including conjugated linoleic acids. *International Journal of Dairy Technology*, 59(3): 209-215.
- Hennessy, A.A., Ross, R.P., Devery, R., Stanton, C. (2009). Optimization of a reconstituted skim milk based medium for enhanced CLA production by bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 106(4): 1315-1327.
- Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B. (1966). Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Journal of Biological Chemistry*, 241(6): 1350-1354.
- Kim, Y.J., Liu, R.H. (2002). Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*, 67(5): 1731-1737.
- Marshall, V.M., Cole, W.M., Brooker, B.E. (1984). Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. *Journal of Applied Microbiology*, 57(3): 491-497.
- Metin, M. (2012). *Süt Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Rektörlük Yayınları. İzmir.
- Oliveira, R.P., Florence, A.C., Silva, R.C., Perego, P., Converti, A., Gioielli, L.A., Oliveira, M.N. (2009). Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. *International Journal of Food Microbiology*, 128 (3): 467-472.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E. (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 40(4): 283-298.
- Pidoux, M., Marshall, V.M., Zanoni, P., Brooker, B. (1990). Lactobacilli isolated from sugary kefir grains capable of polysaccharide production and minicell formation. *Journal of Applied Microbiology*, 69(3): 311-320.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T.A., Pereira, C.I., Gomes, A.M., Malcata, F.X., Freitas, A.C. (2011). The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT-Food Science and Technology*, 44(1): 100-108.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T.A., Gomes, A.M., Goodfellow, B.J., Freitas, A.C. (2012). Lipolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria, prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles. *Food Chemistry*, 131(4): 1414-1421.
- do Espirito Santo, A.P., Silva, R.C., Soares, F.A., Anjos, D., Gioielli, L.A., Oliveira, M.N. (2010). Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*, 20(6): 415-422.
- do Espírito Santo, A.P., Cartolano, N.S., Silva, T.F., Soares, F.A., Gioielli, L.A., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M.N. (2012). Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3): 135-144.
- Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M.M., Kramer, J.K., Yurawecz, M.P., Roach, J.A., Adlof, R.O., Morehouse, K.M., Fritsche, J., Eulitz, K.D., Steinhart, H., Ku, Y. (1999). Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography. *Lipids*, 34(4): 407-413.
- Shantha, N.C., Ram, L.N., O'leary, J.O.E., Hicks, C.L., Decker, E.A. (1995). Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. *Journal of Food Science*, 60(4): 695-697.



- Tratnik, L., Božanić, R., Herceg, Z., Drgalić, I.D.A. (2006). The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59(1): 40-46.
- Trigueros, L., Sendra, E. (2015). Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) content in fermented milks as assessed by direct methylation. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1): 315-319.
- Vieira, C.P., Álvares, T.S., Gomes, L.S., Torres, A.G., Paschoalin, V.M.F., Conte-Junior, C.A. (2015). Kefir grains change fatty acid profile of milk during fermentation and storage. *PLoS one*, 10(10): e0139910.
- Vinderola, G. (2008). Dried cell-free fraction of fermented milks: new functional additives for the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 19(1): 40-46.
- Xu, S., Boylston, T.D., Glatz, B.A. (2004). Effect of lipid source on probiotic bacteria and conjugated linoleic acid formation in milk model systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(6): 589-595.
- Yadav, H., Jain, S., Sinha, P.R. (2007). Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage. *International Dairy Journal*, 17(8): 1006-1010.

## **$\beta_v$ SEEDING AS AN ALTERNATIVE PRE-CRYSTALLIZATION TECHNIQUE IN SYNBIOTIC MILK CHOCOLATE PRODUCTION**

**Omer Said Toker<sup>1\*\*</sup>, Haniyeh Rasouli Pirouzian<sup>2</sup>, Nevzat Konar<sup>3</sup>, Derya Genç Polat<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Yıldız Technical University, Chemical and Metallurgical Engineering Faculty, Food Engineering Department, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup>Tabriz University of Medical Sciences, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Department of Food Science and Technology, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Siirt University, Faculty of Architecture and Engineering, Food Engineering Department, Siirt, Turkey

<sup>4</sup>Tayaş Gıda A.Ş., Gebze, Kocaeli

Received / Geliş: 31.01.2018; Accepted / Kabul: 19.03.2018; Published online / Online baskı: 04.04.2018

Toker, O.S., Pirouzian, H.R., Konar, N., Genç Polat, D. (2018).  $\beta_v$  seeding as an alternative pre-crystallization technique in synbiotic milk chocolate production. GIDA (2018) 43 (3): 422-431 doi: 10.15237/gida.GD18020

### **ABSTRACT**

In the present study, synbiotic milk chocolate including *Lactobacillus acidophilus* and inulin was prepared using  $\beta_v$  seeds as an alternative to conventional tempering method. For this aim, different concentrations of  $\beta_v$  seeds (0.5-1.5%) were used in the chocolate production. The effect of  $\beta_v$  seed concentration on water activity, moisture content, hardness value, color and rheological properties of the chocolate was examined and compared with those of the sample produced by conventional tempering method. Water activity and moisture content values of the samples were found to be very close to each other. Hardness value was significantly affected by  $\beta_v$  seed concentration. Yield stress and plastic viscosity values decreased with increasing seed concentration. All of the quality parameters highlighted that  $\beta_v$  seed can be used as a pre-crystallization technique without negatively affecting quality characteristics, providing economic gain and fast production when compared with classical one.

**Key words:** Chocolate, inulin, prebiotic, probiotic, tempering, seeding, synbiotic

## **$\beta_v$ TOHURLAMA TEKNİĞİNİN ALTERNATİF PRE-KRİSTALİZASYON YÖNTEMİ OLARAK SİNBIYOTİK SÜTLÜ ÇİKOLATA ÜRETİMİNDE KULLANIMI**

### **ÖZ**

Bu çalışmada, inulin ve *Lactobacillus acidophilus* içeren sinbiyotik sütlü çikolata, konvansiyonel temperlemeye alternatif olarak  $\beta_v$  tohumlama tekniği kullanılarak üretilmiştir. Bu amaçla, çikolata üretiminde  $\beta_v$  tohumları farklı oranlarda (0.5-1.50%) kullanılmıştır.  $\beta_v$  tohum konsantrasyonunun çikolata örneklerinin su aktivitesine, nem miktarına, sertlik değerine, renk ve reolojik özelliklerine etkisi araştırılmış ve konvansiyonel temperleme ile üretilen örneğin kalite özellikleri ile karşılaştırılmıştır. Çikolata örneklerinin su aktivitesi ve nem içerikleri birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur. Sertlik değeri,  $\beta_v$  tohum konsantrasyonundan istatistiksel olarak önemli şekilde etkilenmiştir. Eriyik çikolata örneklerine ait akma sınırı ve plastic viskozite değeri, tohum konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Örneklerin kalite parametreleri,  $\beta_v$  tohumlamanın alternatif pre-kristalizasyon tekniği olarak ürünlerin kalite özelliklerine zarar vermeden kullanılabileceğini göstermiştir. Bu şekilde çikolata üretiminde ekonomik kar ve hızlı üretim sağlanmış olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Çikolata, inulin, prebiyotik, probiyotik, temperleme, tohumlama, sinbiyotik

\*Corresponding Author / Yazışmalardan Sorumlu Yazar

✉ stoker@yildiz.edu.tr

☎ (+90) 212 383 4582

☎ (+90) 212 383 4571

## INTRODUCTION

Chocolate is defined as a suspension of solid particles derived from ingredients such as; sugar, and cocoa solids dispersed within a continuous cocoa butter fat phase and milk fat depending on the chocolate type (Fernandes et al., 2013), which is enjoyed by people of all ages worldwide. Primary chocolate categories are dark, milk and white. Dark chocolate formulation consists mainly of cocoa liquor, sugar and cocoa butter. Milk chocolate is made up of sugar, cocoa butter, milk solids and cocoa liquor and white chocolate contains sugar, cocoa butter and milk solids. Sugar, cocoa and milk (depending on chocolate type), make approximately 70% of the chocolate formulation (Afoakwa, 2010). The type and amount of each ingredient in chocolate formulation plays an important role in obtaining a high quality product.

The chocolate recipe and manufacturing processes are important for obtaining high-quality product. Chocolate manufacturing processes generally consists of 6 steps; i.) mixing, ii.) pre-refining, iii.) refining, iv.) conching, v.) tempering and vi.) molding. Refining of chocolate is an important process for obtaining desired particle size of 25-30  $\mu\text{m}$  normally using a combination of two- and five-roll refiners. The conching process

contributes to development of viscosity and final texture and aroma (Afoakwa et al., 2007). Conching is usually carried out by agitating chocolate at temperatures above 50°C for few hours. In the first hours, moisture is reduced and some undesirable flavor-active volatiles such as acetic acid are removed, and subsequently color is changed due to emulsification and oxidation of tannins (Afoakwa et al., 2007). Tempering process refers to a controlled melting and cooling of chocolate to achieve form V which is the best crystalline structure of cocoa butter among the six existing polymorphic forms (Schenk and Peschar, 2004). A poorly tempered chocolate will induce fat bloom in product with serious quality defects on texture, color and surface gloss. Moreover the chocolate will be soft and not effectively demolded (Afoakwa et al., 2007). Tempering is an important step in chocolate production. A well-tempered chocolate will have a good gloss and snap with a long shelf-life.

The conventional tempering process is summarized in Figure 1. As can be seen, the tempering has four key steps; complete melting (at 50°C), cooling to point of crystallization (at 32°C), crystallization (at 27°C) and conversion of any unstable crystals (at 29-31°C) (Afoakwa et al., 2008).

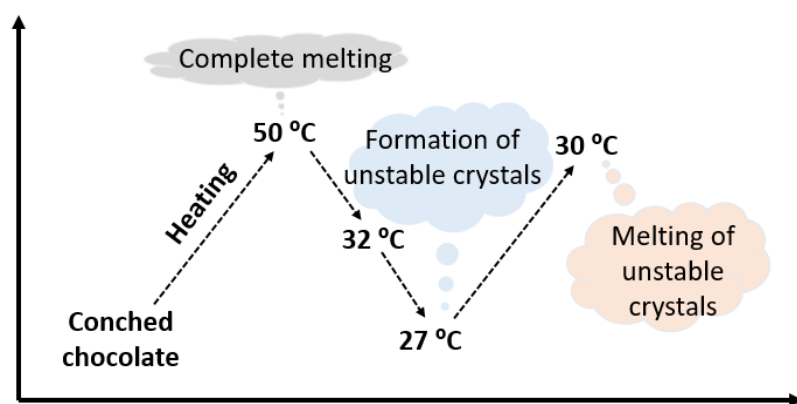


Figure 1. Conventional tempering method

As an alternative to the conventional tempering method, the seeding a pre-crystallization process is one of the techniques used in chocolate production in recent years. In the this technique (seeding), the most stable crystals of cocoa butter

( $\beta_v$ ) is used in conched chocolate at 32-34°C which results in a large number of small well-defined crystal nuclei. Pre-crystallization with seeding may ensure some advantages such as, faster crystallization, lower energy consumption,

less equipment and specialized personnel needs and also cost reduction (Kinta and Hartel, 2010). This technique is beneficial for food industry manufacturers, because it can increase efficiency of productivity in terms of fastening process and decreasing costs. In addition pre-crystallization have considerable effects on chocolate quality, such as, fat blooming reduction (Zeng et al., 2002), shelf life improvement (Riberio et al., 2013) and thermodynamic stability and melting profile (Kinta and Hartel, 2010).

In recent years, important progress has been made in terms of scientific knowledge about the interactions between diet and health that resulted in the development of the concept of functional foods. Chocolate is high in sugar (30-50%) and fat (25%) and is classified as a high calorie food. Of the different ingredients in chocolate, the fat phase has the major influence on its quality. It affects the rheological properties of chocolate, melting properties, release from the mold, prevention of bloom, and flavor release. Consumers are concerned about the high sugar levels and calories in confectionery products, hence increasing popularity of 'sugar-free' products. Therefore sugar substitutes have been used most frequently for manufacturing functional chocolates.

High-intensity sweeteners and sugar alcohols are commonly used as sugar substitutes in chocolate production. High intensity sweeteners are many times sweeter than sucrose, therefore smaller amounts of high-intensity sweeteners are needed to achieve the same level of sweetness as sugar in food. Replacement of sugar with high-intensity sweeteners poses a serious challenge in chocolate production, because sucrose fulfills both a structural and sweetening function in this product. Therefore, sugar alcohols along with high-intensity sweeteners are widely used in food industry. Sugar alcohols as well as bulking agents such as polydextrose, maltodextrin and inulin has great potential for the successful manufacture of sugar-free chocolate products (Aidoo et al., 2013). Since maltitol has organoleptic and technological properties close to those of sucrose (Portmann and Kilcast, 1996), therefore in the current

project, it has been used as a sugar substitute in white chocolate manufacturing.

In recent years, a worldwide consumer's tendencies towards functional foods that possess certain health properties have been noted. Prebiotic and probiotics are among such functional ingredients mostly used in the food industry. In the present study, milk chocolate was enriched with prebiotic and probiotic and quality characteristics of the synbiotic product were investigated.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Maltitol (Roquette Frenes, Lestres, France), cocoa butter, cocoa mass (Altinmarka, Istanbul, Turkey), whole and skimmed milk powder (Besel, Konya, Turkey), soy lecithin (Brenntag Chemistry, Istanbul, Turkey), polyglycerol polyricinolate (PGPR) (Palsgaard, Zierikzee, the Netherlands), cocoa butter originated  $\beta_v$  seed crystals (SEED100, Uelzena, Uelzen, Germany) and lyophilised *L. acidophilus* (LOT No 41127003932) (Danisco, Niebüll, Germany) were used in the formulation of the dark chocolates.

### Sample Preparation and Probiotic Inoculation

Maltitol (34%), cocoa butter (18.5%), cocoa mass (18%), whole milk powder (13.5%), skimmed milk powder (6.52%), soy lecithin (0.30%), PGPR (0.15%), vanilla flavour (0.03%) and inulin (9.0%) were used in the chocolate formulation. Each sample group was prepared in lots of 10 kg. For this purpose, the melted fat components (comprising 20% of the total cocoa butter present in the formulation) and the dry powders were mixed until being homogeneous and heated to 40°C. At the end of the mixing and warming, the chocolate mass was first pre-refined on a pilot-scale 3-roll refiner (Lehmann, Aalen, Germany) and then mixed again and warmed to 50°C. To achieve a mean particle size of approximately 20-25  $\mu\text{m}$ , the gap size between the rollers of the 3-roll refiner and pressure applied was adjusted and  $d_{90}$  values were measured using a micrometer (Mitutoyo, Manufacturing Co. Ltd., Japan, 0.001 mm accuracy). After reaching the desired particle size mentioned above, dry conching process was

performed for 80 min, and the remaining cocoa butter (80% of the total), soy lecithin and PGPR were then added and then the wet conching process was employed. The whole conching process lasted 480 min at 70°C.

After conching, probiotics, *L. acidophilus* (9 log CFU/25 g) were added to the prepared chocolate mass at 35°C. Then the mass was mixed nearly 5 min. Addition of probiotics was followed by a three-stage tempering process (33-35, 24-25 and 25-26°C) for control samples. The achievement of tempering process was checked by temper index value measured using temper meter (Chocometer, Aasted Farum, Denmark). Temper index values of the produced samples ranged between 5.5 and 6.0. For seeded samples, different concentrations of  $\beta_V$  seeds (0.50, 0.75, 1.00 and 1.50 g seed/100 g chocolate) were added at 32°C and mixed for 10 minutes. Subsequently, the molding and vibration process (Aasted Farum, Denmark) was conducted at 27-30°C for all samples. After 20 min of cooling (Aasted Farum, Denmark) at 5°C, the process was completed. Samples were stored at temperatures between 13 and 15°C, and subsequently prevented from light and heat prior to analysis.

### Water activity and Moisture Content

The water activity of the chocolates was measured using a Lab-Master  $a_w$  (Novasina, Switzerland) according to the method described by Konar (2013).  $A_w$  values of each sample were measured in triplicate at after a follow-up day of sample preparation. Moisture content of the samples was determined using the method described by Lonchamp and Hartel (2006).

### Texture Analysis

As textural parameters, hardness values of the chocolates were determined using TA-TX plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, UK). During analyses, load cell with 5 kg and 3 point bend ring were used to obtain displacement versus force curve. By using this curve force at peak, necessary for breaking the sample, was calculated. Pre-test, test and post-test speeds applied during textural measurement were 1 mm/sec, 1 mm/sec and 10 mm/sec, respectively.

Hardness values of each sample were measured 7 times.

### Particle size determination

$D_{90}$  value calculated from particle size distribution analysis representing the size of the larger particles is very close to value read by micrometer (Beckett, 2009). Therefore, the particle size of the produced chocolates was measured using micrometer (Mitutoyo, Manufacturing Co. Ltd., Japan, 0.001 mm accuracy).

### Viability of probiotic bacteria

20 g of chocolate was weighed and it was put into 180 mL 0.1% peptone solution prepared by distilled water (0.1%). After that the prepared mixture was maintained at 40°C for melting of the chocolates. Prepared dilutions (200  $\mu$ L) were plated on specific media suitable for viable cell counts. The plates were incubated at 37.5°C for 48 h, which was followed by counting of LAB on De Man, Rogosa, and Sharpe Agar (Oxoid CM 361). The LAB counts were conducted at 0<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> days of the storage. Three replications were performed to all samples.

### Rheological Analysis

Steady shear rheological characteristics of the melted chocolate samples were determined at 40°C by rheometer (Anton Paar, MCR 302, Austria) which can be controlled considering stress or strain parameters. The temperature of the system was adjusted by Peltier system and water bath. CC27 probe was used for the analysis. After melting of the chocolate samples at 40°C, shear rate versus shear stress data were measured using steady shear rheological properties of chocolate samples melted at 40°C prior to the method of International Confectionery Association (ICA) which includes the four steps as mentioned following.

**1<sup>st</sup> Step:** Shearing at 5 s<sup>-1</sup> for 500 s for homogenizing the sample and equilibrating the material temperature to set value.

**2<sup>nd</sup> Step:** Shear rate ranged between 2 s<sup>-1</sup> to 50 s<sup>-1</sup> (upward) was applied within 180 s

**3<sup>rd</sup> Step:** Shearing the samples at 50 s<sup>-1</sup> for 60 s

**4<sup>th</sup> Step:** Applying the shear rates ranged from 50 s<sup>-1</sup> to 2 s<sup>-1</sup> (downward) within 180 s

Shear stress at 5 s<sup>-1</sup> shear rate was accepted as yield point almost at rest and viscosity at high shear rate is equal to apparent viscosity at shear rate 40 s<sup>-1</sup>. By using obtained experimental data, these parameters were acquired.

### Colour measurement

Colour parameters ( $L^*$ : brightness,  $a^*$ : ±red-green and  $b^*$ : ±yellow-blue) of the compounds produced were measured by colorimeter (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Japan) and chroma ( $C^*$ ), hue ( $h^\circ$ ) and whiteness index ( $WI$ ) values were calculated by using these parameters according to the following equations (Periche et al., 2015);

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

$$h^\circ = \arctan (b^*/a^*) \quad (2)$$

$$WI = \sqrt{(100 - L)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

### Statistical Analysis

Table 1. Water activity, moisture content and hardness value of milk chocolates samples

$\beta_V$ concent ration (%)	$a_w$	Moisture (g/100 g)	Hardness (g)	<i>L. acidophilus</i> (log CFU/25 g)	Rheological parameters	
					Yield stress (Pa)	Viscosity (Pa.s)
0.00	0.241 ± 0.002 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.06 <sup>bc</sup>	8991 ± 279 <sup>b</sup>	8.085 ± 0.013 <sup>a</sup>	134 ± 17 <sup>b</sup>	14.4 ± 0.1 <sup>b</sup>
0.50	0.248 ± 0.001 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.01 <sup>a</sup>	11043 ± 127 <sup>a</sup>	7.838 ± 0.043 <sup>b</sup>	222 ± 21 <sup>a</sup>	23.9 ± 0.2 <sup>a</sup>
0.75	0.253 ± 0.003 <sup>a</sup>	1.28 ± 0.03 <sup>ab</sup>	8817 ± 373 <sup>bc</sup>	7.573 ± 0.083 <sup>c</sup>	85 ± 10 <sup>c</sup>	9.2 ± 0.1 <sup>c</sup>
1.00	0.238 ± 0.009 <sup>a</sup>	1.25 ± 0.01 <sup>ab</sup>	8172 ± 301 <sup>cd</sup>	7.913 ± 0.042 <sup>b</sup>	44 ± 5 <sup>d</sup>	4.7 ± 0.0 <sup>c</sup>
1.50	0.239 ± 0.007 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.11 <sup>c</sup>	7602 ± 246 <sup>d</sup>	7.952 ± 0.085 <sup>ab</sup>	62 ± 5 <sup>cd</sup>	6.6 ± 0.1 <sup>d</sup>

The findings showed that pre-crystallization technique did not change water activity of the milk chocolate samples significantly ( $P > 0.05$ ). Osmotic agents such as maltitol have a definitive role in reducing water activity (Shadwell et al., 2013). Maltitol used in this study, had low hygroscopicity therefore, this property is effective in gaining low water activity of the chocolate samples (Table 1). Therefore, it will not absorb water in humid conditions. There is a direct relationship between hygroscopic capacity and water absorption. Besides, sugar alcohols disperse

The quantitative data were expressed as the mean ± standard deviation in the tables. The results were analysed using analysis of variance (ANOVA). Tukey's test was applied to determine if the differences between quality parameters of the samples were significant. The statistical analyses were performed using the MINITAB-Express (Minitab Inc., State College, PA, USA) and MSTAT statistical packages (Michigan State University, East Lansing, MI, USA). Differences with  $P$  values less than 0.05 were considered as statistically significance effect of the corresponding factor on the quality parameter.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Water activity

The effect of  $\beta_V$  seed concentrations on the water activity of milk chocolates are presented in Table 1. The  $a_w$  values of chocolate treatments were found to be in the range of 0.238-0.253. The water activity of milk chocolate is often below 0.4. According to the statistical analysis results, no significant differences was generally observed between water activity of the samples ( $P > 0.05$ ).

uniformly in continuous oil phase (cocoa butter). Thus sugar alcohols could affect the water activity and fat phase and the processing conditions and the quality of the treatments. It seems that investigating the effects of sugar alcohols on some chocolate properties seems necessary (Sokmen and Gunes, 2006).

Higher solid content of chocolate alters the diffusion rate of moisture migration, therefore leads for low water activity in the product. Higher proportion of solid phase changes the texture and

sensory characteristics of chocolate by reducing the  $a_w$  of liquid phase (Beckett, 2008).

### Moisture content

Measured moisture content values were in the range between 1.02-1.29 for the milk chocolate samples (Table 1), which is within the acceptable limit (<1.5%). Regarding the effect of seeding, for milk chocolate samples, seeding concentration at 0.5 g/100g showed higher moisture content value than the other concentrations and control treatment.  $\beta_v$  seed amount at low concentrations added significantly affected the moisture content of the samples ( $P<0.05$ ).

### Textural properties

The hardness value of the conventionally tempered and  $\beta_v$  seeded pre-crystallized milk chocolates samples are presented in Table 1. Hardness value of sugar-free chocolates is found to be between 7602-11043 g. Hardness values of milk chocolates containing 0.75 g/100 g seed were very close to control treatment. As can be seen in Table 1, milk chocolate samples tempered by using 0.5 g/100 g  $\beta_v$  seeds had the highest hardness among the other  $\beta_v$  seeded and control samples. The result in Table 1 clearly demonstrated that the samples having seed concentration of 0.5 g/100g required significantly stronger forces compared to the other samples ( $P<0.05$ ). Lower hardness value of other samples pre-crystallized with seeds at concentration higher than 0.5 g/100g might have resulted from agglomeration of seed particles. Hence, high concentration of  $\beta_v$  seed might result in lower mechanical strength (Glicerina et al., 2016). The samples produced by tempering at 0.75 g/100g seeds were more similar to control sample in terms of textural properties.

These results indicated that variation in crystallization behavior in sugar-free chocolate during tempering can influence the degree of crystallinity of  $\beta_v$  seeded products at different levels (Glicerina et al., 2013). It can be concluded that the seeds had a homogeneous dispersion in the cocoa butter and crystal network was stronger. Therefore, pre-crystallization process produced adequate amounts of crystal nuclei (Glicerina et

al., 2016). Several parameters such as; chocolate composition, tempering, seeding rate and activity determine the hardness of chocolate (Afoakwa et al., 2007).

Proper tempered chocolate has closer packing and higher thermodynamic stability (Aidoo et al., 2013). Under tempered samples will be softer due to its weaker fat crystal structure. Therefore, hardness is a helpful indicator to understand the level of tempering index (Afoakwa et al., 2007).

### Particle size ( $D_{90}$ )

$D_{90}$  parameters of chocolate samples were found to be 21  $\mu\text{m}$ . Particle size of the treatments were similar to each other ( $P>0.05$ ). This result was expected since the formulation and production process (refining) of the chocolates were same except for  $\beta_v$  seeds used.

The findings indicated that particle size was not affected by seeding technique and particle size of the milk chocolates was similar to each other. It could be finalized that there was no adverse effect expected in terms of coarseness, textural character and desirable flow properties as these parameters had a key role in chocolate manufacture (Beckett, 1999).

### Viability of probiotics

The obtained results showed that the survival of probiotic strain *L. acidophilus* in milk chocolate samples was very good (Table 1). The results illustrated that no considerable differences ( $P>0.05$ ) was observed between the chocolates samples produced by  $\beta_v$  seeding technique at 1.5 g/100g seed concentrations compared to conventional tempering method. Considering a threshold of about 6 log CFU/g of viable probiotic bacteria, the results demonstrated an acceptable amount of the probiotic strains assayed in milk chocolates during a storage period of 90 d. The minimum count of probiotic bacteria at the time of intake should be  $\geq 10^6$  CFU/g for gaining therapeutic effects (Dolevres and Lacroix, 2005; Nag and Das, 2013).

Water activity, temperature, oxygen exposure, sugar concentration, osmotic tension and mechanical shearing are the critical factors

affecting the viability of probiotic cells in confectionery (Crittenden, 2009; Saarela et al., 2000). Low water activity and high concentration of sugar and fat in chocolate actually prevents the possible growth of microorganisms and ensures the maintenance of probiotic strains in an inactive state. Also, the packaging with aluminum foil limits penetration of oxygen and protects the chocolates from humidity and other damages during storage period. In fact, oxygen may negatively affect the survival of probiotics, especially those on the surface of chocolates (Lalicic-Petronijevic et al., 2015; Żyżelewicz et al., 2010).

In the study of Lalicic-Petronijevic *et al.* (2015), *L. acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* were incorporated in milk and dark chocolates. The results illustrated that the number of viable cells decreased gradually within the storage period. Nebesny *et al.* (2007) stated that the total number of *L. casei* and *L. paracasei* cells during the storage for 12 months at 4°C was almost unchanged. Also keeping the chocolate at ambient temperature (18°C) maintained the number of live cells at the functional level.

The population level was maintained at the functional level of 10<sup>7</sup> CFU/g during 90 day storage period. It can be consider chocolate as a suitable food for the delivery of probiotic strains with excellent viability levels. The result was satisfactory. The final population was sufficient to classify the chocolate as a probiotic food.

### Rheological properties

Yield stress ( $\tau_0$ ) and plastic viscosity ( $\eta_{pl}$ ) parameters of sucrose-free chocolates were found between 43.66 and 222.11 Pa and 4.7 and 23.9 Pa.s, respectively (Table 1). The results indicated that using  $\beta_V$  seeds at different concentrations influenced the rheological properties. The differences might have resulted from formulation. Rheological characteristics are important for transportation, pumping and mixing processes; therefore,  $\beta_V$  level should be also considered. However, no direct proportion was considered between  $\beta_V$  concentration seeds and value of rheological parameters.

In traditional tempering method, it should be very careful with the cooling-heating-cooling steps in the tempering process. However, in the seeding technique, the crystallization process is suitably controlled. This result is proved in the viscosity of seed-crystallized chocolate. Koyano et al. (1990) studied the viscosity changes of dark chocolate made by the normal tempering and by the  $\beta_2$  seeding. They reported that viscosity of the tempered chocolate started to increase instantly after the completion of tempering. However, viscosity of the  $\beta_2$  seeded chocolate slowly increased after an induction period of about 50 minutes. This is a clear advantage for the chocolate manufacturer because it permits easier plant operation. The researchers finalized that seeding technique gives rise to an accelerated crystallization of form V of cocoa butter and moderates changes in viscosity.

Campbell and Keeney (1968) added chocolate powders to molten chocolate and measured the viscosity changes to evaluate the level of seed crystal formation during the tempering process. They concluded that the optimal amount of seed crystals to be added in the seeding techniques is 0.5%. Hachiya et al. (1988) studied the changes in viscosity during crystallization process of cocoa butter and chocolate. They used a rotational viscometer to measure the viscosity of the samples. Varying amounts of the cocoa butter seed crystals of Form VI were added and the viscosity was recorded to make a calibration curve between the CB crystal concentration and the viscosity changes. The results demonstrated that the amount of the seed crystals crystallized in the tempering process was 0.2%.

Chocolate viscosity during the solidification process is critically important for workability, which is significantly influenced by crystallization. As seen,  $\beta_V$  seed addition at concentrations more than 0.5 g/100g reduced rheological parameters of the milk chocolates, thus it is an advantages for manufacturers in terms of using of  $\beta_V$  seeds as an alternative for conventional tempering process in the production of chocolates without altering production process steps.



**Colour Properties**

Table 2 exhibits the colour properties (lightness, hue angle, chroma and whiteness index) of the milk chocolates tempered with conventional method and addition of  $\beta_v$  seeds at different concentrations. Considering the colour parameters it was determined that brightness,  $C^*$  and hue angle was affected significantly by the pre-crystallization technique ( $P < 0.05$ ). The results indicated that hue angle was not affected significantly by using different concentrations of  $\beta_v$  seeds ( $P > 0.05$ ). The hue angle value of milk chocolate samples changed between 0.75-0.81.

Moreover, when comparing the lightness and chroma values of the chocolate samples, it can be concluded that higher values was observed for samples containing high concentrations of  $\beta_v$  seeds ( $P < 0.05$ ) (Table 2). As a general no significant differences was observed between brightness and chroma values of samples containing high levels of  $\beta_v$  seeds ( $P < 0.05$ ). The differences observed regarding the effect of different concentrations of  $\beta_v$  seeds and conventional tempering technique on brightness values and chroma of the chocolate samples was not substantial.

Table 2. Colour parameters of milk chocolate samples

$\beta_v$ seed concentration (g/100 g chocolate)	$L^*$	$C^*$	$b^\circ$	WI
0.00 g/100g (Control)	29.7 ± 0.3 <sup>c</sup>	9.7 ± 0.1 <sup>c</sup>	0.75 ± 0.01 <sup>a</sup>	70.9 ± 0.4 <sup>a</sup>
0.50 g/100g	30.7 ± 0.1 <sup>bc</sup>	11.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.01 <sup>a</sup>	70.2 ± 0.1 <sup>ab</sup>
0.75 g/100g	30.9 ± 0.5 <sup>ab</sup>	10.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.80 ± 0.01 <sup>a</sup>	69.9 ± 0.5 <sup>ab</sup>
1.00 g/100g	31.3 ± 0.2 <sup>ab</sup>	11.5 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.00 <sup>a</sup>	69.7 ± 0.2 <sup>b</sup>
1.50 g/100g	31.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	11.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.00 <sup>a</sup>	69.3 ± 0.6 <sup>b</sup>

Lindecrantz (2014) stated that tempering protocols has a great impact on the colour, surface brightness and molding properties of chocolate. A well-tempered chocolate has glossy surface, good snap, appropriate colour and molding properties. It is also more heat resistant and it has longer shelf-life and the melting properties are better compared to a chocolate that is not well-tempered (Afoakwa et al., 2007).

White index values of milk chocolates are shown in Table 2. The whiteness index values for chocolates samples ranged between 69.3-70.9. Control samples implied higher whiteness index. However no remarkable differences ( $P > 0.05$ ) was observed for samples tempered with different levels of  $\beta_v$  seeds crystals. The whiteness index is determined by crystal network and the polymorphic state of the TAGs crystals. WI is used as an indicator for fat bloom development. Fat blooming of chocolate is influenced by various factors such as; ingredients compositions, storage conditions and temper regimes.

Hartel (2001) reported that the re-crystallization of fats (fat blooming) plays critical role in the final

structure, mechanical properties, appearance, quality and marketability of the chocolate products. Beckett (2000) has attributed whitening index to fat migration, basically induced by insufficient formation of stable polymorphs in cocoa butter during tempering. Improper storage conditions, changes in temperature, or poor tempering and the polymorphic transformation from  $\beta_v$  to  $\beta_{v1}$  develop an increase in the whiteness. The whiteness index could be used as one of the parameters of the defining of polymorphic changes in chocolate matrix (Rousseau and Sonwai, 2008).

Bloom on chocolate with different levels of cocoa butter seed addition was investigated by Kinta and Hartel (2010). The results indicated that when inadequate cocoa butter seed crystals were added to give proper temper, the chocolate developed bloom as dark brown spheres in lighter color areas, similar to that seen in bloom on un-tempered chocolate. However by increasing the seed amount, the dark colored spheres overlapped and the lighter color areas disappeared. The relationship between seed

amount and bloom showed that over 270 ppm seeds (fat basis) were needed to accomplish good tempering.

The results demonstrated that the mechanism of bloom formation on poorly tempered chocolate (insufficient seeds) is due to enough time and space for phase (particles and fat) separation as the stable polymorphs grow.

## CONCLUSIONS

Consumer behaviour has headed towards functional foods due to consumer awareness between diet and health. For this aim, synbiotic milk chocolate was produced using inulin as a prebiotic and *L. acidophilus* as a probiotic. Instead of conventional tempering, seeding technique was employed for a pre-crystallization using  $\beta_V$  seeds at different concentrations ranged between 0.5 and 1.5%. Water activity and moisture content of the chocolate samples tempered with  $\beta_V$  seeds were very close to those of the control sample. Hardness value of the synbiotic milk chocolate was significantly affected by  $\beta_V$  addition. Yield stress and plastic viscosity values of the melted chocolate decreased with increasing seed level. The findings of the present study indicated that pre-crystallization can be achieved by seeding method instead of conventional one.

## ACKNOWLEDGEMENT

This work was funded by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK), Project No: TEYDEB-3140541.

## REFERENCES

Afoakwa, E.O., Paterson, A., Fowler, M. (2007). Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate—a review. *Trends Food Sci Technol*, 18(6): 290–298.

Afoakwa, E., Paterson, A., Fowler, M., Vieira, J. (2008). Particle size distribution and compositional effects on textural properties and appearance of dark chocolates. *J Food Eng*, 87(2): 181–190.

Afoakwa, E.O. (2010). *Chocolate science and technology*. Oxford, UK: Wiley- Blackwell.

Aidoo, R.P., DeClerq, N., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2013). Industrial manufacture of sugar free chocolates—applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends Food Sci Technol*, 32: 84–96.

Beckett, S.T. (1999). *Industrial chocolate manufacture and use* (3<sup>rd</sup> ed.) Blackwell Science, Oxford pp. 153–181, 201–230, 405–428, 460–465.

Beckett, S.T. (2000). *The Science of Chocolate*, London, Royal Society of Chemistry Paperbacks.

Beckett, S.T. (2008). *The science of chocolate* (2<sup>nd</sup> Ed.) London, Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry Campbell LB, Keeney PG (1968). Temper level effects on fat bloom formation on dark chocolate coatings. *Food Technology*, 22: 1150.

Beckett, S.T. (2009). *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. Wiley-Blackwell Publication, 732 s, United Kingdom.

Campbell, L.B., Keeney, P.G. (1968). Temper level effects on fat bloom formation on dark chocolate coatings. *Food Technol*, 22: 1150.

Crittenden, R. (2009). Incorporating probiotics into foods. In Y. K. Lee & S. Salminen (Eds.), *Handbook of probiotics and prebiotics* (pp. 58–75). Hoboken, NJ: JohnWiley & Sons, Inc.

Doleyres, Y., Lacroix, C. (2005). Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. *Int Dairy J*, 15(10): 973–988.

Fernandes, V.A., Müller, A.J., Sandoval, A. J. (2013). Thermal, structural and rheological characteristics of dark chocolate with different compositions. *J Food Eng*, 116(1): 1226–1231.

Glicerina, V., Balestra, F., Rosa, M.D., Romani, S. (2013). Rheological, textural and calorimetric modifications of dark chocolate during process. *J Food Eng*, 119(1): 173–179.

Glicerina, V., Balestra, F., Rosa, M.D., Romani, S. (2016). Microstructural and rheological characteristics of dark, milk and white chocolate: a comparative study. *J Food Eng*, 169: 165–171.

- Hachiya, I., Koyano, T., Sato, K. (1988). Changes in viscosity during crystallization processes of cocoa butter and chocolate. *J Jpn Oil Chem Soc* 37: 613–617.
- Hartel, R.W. (2001). *Crystallization in Food*, Gaithersburg, USA, Aspen Publishers Inc.
- Kinta, Y., Hartel, R.W. (2010). Bloom formation on poorly-tempered chocolate and effects of seed addition. *J Am Oil Chem Soc*, 87: 19–27.
- Konar, N. (2013). Influence of conching temperature and some bulk sweeteners on physical and rheological properties of prebiotic milk chocolate containing inulin. *Eur Food Res Technol*, 23: 135–143.
- Koyano, T., Hachiya, I., Sato, K. (1990). Fat polymorphism and crystal seeding effects on fat bloom stability of dark chocolate. *Food Struct*, 9: 231–240.
- Lalicic-Petronijevic, J., Popov-Raljac, J., Obradovic, D., Radulovic, Z., Paunovic, D., Petrusic, M., Pezo, L. (2015). Viability of probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 and their impact on sensory and rheological properties of milk and dark chocolates during storage for 190 days. *J Func Foods*, 15: 541–550.
- Lindecrantz, A. (2014). Investigation of seedpowder technology for pre-crystallization processing for dark chocolate- Effect on fat crystal structure and storage stability. Master of Science Thesis in the Master Degree Program Biotechnology.
- Lonchamp, P., and Hartel, R.W. (2006). Surface bloom on improperly tempered chocolate. *Europ J Lipid Sci Technol*, 108(2): 159–168.
- Nag, A., Das, S. (2013). Improving ambient temperature stability of probiotics with stress adaptation and fluidized bed drying. *J Func Foods*, 5: 170–177.
- Nebesny, E., Zyz elewicz, D., Motyl, I., Libudzisz, Z. (2007). Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. *Eur Food Res Technol*, 225, 33–42.
- Periche, A., Heredia, A., Escriche, I., Andrés, A., Castelló, M.L. (2015). Potential use of isomaltulose to produce healthier marshmallows. *LWT - Food Sci Technol*, 62: 605–612.
- Portmann, M.O., Birch, G.G. (1995). Sweet taste and solution properties of  $\alpha,\alpha$ -trehalose. *J Sci Food Agr*, 69: 275–281.
- Ribeiro, A.P.B., Basso, R.C., Kieckbusch, T.G. (2013). Effect of the addition of hardfats on the physical properties of cocoa butter. *Eur J Lip Sci Technol*, 115: 301–312.
- Rousseau, D., Sonwai, S. (2008). Influence of the dispersed particulate in chocolate on cocoa butter microstructure and fat crystal growth during storage. *Food Biophys*, 3: 273–278.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *J Biotech*, 84: 197–215.
- Schenk, H., Peschar, R. (2004). Understanding the structure of chocolate. *Radiation Phys Chem*, 71: 829–835.
- Shadwell, N., Villalobos, F., Kern, M., Hong, M.Y. (2013). Blooming reduces the antioxidant capacity of dark chocolate in rats without lowering its capacity to improve lipid profiles. *Nutrition Res*, 33: 414–421.
- Sokmen, A., Gunes, G. (2006). Influence of some bulk sweeteners on rheological properties of chocolate. *LWT-Food Sci Technol*, 39: 1053–1058.
- Zeng, Y., Braun, P., Windhab, E.J. (2002). Tempering—continuous precrystallization of chocolate with seed cocoa butter crystal suspension. *Manuf Confect*, 82(4): 71–80.
- Żyżelewicz, D., Nebesny, E., Motyl, I., Libudzisz, Z. (2010). Effect of Milk Chocolate Supplementation with Lyophilised *Lactobacillus* Cells on its Attributes. *Czech J Food Sci* 28(5): 392–406.



**VAKUM KURUTMA YÖNTEMİ KULLANILARAK ÜRETİLEN  
SADE VE MEYVELİ BAL TOZLARININ BAZI FİZİKSEL,  
KİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ceren Mutlu<sup>1,2</sup> Mustafa Erbaş<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Balıkesir, Türkiye

Geliş / Received: 13.12.2017; Kabul / Accepted: 15.03.2018; Online baskı / Published online: 09.04.2018

Mutlu, C., Erbaş, M. (2018). Vakum kurutma yöntemi kullanılarak üretilen sade ve meyveli bal tozlarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (3) 432-445 doi: 10.15237/gida.GD17113

*Mutlu, C., Erbaş, M. (2018). Determination of some physical, chemical and sensory properties of plain and fruity honey powders produced with vacuum drying method. GIDA (2018) 43 (3) 432-445 doi: 10.15237/gida.GD17113*

**ÖZ**

Araştırmada; vakum kurutma yöntemi ile balın biyoaktif bileşenlerini koruyarak sade ve meyveli bal tozu (karadut, çilek ve portakal) üretimi ve üretilen bal tozlarının soğuk içecek hazırlamak için bal tozu karışımlarına dönüştürülmesi amaçlanmıştır. Bal tozu örneklerine; fiziksel, kimyasal ve duyuşsal analizler yapılmıştır. Bal tozu örneklerinin sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ve hacim ağırlıklı ortalama partikül boyutu değerlerinin sırasıyla 0.60-0.85 g/cm<sup>3</sup> ve 79.99-198.88 µm ve çözünürlüklerin ise %90 değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bal tozu örneklerinin nem içeriği ve su aktivitesi değerlerinin sırasıyla %2.77-4.30 ve 0.27-0.33 olduğu tespit edilmiştir. Üretimde kullanılan balın ve sade bal tozunun diastaz sayılarının sırasıyla 10.51 ve 9.58 olduğu belirlenmiştir. Duyuşsal analiz sonucunda, genel beğeni parametresinin 5 puanlık hedonik skala üzerinden 3 değerinin üzerinde puan aldığı ve çilek suyu içeren örneklerin daha çok beğenildiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Bal, bal tozu, soğuk içecek, diastaz sayısı

**DETERMINATION OF SOME PHYSICAL, CHEMICAL AND  
SENSORY PROPERTIES OF PLAIN AND FRUITY HONEY  
POWDERS PRODUCED WITH VACUUM DRYING METHOD**

**ABSTRACT**

In this study, it was aimed that production of plain and fruity honey powder with vacuum drying method by protecting of bioactive components of honey and conversion of honey powders to honey powder beverage mixture to prepare the cold beverage. Some physical, chemical and sensory analyses were performed. The tapped bulk density and volume mean diameter particle size of honey powder samples were between 0.60-0.85 g/cm<sup>3</sup> and 79.99-198.88 µm, respectively and the solubility of samples was higher than 90%. The moisture content and activity of samples ranged between 2.77-4.30% and 0.27-0.33, respectively. The diastase numbers of honey and plain honey powder sample were 10.51 and 9.58, respectively. According to sensory analysis results, it was determined that overall evaluation parameter got more than 3 points on the 5-point hedonic scale and the honey powder with strawberry juice was more preferred.

**Keywords:** Honey, honey powder, cold beverage, diastase number

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ erbas@akdeniz.edu.tr

☎ (+90) 242 310 6575,

☎ (+90) 242 227 4564

### GİRİŞ

Bal, Türk Gıda Kodeksi'nde; "Bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal ürün" olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2012). Bal yapısında bulunan şeker, protein, su, organik asit, vitamin, mineral, fenolik maddeler ve serbest amino asit gibi birçok makro ve mikro bileşenler nedeniyle sindirimi kolay, besleyici ve birçok hastalığa karşı koruyucu ve tedavi edici özellik gösteren fonksiyonel bir gıda niteliği taşımaktadır (da Silva vd., 2016).

Bal, arının kullandığı kaynağa, üretim veya pazarlanma şekillerine göre çeşitli sınıflara ayrılmaktadır. Ballar arının kullandığı kaynağa göre çiçek ve salgı balı olarak iki gruba ayrılırken, üretim veya pazarlanma şekillerine göre ise petek balı, petekli bal, süzme bal, pres balı, filtre edilmiş bal ve fırıncılık balı olarak sınıflandırılmaktadır (Anonim, 2012; Solayman vd., 2016).

Bal, yüksek viskozitesi ve şeker içeriği nedenleriyle taşıma, işleme ve depolama gibi proses aşamalarında çeşitli sorunlara neden olabilmektedir. Özellikle balın yüksek miktarda glikoz içermesi nedeniyle kristallenme gerçekleşmekte ve balda sıvı ve katı faz ayrımı meydana gelmektedir. Kristallenme tüketiciler tarafından genellikle olumsuz olarak değerlendirilmekte ve satın almayı negatif yönde etkilemektedir. Ayrıca kristallenme sırasında gerçekleşen faz ayrımı sonucunda balın su aktivitesinde meydana gelen artış mikrobiyal gelişmeyi teşvik etmekte ve ürün fermantasyona uğrayarak bozulabilmektedir (Cui vd., 2008; Shi vd., 2013). Belirtilen zorluklar nedeniyle baldan yeni ürünler elde edilmesi için çalışmalar yapılmakta olup; püskürterek kurutma, vakum kurutma ve mikrodalga-vakum kurutma gibi yöntemler kullanılarak bal tozu üretim araştırmaları gerçekleştirilmektedir (Cui vd., 2008; Sahu, 2008; Nurhadi vd., 2012; Samborska vd., 2015). Kurutma işlemi ile elde edilen bal tozunun, nem içeriği ve su aktivitesinin azalmasına bağlı

olarak mikrobiyal bozulmaya karşı daha dayanıklı hale gelmesi ve hacim ve ağırlıkta oluşan azalma ile de paketlenme, taşıma ve depolama işlemlerinin daha kolay yapılabilmesi nedenleriyle sıvı bala göre çeşitli avantajları olduğu bildirilmiştir. Ayrıca üretilen bal tozlarının, diğer toz ürünler ile karıştırılabilmeleri ve süsleme ve aroma maddesi olarak değerlendirilebilmeleri bakımlarından da sıvı bal ürünlerine göre daha geniş kullanım alanlarına sahip oldukları belirtilmiştir (Cui vd., 2008; Shi vd., 2013). Ancak belirtilen bu avantajlarla birlikte kurutma sırasında uygulanan yüksek sıcaklık nedeniyle balın doğal bileşenleri büyük oranda zarar görebilmekte ve bu durum bal tozu üretiminin dezavantajını oluşturmaktadır. Balın doğal özelliklerinin mümkün olduğunca yüksek seviyede korunarak son ürüne dönüştürülebilmesinin sağlıklı beslenme açısından oldukça önemli olduğu ve şeker tozu yerine bal tozu tüketilebilmesinin bu yolla sağlanabileceği değerlendirilmektedir. Literatürde bal tozu üretimine yönelik çeşitli araştırmalar bulunmakla birlikte, doğrudan balın biyoaktif bileşenlerinin korunmasını amaçlayan bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenlerle bu araştırmada; balın biyoaktif özellikleri korunarak sade bal tozu üretilmesi, meyve suyu kullanılarak bal tozu ürün çeşitliliğinin artırılması, elde edilen bal tozunun soğuk içecek hazırlanmasında kullanılmak üzere bal tozu karışımına dönüştürülmesi ve bu yolla tüketicilere sağlıklı bir soğuk içecek hazırlamak için alternatif bir ürün sunulabilmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE METOT

#### Materyal

Araştırmada kullanılan çiçek balı, Arap zıncığı, topaklanma önleyici (trikalsiyum fosfat), asitlik düzenleyici (sitrik asit) ve meyveler (karadut, çilek ve portakal) niteliklerine ve ilgili tebliğlere uygun olarak piyasadan temin edilmiştir. Kimyasal analizlerde kullanılan sarf malzemeleri ise niteliğine uygun olarak analitik ve kromatografik saflıkta temin edilerek, araştırmada kullanılmıştır.

#### Balın kurutulması ve bal tozu üretimi

Daha önce yapılan çalışmalara ve ön denemelere dayanarak balın kurutulmasında taşıyıcı materyal olarak Arap zıncığı seçilmiştir. Bala ilave edilmesi

gereken Arap zımkı miktardı, Arap zımkının homojen bir şekilde çözüdürebilmesi için gerekli saf su veya meyve suyu miktardı ve vakum kurutma koşulları ön denemeler ile belirlenmiştir. Yapılan ön denemelerle hem saf su hem de farklı meyve suları içerisinde Arap zımkının homojen bir şekilde çözünebilmesi için gerekli minimum çözücü miktardı kendi ağırlığının 10 katı kadar olarak tespit edilmiştir. Kendi ağırlığının 10 katı saf su veya meyve suyu ilave edilen Arap zımkı, manyetik karıştırıcı ile 400 rpm hızda 20 dakika karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Saf ve meyve sulu Arap zımkı çözümlerinin hazırlanmasından sonra balın kurutulabilmesi için içermesi gereken Arap zımkı miktardı ise, farklı taşıyıcı oranları (%0 ila 100, %10 artışlar ile) denenerek yapılan ön kurutmalarla bal ağırlığının %50'si olarak belirlenmiştir.

Vakum kurutucu çalışma koşullarının belirlenmesi amacıyla ise; 25 g Arap zımkı, 250 mL saf su veya meyve suyu içerisinde çözüdüürldükten sonra 50 g bal üzerine ilave edilmiş ve 400 rpm'de 10 dakika karıştırılarak homojen hale getirildikten sonra farklı sıcaklık ve süre koşullarında 25 mbar vakumda kurutulmuştur. Sıcaklığın belirlenmesi aşamasında öncelikli olarak 2012/58 numaralı Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonim, 2012) bildirilen bala uygulanacak ısı işlemlerin 45°C'yi aşmaması gerekliliği dikkate alınarak 45°C sıcaklıkta kurutma denemeleri yapılmıştır. Hazırlanmış olan bal-Arap zımkı-çözücü karışımı vakum kurutucunun (Mommert VO200, Almanya) tepsinine yerleştirilmiştir. Belirtilen basınç ve sıcaklık şartları ile yapılan 48 saat sürelik deneme sonunda elde edilen ürünün yapışkan ve sakızimsı nitelikte olduğu ve öğütme işlemi için elverişli olmadığı belirlenmiş ve bu nedenle sadece 45°C sıcaklığın kurutma için yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçtan yola çıkılarak aynı basınç değerinde örneğe 50, 55 ve 60°C kurutma sıcaklıkları da uygulanmış ve 60°C'de yapılan kurutma uygulamasıyla elde edilen ürünün, diğer sıcaklık uygulamalarında elde edilen yapışkan-plastiksi yapıdaki ürünlerden farklı olarak daha camsı ve öğütmeye elverişli olduğu tespit edilmiştir. Balın biyoaktif bileşenlerinin ve özellikle de içerdiği enzimlerin olabildiğince yüksek seviyede korunabilmesi için 45°C ve 60°C

sıcaklık uygulamaları üretim için kombine edilmiştir. Kurutulacak sıvı karışım yüzeyinde kabuk oluşumu başlayıncaya kadar; karışım, yaklaşık 5.5 saat süre ile 45°C ve daha sonra ise kurutma etkinliğini arttırmak için yaklaşık 7.5 saat süre ile 60°C sıcaklık uygulamasında kurutulmuştur. Kurutma sonunda elde edilen örnekler kapaklı cam kavanozlar içerisinde -18°C'de 24 saat bekletildikten sonra bir öğütücü (Bosch, MKM6000, Slovenya) ile 30 saniye öğütülerek toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler yine kapaklı cam kavanozlar içerisinde -18°C'de depolanmış ve analizler gerçekleştirilmiştir.

### Fiziksel analiz yöntemleri

#### Renk analizi

Bal ve bal tozu örneklerinin renk analizleri, renk ölçüm cihazı (Chroma Meter CR-400 Konica-Minolta, Osaka, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, renk cihazının toz ve sıvı örnekler için kullanılan ölçüm kabı içerisine, kabın tabanını tamamen kaplayacak kadar örnek yerleştirilmiş ve 3 ayrı noktadan renk ölçümü yapılarak ortalama  $L^*$  [ (0) siyah - (100) beyaz ],  $a^*$  [ (+) kırmızı - (-) yeşil ] ve  $b^*$  [ (+) sarı - (-) mavi ] değerleri kaydedilmiştir.

#### Yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu analizleri

Bal tozu örneklerinin yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluklarını belirlemek amacıyla; 1 g örnek, 10 mL hacmindeki ölçülü mezüre tartılmıştır. Bal tozu örneklerinin yığın yoğunluğu değeri; tartımdan sonra mezürde ölçülen hacim değeri kullanılarak, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değeri ise; bal tozu partiküllerinin iyi bir şekilde yerleşmesi amacıyla mezürün düz bir zemine 40 kez yavaşça vurulmasından sonra ölçülen hacim değeri kullanılarak örnek ağırlığının hacim değerlerine bölünmesi ile g/cm<sup>3</sup> olarak hesaplanmıştır (Beristain vd., 2001). Bal tozu örneklerinin yapışkanlık özelliğinin bir göstergesi olan Hausner oranı ise, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerinin, yığın yoğunluğu değerine oranlanması ile belirlenmiştir. Akışkanlık özelliğinin göstergesi olan Carr indeksi ise Eşitlik 1'de belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (Turchiuli vd., 2005).

$$Carr\ indeks\ i = \frac{(Sıkıştırılmış\ yoğunluk - yığın\ yoğunluğu)}{Sıkıştırılmış\ yoğunluk} \quad (Eşitlik\ 1)$$

### Partikül boyut analizi

Bal tozu örneklerinin partikül boyutu lazer kırınım prensibi ile çalışan parçacık boyut analiz cihazının (Malvern, Mastersizer 2000, Malvern, UK) toz modülü kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla; 2-propanol içerisinde bir miktar bal tozu örneği ilave edilerek karıştırılmış ve bu karışım cihaz haznesine yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Partikül boyutu ölçümünde; örneğin ve 2-propanolün refraktif indeks değerleri sırasıyla 1.52 ve 1.39 olup, örnek karıştırma hızı 2100 rpm olarak ayarlanmıştır. Elde edilen ölçüm sonuçları hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama partikül boyutu değerleri (µm) olarak verilmiştir (Fuchs vd., 2006).

### Higroskopisite analizi

Bal tozu örneklerin higroskopisite değerlerini belirlemek amacıyla; 1 g bal tozu örneği tabanında doymuş NaCl çözeltisi içeren desikatör içerisinde şartlandırılmış olan behere tartılmış ve bu desikatöre (%75.63, nispi nem) yerleştirilmiştir. Desikatör 25°C sıcaklıkta 1 hafta süreyle bekletilmiştir. Örneklerin higroskopisite değerleri ise süre sonunda yapılan tartım neticesinde belirlenen ağırlık farkı kullanılarak örnek tarafından adsorbe edilen nem miktarı (g/100 g kuru madde) olarak hesaplanmıştır (Tonon vd., 2008).

### Çözünürlük analizi

Bal tozu örneklerinin suda çözünürlüklerini belirlemek amacıyla; 2 g örnek, 18 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı kullanılarak 600 rpm hızla 5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım 3000xg kuvvetinde 5 dakika santrifüj edilmiş ve ayrılan sıvı kısımdan alınan 10 mL örnek, önceden kurutulmuş darası alınmış cam petri kaplarına aktarılmıştır. Petri kapları 60°C'de 48 saat boyunca kurutulmuş ve meydana gelen ağırlık farkından çözünürlük değeri yüzde (%) olarak hesaplanmıştır (Şahin-Nadeem vd., 2013).

### Bulanıklık analizi

Bal tozu örneklerinin bulanıklığı turbidimetre (Hach 2100 N, Loveland, CO, USA) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla; 4 g örnek,

36 mL saf su içerisinde manyetik karıştırıcı kullanılarak 600 rpm hızla 5 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Karışım tüpler içerisinde aktararak turbidimetrenin analiz hücresine konulmuş ve ölçüm sonuçları Nefelometrik Bulanıklık Ünitesi (Nephelometric Turbidity Unit, NTU) olarak belirlenmiştir (Tajchakavit vd., 2001).

### Partikül mikroyapısı analizi

Bal tozu örneklerinin partikül mikroyapıları; 40 kat büyütme yapılarak dijital kamera sistemine sahip stereo mikroskop (Nikon, 745T, Tokyo, Japonya) ile belirlenmiştir (Pedroso vd., 2012).

### Kimyasal analiz yöntemleri

#### Nem ve su aktivitesi analizi

Bal ve bal tozu örneklerinin nem içeriği, nem tayin cihazı (Kern DBS 60-3, Balingen, Almanya) kullanılarak yaklaşık 0.5 g örneğin, 110°C'de kurutulması ile belirlenmiştir. Örneklerin su aktivitesi ( $a_w$ ) değerleri ise su aktivitesi tayin cihazı Aqua Lab 4TE (Decagon Divices, USA) kullanılarak tespit edilmiştir.

#### Titrasyon asitliği ve pH analizi

Bal ve bal tozu örneklerinin pH değerlerini ölçmek için, 1 g örnek 9 mL saf su içerisinde bir homojenizatör (IKA, T25 Ultraturrax, Staufen, Almanya) ile 1 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Elde edilen homojen karışımın pH değeri bir pH metre cihazı (Orion star, Thermo, Waltham, ABD) ile ölçülmüştür. Örneklerin titrasyon asitliği değerleri ise potansiyometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla homojen hale getirilen örnekler, pH değerleri 8.1 oluncaya kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiş ve harcanan NaOH miktarı kaydedilerek sonuçlar meq/kg olarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2013a).

#### Diastaz sayısı analizi

Diastaz sayısı veya amilaz enzimi aktivite birimi literatürde "40°C'de 1 g balda bulunan enzimler tarafından 1 saatte hidroliz edilebilen %1'lik nişasta çözeltisinin mililitre cinsinden hacmi" olarak tanımlanmaktadır (Bogdanov vd., 2002). Bal ve bal tozu örneklerinin diastaz sayıları spektrofotometre (Shimadzu Spectrophotometer

UV-1800, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle analizde kullanılmış olan %2'lik nişasta çözeltisinin standardizasyonu gerçekleştirilmiştir. %2'lik nişasta çözeltisinin standardizasyonu için; içerisinde 9, 10, 12 ve 14 mL saf su bulunan beherler alınarak üzerlerine 5 mL 0.0007 N iyot çözeltisi ilave edilmiştir. Ayrıca 5 mL %2'lik nişasta çözeltisi ve 10 mL saf su ayrı bir beher içerisinde karıştırılmış ve bu karışımdan 0.5 mL alınarak saf su-iyot karışımı içeren beherler üzerine eklenmiştir. Daha sonra her bir beherde bulunan karışımın absorbansı spektrofotometrede 660 nm dalga boyunda belirlenmiş ve absorbans değeri 0.745-0.770 aralığında olan çözeltideki saf su miktarı, nişasta çözeltisinin standardizasyonu için analiz sırasında eklenmesi gereken miktar olarak tespit edilmiştir. Standardizasyon işlemi tamamlandıktan sonra %2'lik nişasta çözeltisi 40°C'lik su banyosuna konularak analiz süresince bekletilmiştir.

Örneklerin diastaz sayılarının belirlenmesi için ise; 2 g örnek, 1 mL 1.59 M asetat tampon çözeltisi (pH 5.3) ve 4 mL saf su homojenizatör kullanılarak 2 dakika süreyle karıştırılmıştır. Elde edilen karışıma 0.6 mL 0.5 N NaCl çözeltisi ilave edildikten sonra toplam hacim 10 mL oluncaya kadar karışıma saf su eklenmiştir. Bu çözeltiden 2 mL alınarak su banyosunda 15 dakika bekletilmiş ve üzerine %2'lik nişasta çözeltisinden 1 mL ilave edilerek kronometre çalıştırılmıştır. Analizin ilk 15 dakikasında her 5 dakikada bir, daha sonra ise her 10 dakikada bir alınan 0.1 mL örnek, 1 mL 0.0007 N iyot çözeltisi ve nişasta standardizasyonunda belirlenen saf su miktarının 1/5'i kadarıyla karıştırılmış ve 660 nm dalga boyunda bu karışımların absorbansları belirlenmiştir. Analize, örnek absorbans değeri 0.235'den daha küçük bir değere ulaşmaya kadar okuma yapılarak devam edilmiştir. Kaydedilen süre ve absorbans değerleri kullanılarak absorbans-süre grafiği çizilmiş ve 0.235 absorbansa karşılık gelen süre, grafik denkleminde elde edilmiştir. Bu süre kullanılarak aşağıda belirtilen Eşitlik 2 yardımıyla örneklerin diastaz sayıları hesaplanmıştır (Bogdanov vd., 2002).

Diastaz sayısı =  $(300 / t_x)$  (Eşitlik 2)  
 $t_x$ : Absorbans-süre grafiğinde 0.235 absorbansa karşılık gelen süre

### Hidroksimetilfurfural analizi

Bal ve bal tozu örneklerinin hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı HPLC cihazı (Shimadzu LC 20A Serisi, Kyoto, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla; 0.5 g örnek 4.5 mL saf su içerisinde 1 dakika süreyle girdap karıştırıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Elde edilen karışım üzerine sırasıyla 1 mL Carrez I ve 1 mL Carrez II çözeltileri eklendikten sonra 7000xg kuvvetinde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ayrılan sıvı kısım alınarak 0.45 µm filtreden geçirilmiş ve HPLC cihazında analiz edilmiştir. Kromatografi koşulları: hareketli faz; asetonitril:su (5 v/v; izokratik), akış hızı; 1 mL/dk, enjeksiyon hacmi; 20 µL, kolon fırını sıcaklığı; 32 °C, kolon; C18 (0.4µm x 5mm x 25cm), dedektör; DAD ve dalga boyu; 280 nm olarak ayarlanmış ve HMF miktarı harici standart metodu ile mg/kg olarak hesaplanmıştır (Rufin-Henares vd., 2006).

### Antioksidan aktivite analizi

Bal ve bal tozu örneklerinin antioksidan aktiviteleri TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite) analiz metodu kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla; 1 g örnek 9 mL potasyum fosfat (pH 7.4) tampon çözeltisi (PBS) içerisinde 80 rpm hızla 30 dakika süreyle yatay olarak çalkalanmıştır (IKA, Rocker 2D, Staufen, Almanya). Elde edilen ekstrakt 15000xg kuvvetinde 10 dakika santrifüj edilmiş ve ayrılan sıvı kısımdan alınan 5, 10, 15 ve 20 µL ekstrakt, absorbansı ayarlanmış ABTS<sup>+</sup> (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) çözeltisi üzerine toplam hacim 1 mL olacak şekilde ilave edilmiştir. ABTS<sup>+</sup> çözeltisinin absorbans ayarlaması 734 nm dalga boyunda, çözelti absorbansı 0.680-0.720 aralığında olacak şekilde PBS tampon çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Absorbansı ayarlanmış ABTS<sup>+</sup> çözeltisi içerisine ilave edilen örnekler 6 dakika karanlık ortamda bekletilmiş ve sonra spektrofotometrede örneklerin absorbans değerleri belirlenmiştir sonuçlar troloks (0-40 µmol/g) çözeltisinin farklı konsantrasyonları ile elde edilen grafik yardımıyla gram örnekte µmol TE (troloks eşdeğeri) olarak hesaplanmıştır (Re vd., 1999).

### Duyusal analiz

Duyusal analiz; gıda mühendisliği bölümü lisansüstü öğrencilerinden oluşturulan 10 kişilik



bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için bal tozu örnekleri (%97) içerisine asitlik düzenleyici (sitrik asit, %2) ve topaklanma önleyici (trikalsiyum fosfat, %1) maddeler ilave edilerek bal tozu karışımları hazırlanmıştır. Hazırlanan bal tozu karışımlarından 5 g tartılmış ve +4°C sıcaklığındaki 45 mL su ile manyetik karıştırıcı kullanılarak 600 rpm hızla 5 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen soğuk bal tozu karışımı içecekleri panelist değerlendirmesine sunulmuştur. Panelistler tarafından içecek örneklerinin duyuşal değerlendirilmesi; görünüm, berraklık, koku, tat ve genel beğeni özelliklerine göre 5 puanlık hedonik skalada (1: çok kötü, 5: çok iyi) puanlamayla yapılmıştır.

### İstatistiksel analiz

Araştırmada sade ve meyveli bal tozu örneklerinin üretimleri iki tekerrürlü, örneklere yapılan

analizler ise paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Verilere varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Tüm istatistik hesaplamalar için SAS istatistik programı (Cary, NC, ABD) kullanılmış ve sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde düzenlenmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Araştırmada kullanılan çiçek balının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Bal tozu üretiminde kullanılan balın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir. Üretimde kullanılan bal üzerinde yapılan bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçlarına göre balın, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne (Anonim, 2012) uygunluğu ve literatür ile uyumluluğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Çiçek balının fiziksel ve kimyasal özellikleri

Table 1. Physical and chemical properties of blossom honey

Özellik / Property	Değer / Value
L*	26.00 $\pm$ 0.13
a*	-2.92 $\pm$ 0.33
b*	12.63 $\pm$ 0.68
Nem / Moisture (%)	14.48 $\pm$ 0.54
Su aktivitesi / Water activity	0.58 $\pm$ 0.00
Titrasyon asitliği / Titratable acidity (meq/kg)	31.09 $\pm$ 0.62
pH	4.75 $\pm$ 0.02
Diastaz sayısı / Diastase number	10.51 $\pm$ 0.98
HMF (mg/kg)	24.82 $\pm$ 1.05
Antioksidan aktivite / Antioxidant activity ( $\mu$ mol TE/g)	4.70 $\pm$ 0.13

Araştırmada kullanılan balın; nem içeriği, titrasyon asitliği, diastaz sayısı ve HMF içeriği bakımından Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonim, 2012) bildirilen yasal limitlere uygun olduğu ve bu değerlerin önceki bilimsel araştırma sonuçlarıyla da uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca araştırmada kullanılan bal üzerinde Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde (Anonim, 2012) bulunmayan; renk, su aktivitesi, pH değeri ve antioksidan aktivite analizleri de yapılmış ve elde edilen sonuçların önceki bilimsel çalışmalar ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Nem içeriği ve su aktivitesi değerlerinin düşük olması, balın mikroorganizmalar tarafından fermantasyona uğramasını engellemekte ve

kristallenmeye karşı daha stabil bir ürün olmasını sağlamaktadır (Islam vd., 2012). Balda özellikle 0.61 su aktivitesi değerinden yüksek değerlerde osmotolerant maya gelişimlerinin gözlemlendiği ve balın mikrobiyolojik olarak bozulmaya başladığı bildirilmiştir (Küçük vd., 2007). Yapılan bir çalışmada çiçek balların nem içeriği ve su aktivitesi değerlerinin sırasıyla %7.99-17.40 ve 0.50-0.69 aralığında olduğu rapor edilmiştir (Tornuk vd., 2013). Balda artan titrasyon asitliği değeri, balın mayalar tarafından fermantasyona uğraması ile ilişkilendirilmekte ve bu nedenle düşük olması istenilmektedir (Tornuk vd., 2013). Yapılan bir araştırmada analiz edilen balların titrasyon asitliği ve pH değerlerinin sırasıyla 15.44-50.75 meq/kg ve 3.40-5.31 aralığında değiştiği bildirilmiştir

(Karabagias vd., 2014). Balın tazeliği ve biyoaktivitesi ile ilişkilendirilen diastaz sayısı ve HMF içeriği, balda takip edilen önemli kalite parametreleri olup, diastaz sayısının 8 değerinden düşük ve/veya HMF miktarının 40 mg/kg değerinden yüksek olması balda uygun olmayan depolama koşulları ve ısı işlem uygulamalarının göstergeleri olarak kabul edilmektedir (Simsek vd., 2012). Türkiye balları üzerinde yapılan bir araştırmada, bal örneklerinin diastaz sayılarının 6.30-13.20 değerleri aralığında ve HMF miktarlarının ise 0.61-62.24 mg/kg aralığında değiştiği rapor edilmiştir (Can vd., 2015). Balın antioksidan aktivitesinin temel olarak yapısında bulunan fenolik bileşikler, peptidler, amino asitler, organik asitler, enzimler ve Maillard reaksiyonu ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Socha vd., 2011). Yapılan bir araştırmada çiçek ve salı balı örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin 0.97-7.46  $\mu\text{mol TE/g}$  aralığında olduğu bildirilmiştir (Sancho vd., 2016).

### Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin fiziksel özellikleri

Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin renk analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Balın kurutmaya hazırlanmasında su ve farklı meyve sularının çözücü olarak kullanılmasının, bal tozu örneklerinin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  renk değerleri üzerine önemli ( $P < 0.01$ ) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Çözücü olarak ilave edilen meyve sularının doğal renklerine bağlı olarak, bal tozlarında ölçülen renk değerlerinde de tahmin edildiği gibi farklılıklar meydana gelmiştir. Renk analizi sonuçları incelendiğinde, en yüksek  $L^*$  renk değeri (91.57) diğer örneklerle göre daha açık renge sahip olan sade bal tozu örneğinde, en düşük  $L^*$  renk değeri (42.80) ise daha koyu renge sahip olan karadut suyu içeren bal tozu örneğinde tespit edilmiştir. En yüksek  $a^*$  ve  $b^*$  renk değerleri ise çilek ve portakal suyu içeren örneklerde sırasıyla 21.42 ve 32.68 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 2. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin renk özellikleri

Table 2. Color properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Sade / Plain	91.57±0.01 <sup>a</sup>	-1.00±0.01 <sup>b</sup>	12.95±0.42 <sup>c</sup>
Karadutlu / Black mulberry	42.80±1.45 <sup>d</sup>	20.69±0.24 <sup>a</sup>	6.03±0.42 <sup>d</sup>
Çilekli / Strawberry	69.52±1.60 <sup>c</sup>	21.42±0.72 <sup>a</sup>	20.34±0.55 <sup>b</sup>
Portakallı / Orange	87.15±0.18 <sup>b</sup>	-4.83±0.07 <sup>c</sup>	32.68±2.98 <sup>a</sup>
Önem / Sign.	**	**	**

\* :  $P < 0.05$

\*\* :  $P < 0.01$

Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin fiziksel analiz sonuçları Çizelge 3 ve 4'de verilmiştir. Balın kurutmaya hazırlanmasında su ve farklı meyve sularının çözücü olarak kullanılmasının, bal tozu örneklerinin incelenen tüm fiziksel özellikleri üzerine önemli ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ) bir etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Yığın yoğunluğu, toz ürünlerin özellikle paketlenme, depolanma ve taşınma aşamalarında etkili bir faktör olması bakımından gıda sanayi için oldukça önemli bir parametredir (Khalilian Movahhed ve Mohebbi, 2015). Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin 0.60-0.85  $\text{g/cm}^3$  aralığında olduğu tespit edilmiştir. Çözücü olarak meyve suyu

kullanılan örneklerin sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin sade örneklerle göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Meyveli bal tozlarının sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin, saf su kullanılarak üretilen sade bal tozlarına göre daha yüksek olarak tespit edilmesinin, meyve suyunun içerdiği yoğunluğu şeker olan çözünen bileşenlerden kaynaklandığı değerlendirilmiştir.

Bal tozu örneklerinin Carr indeksi ve Hausner oranı değerlerinin sırasıyla 0.27-0.37 ve 1.38-1.59 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Carr indeksi ve Hausner oranı değerlerinin düşük olması, toz ürünlerin akışkanlığının iyi olduğunu ve partiküller arasındaki kohezyonun düşük olduğunu göstermektedir (Turchiuli vd., 2005;

Samborska vd., 2015). Elde edilen Carr indeksi değerleri Turchiuli vd., (2005) tarafından 0.05 (çok iyi) – 0.40 (çok kötü) olarak ölçeklendirilen skala ile kıyaslandığında; sade ve meyveli bal tozu örneklerinin akışkanlık özelliği olumsuz olarak değerlendirilmiştir (Samborska vd., 2015).

tarafından yapılan bir araştırmada farklı oranlarda Arap zıkkı ilavesi ile püskürterek kurutma yöntemi ile üretilmiş bal tozu örneklerinin Hausner oranlarının 1.11-1.29 aralığında değiştiği rapor edilmiştir.

Çizelge 3. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin bazı fiziksel özellikleri  
Table 3. Some physical properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu / Tapped bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	Yığın yoğunluğu / Bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	Carr indeksi / Carr index	Hausner oranı / Hausner ratio
Sade / Plain	0.60±0.02 <sup>c</sup>	0.43±0.00 <sup>b</sup>	0.27±0.02 <sup>b</sup>	1.38±0.03 <sup>b</sup>
Karadutlu / Black mulberry	0.83±0.02 <sup>a</sup>	0.53±0.02 <sup>a</sup>	0.37±0.01 <sup>a</sup>	1.59±0.01 <sup>a</sup>
Çilekli / Strawberry	0.74±0.01 <sup>b</sup>	0.50±0.02 <sup>a</sup>	0.35±0.04 <sup>a</sup>	1.56±0.08 <sup>ba</sup>
Portakallı / Orange	0.85±0.02 <sup>a</sup>	0.55±0.01 <sup>a</sup>	0.36±0.01 <sup>a</sup>	1.57±0.03 <sup>ba</sup>
Önem / Sign.	**	*	*	*

\* : P < 0.05

\*\* : P < 0.01

Çizelge 4. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin bazı fiziksel özellikleri  
Table 4. Some physical properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	Partikül boyutu / Particle size (µm) <sup>a</sup>	Partikül boyutu / Particle size (µm) <sup>b</sup>	Higroskopisite / Hygroscopticity (g/100g)	Çözünürlük / Solubility (%)	Bulanıklık / Turbidity (NTU)
Sade / Plain	79.99±6.25 <sup>b</sup>	15.51±2.33 <sup>b</sup>	20.07±0.20 <sup>ba</sup>	93.67±0.12 <sup>b</sup>	123.25±1.75 <sup>d</sup>
Karadutlu / Black mulberry	175.88±0.41 <sup>a</sup>	59.02±8.03 <sup>ba</sup>	20.22±0.29 <sup>ba</sup>	93.59±0.02 <sup>b</sup>	1714.50±51.50 <sup>a</sup>
Çilekli / Strawberry	174.63±17.99 <sup>a</sup>	68.24±32.24 <sup>ba</sup>	20.70±0.08 <sup>a</sup>	94.38±0.12 <sup>a</sup>	526.75±2.75 <sup>c</sup>
Portakallı / Orange	198.88±0.03 <sup>a</sup>	98.77±3.32 <sup>a</sup>	19.62±0.15 <sup>b</sup>	92.73±0.09 <sup>c</sup>	749.00±39.00 <sup>b</sup>
Önem / Sign.	**	*	*	**	**

\* : P < 0.05

\*\* : P < 0.01

a: hacim ağırlıklı ortalama partikül boyutu / volume weighted mean diameter

b: yüzey ağırlıklı ortalama partikül boyutu / surface weighted mean diameter

Bal tozu örneklerinin hacim ve yüzey ağırlıklı partikül boyutu değerlerinin sırasıyla 79.99-198.88 ve 15.51-98.77 µm aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Çözücü olarak meyve suyu içeren bal tozu örneklerinin, saf su kullanılarak üretilen örneklere göre daha yüksek partikül boyutu değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sade, portakallı, çilekli ve karadutlu bal tozu örneklerinin span değerleri sırasıyla 2.10, 2.34, 2.30 ve 2.52 olarak tespit edilmiştir. Span değerleri incelendiğinde; meyveli bal tozu örneklerinin span değerlerinin sade bal tozu örneklerinden daha

yüksek ve buna bağlı olarak da partikül boyut dağılımının sade bal tozu örneklerine göre daha heterojen olduğu belirlenmiştir. Hacim ve yüzey ağırlıklı ortalama partikül boyutu ve span değerlerindeki farklılığın, granüllerin aglomerasyonundan kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Meyve suyu içeren bal tozu örneklerinde meyveden gelen partiküller ve ilave şeker içeriği nedeniyle özellikle öğütme işlemi sırasında öğütülen partiküllerin hızlı bir şekilde nem çekmesi sonucu bir aglomerasyonun meydana geldiği gözlenmiştir. Portakal suyunun vakum-

püskürterek kurutma yöntemi ile kurutulduğu bir çalışmada portakalın içerdiği şekerler ve organik asitler nedeniyle üretilen toz ürünlerin nem çekme ve yapışkanlık özelliklerinin arttığı ve bu duruma bağlı olarak partikül boyutunun da arttığı bildirilmiştir (İslam vd., 2016).

Bal tozu örneklerinin higroskopisite değerlerinin 19.62-20.70 g/100g kuru madde arasında değiştiği tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile üretilen ve Arap zımmı içeren bal tozu örneklerinin higroskopisite değerlerinin ortalama 25.4 g/100g olduğu rapor edilmiştir (Suhag ve Nanda, 2016). Bir diğer çalışmada ise, vakum kurutma yöntemi ile üretilen ve 4 saatlik süre boyunca doygun NaCl çözeltisi içeren ortamda bekletilen bal tozu örneklerinin higroskopisite değerlerinin 12.0-13.7 g/100 g aralığında değiştiği bildirilmiştir (Nurhadi vd., 2012).

Çözünürlük analizi sonuçlarına göre, üretilen bal tozu örneklerinin %92 değerinden daha yüksek bir çözünürlük değerlerine sahip oldukları ve en yüksek çözünürlüğün %94.38 değeri ile çilek suyu içeren bal tozu örneğine ait olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada püskürterek kurutma yöntemi ile toz haline getirilen mandalina, karpuz ve ananas meyve sularının çözünürlük değerlerinin, yüksek şeker içeriğine ve azalan nem miktarına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (Saikia vd., 2015).

Bulanıklık analizi sonuçları incelendiğinde, örneklerin bulanıklığının 123.25-1714.50 NTU

değerleri arasında değiştiği ve sade bal tozu örneğinin bulanıklık değerinin diğer örneklere göre daha düşük olduğu, karadut suyu içeren bal tozu örneğinin bulanıklığının ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Meyve suyu içeren bal tozu örneklerinin bulanıklık değerinin meyveden gelen partiküller ve renk maddeleri nedeniyle sade bal tozu örneğine göre daha yüksek olduğu değerlendirilmiştir. Ayrıca karadut suyu içeren bal tozu örneğinin yüksek bulanıklık değerinin ise antosiyoninlerin oluşturduğu ilave partiküllerden ve koyu renkli renk maddelerinin varlığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bulanıklığın sıvı içerisinde süspansiyon ve kolloid halde bulunan partiküller ile renkli bileşen varlığına bağlı olarak değiştiği rapor edilmiştir (Collado-Fernandez vd., 2000; Şahin-Nadeem vd., 2013).

Sade ve meyveli bal tozu örneklerine ait stereo mikroskop görüntüleri Şekil 1'de verilmiştir. Bal tozu örneklerine ait stereo mikroskop görüntüleri incelendiğinde örneklerin kristal yapıda ve farklı partikül boyutlarında oldukları görülmektedir.

#### Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin kimyasal özellikleri

Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin bazı kimyasal analiz sonuçları Çizelge 5 ve 6'da verilmiştir. Balın kurutmaya hazırlanmasında su ve farklı meyve sularının çözücü olarak kullanılmasının bal tozu örneklerinin belirlenen tüm kimyasal özellikleri üzerine önemli ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin bazı kimyasal özellikleri

Table 5. Some chemical properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	Nem / Moisture (%)	Su aktivitesi / Water activity	Titrasyon asitliği / Titratable acidity (meq/kg)	pH
Sade / Plain	4.30±0.14 <sup>a</sup>	0.27±0.02 <sup>c</sup>	26.14±0.22 <sup>c</sup>	5.50±0.04 <sup>a</sup>
Karadutlu / Black mulberry	3.50±0.23 <sup>b</sup>	0.30±0.01 <sup>cb</sup>	318.76±21.48 <sup>b</sup>	4.26±0.04 <sup>b</sup>
Çilekli / Strawberry	3.20±0.23 <sup>cb</sup>	0.31±0.00 <sup>ba</sup>	385.97±26.09 <sup>a</sup>	3.92±0.06 <sup>c</sup>
Portakallı / Orange	2.77±0.02 <sup>c</sup>	0.33±0.00 <sup>a</sup>	267.55±3.81 <sup>b</sup>	4.26±0.00 <sup>b</sup>
Önem / Sign.	*	*	**	**

\* :  $P < 0.05$

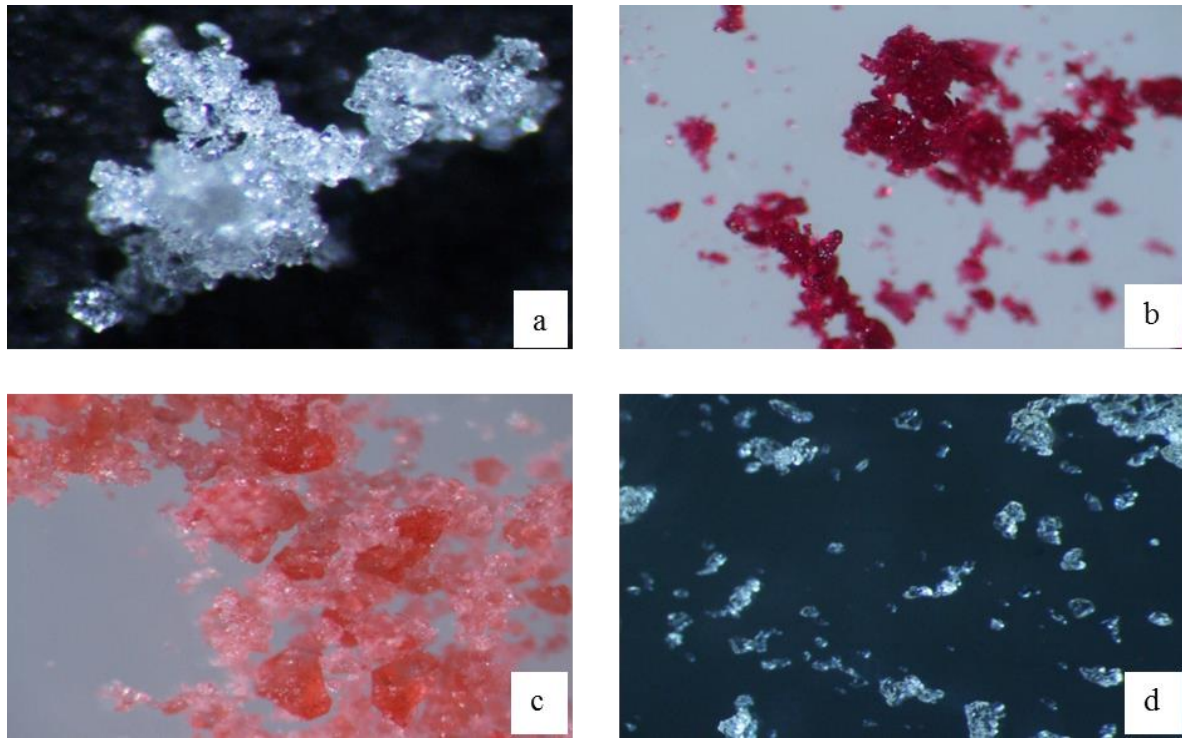
\*\* :  $P < 0.01$

Çizelge 6. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin bazı kimyasal özellikleri  
Table 6. Some chemical properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	Diastaz sayısı / Diastase number	HMF (mg/kg)	Antioksidan aktivite / Antioxidant activity (µmol TE/g)
Sade / Plain	9.58±0.39 <sup>a</sup>	11.86±0.40 <sup>ba</sup>	7.16±0.08 <sup>d</sup>
Karadutlu / Black mulberry	2.74±0.58 <sup>b</sup>	11.19±0.40 <sup>b</sup>	196.91±2.27 <sup>a</sup>
Çilekli / Strawberry	2.54±1.09 <sup>b</sup>	15.21±1.69 <sup>a</sup>	100.35±0.61 <sup>b</sup>
Portakallı / Orange	2.14±0.30 <sup>b</sup>	14.37±0.44 <sup>ba</sup>	62.45±1.70 <sup>c</sup>
Önem / Sign.	**	*	**

\* : P < 0.05

\*\* : P < 0.01



Şekil 1. Sade ve meyveli bal tozu örneklerine ait stereo mikroskop görüntüleri (Büyütme: 40X; a:saf su, b:karadut suyu, c:çilek suyu, d:portakal suyu)

Figure 1. Stereo microscope images of plain and fruity honey powder samples (Zoom: 40x; a:distilled water, b:black mulberry juice, c:strawberry juice, d:orange juice)

Bal tozu örneklerinin nem içeriği ve su aktivitesi değerlerinin sırasıyla %2.77-4.30 ve 0.27-0.33 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sade bal tozu örneğinin nem içeriğinin meyve suyu içeren bal tozu örneklerine göre daha yüksek, ancak su aktivitesi değerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Meyve suyunda bulunan ilave şekerlerin aynı kurutma şartlarında meyveli bal tozlarında sade bal tozuna göre daha düşük miktarda su kalmasına neden olduğu değerlendirilmiştir. Meyveli bal tozu örneklerinin sade bal tozu örneğine göre daha düşük su içeriklerine rağmen daha yüksek su aktivitesi değerlerine sahip olmasının ise, meyveli örneklerde ilave şekerler etkisiyle daha yüksek miktarda olduğu düşünülen kristalizasyondan

kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Çünkü kristal yapıya dahil olan şeker molekülleri, su molekülleri ile arasında olan hidrojen bağlarını birbirleri arasında daha çok kurarlar ve görece serbest kalan su molekülleri ise su aktivitesinin yükselmesine neden olur. Ürünlerdeki şeker molekülleri ve özellikle de glikoz miktarındaki artışa bağlı olarak meydana gelen kristalizasyonunun, su aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Ram, 2011). Vakum kurutma yöntemi kullanılarak 60°C sıcaklıkta bal tozu üretiminin gerçekleştirildiği bir çalışmada örneklerin nem içeriği ve su aktivitesi değerleri sırasıyla %2.0 ve 0.29 olarak bildirilmiştir (Nurhadi vd., 2012).

Bal tozu örneklerinin titrasyon asitliği ve pH değerlerinin sırasıyla 26.14-385.97 meq/kg ve 3.92-5.50 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sade bal tozu örneklerinin titrasyon asitliğinin meyve suyu içeren bal tozu örneklerine göre daha düşük, pH değerinin ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılıkların meyvelerden gelen organik asit miktar ve çeşitliliğinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Meyve suyu içeren örnekler arasında ise çilekli bal tozu örneklerinin en yüksek titrasyon asitliği ve en düşük pH değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Meyvelerin organik asit bileşimi ve miktarı bakımından tür içerisinde ve türler arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Cemeroğlu, 2013b).

Bal tozu örneklerinin diastaz sayısı değerlerinin 2.14-9.58 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, sade bal tozu örneklerinin diastaz sayısı değerlerinin, diğer bal tozu örneklerine göre daha yüksek ve Türk Gıda Kodeksi'nde ifade edilmiş olan minimum 8 değerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Sade bal tozu üretimi sırasında diastaz sayısının taze balın diastaz sayısına (10.51) göre %91 oranında korunabildiği tespit edilmiştir. Ancak meyveli bal tozlarında balın diastaz sayısının korunamadığı ve diastaz sayısının bal için yasal limit olan 8 değerinin altında olduğu belirlenmiştir. Meyveli bal tozu örneklerine ait diastaz sayılarının sade bal tozu örneğine göre oldukça düşük değerlerde olmasının, meyveden gelen asidik ortamın enzimlerin konformasyonel yapılarını değiştirmesi

nedeniyle kurutma sıcaklığının enzimler üzerinde daha yüksek inaktive edici bir etki oluşturmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, 1 saat süresince oda sıcaklığında pH değerleri 4 ve 3.8 olan iki farklı ortamda bekletilen amilaz enzim aktivitelerinin sırasıyla %78 ve %90 oranında azaldığı ve pH 3.6 ortamında bekletilen enzimlerde ise aktivite tespit edilemediği bildirilmiştir (Babacan ve Rand, 2007). Vakum kurutma yöntemi ile Arap zıncığı ve diastaz sayısı 8.3 olan taze bal kullanılarak bal tozu üretiminin yapıldığı bir çalışmada, kurutma sonunda elde edilen örneklerin diastaz sayısının 7.2 olduğu bildirilmiştir (Nurhadi vd., 2012).

Bal tozu örneklerinin HMF miktarlarının 11.19-15.21 mg/kg değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, çilekli bal tozu örneklerinin HMF miktarının diğer bal tozu örneklerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılığın örneklerin içerdiği organik asit, serbest aminoasit ve şeker çeşitleri ve miktarlarından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Bazı organik asitlerin disakkaritler gibi şeker moleküllerinin hidrolizini hızlandırarak ve fruktoz gibi bazı monosakkaritleri ise Maillard reaksiyonu için daha aktif hale getirerek HMF oluşumunu hızlandırdığı rapor edilmiştir (Kreissl vd., 2016).

Bal tozu örneklerinin antioksidan aktivitelerinin 7.16-196.91  $\mu\text{mol TE/g}$  değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, en yüksek ve en düşük antioksidan aktivite değerleri sırasıyla sade ve karadutlu bal tozu örneklerinde belirlenmiştir. Sade ve meyveli bal tozlarının antioksidan aktiviteleri arasındaki büyük farklılığın çözücü olarak kullanılan saf su ve meyve sularının bileşim farklılığından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Meyveler, bileşimlerinde bulunan flavonoid, karotenoid ve antosiyaninler gibi fenolik maddeler, organik asitler ve askorbik asit gibi bileşenler nedeniyle yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Liu, 2013; Nile ve Park, 2014). Ayrıca hem sade hem de meyveli bal tozu örneklerinin antioksidan aktivite değerlerinin üretimde kullanılan bala (4.70  $\mu\text{mol TE/g}$ ) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun ise balın kurutulup toz forma

getirilebilmesi amacıyla taşıyıcı materyal olarak bala ilave edilen Arap zamkının yapısında bulunabilen glukonik asit (Onoğur-Altuğ, 2009) ve kalsiyum, magnezyum ve potasyum gibi minerallerin etkisinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada kalsiyum ve magnezyum miktarının antioksidan aktivite ile ilişkili olduğu ve bu bileşenlerin miktarına bağlı olarak antioksidan aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Aazza vd., 2014). Bir diğer çalışmada ise Arap zamkının sahip olduğu yüksek çözünürlük ve emülsifikasyon özellikleri nedeniyle antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerin korunmasında oldukça etkili olduğu rapor edilmiştir (Suhag ve Nanda, 2016).

### Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin duyu özellikleri

Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin duyu analiz sonuçları Çizelge 7’de verilmiştir. Balın kurutmaya hazırlanmasında su ve farklı meyve sularının çözücü olarak kullanılmasının, bal tozu içeceklerinin; berraklık, tat ve genel beğeni duyu özellikleri üzerine önemli ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ) bir etkisinin bulunduğu belirlenmiştir. Panelistler tarafından yapılan değerlendirme sonuçları incelendiğinde, sade bal tozu örneklerinin berraklık, çilekli bal tozu örneklerinin ise tat ve genel beğeni duyu özellik değerlerinin diğer örnekler göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca tüm bal tozu içecekleri 5 puanlık skalada 3 ve üzerinde puanlandığı için duyu açıdan kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 7. Sade ve meyveli bal tozu örneklerinin duyu özellikleri

Table 7. Sensorial properties of plain and fruity honey powder samples

Örnek / Sample	Görünüm / Appearance	Berraklık / Clarity	Koku / Odour	Tat / Taste	Genel beğeni / Overall
Sade / Plain	3.50±0.20 <sup>a</sup>	4.70±0.10 <sup>a</sup>	3.45±0.25 <sup>a</sup>	3.50±0.10 <sup>b</sup>	3.45±0.05 <sup>b</sup>
Karadutlu / Black mulberry	4.15±0.15 <sup>a</sup>	3.25±0.05 <sup>b</sup>	3.90±0.20 <sup>a</sup>	3.65±0.15 <sup>b</sup>	3.65±0.15 <sup>b</sup>
Çilekli / Strawberry	4.00±0.20 <sup>a</sup>	3.35±0.05 <sup>b</sup>	4.40±0.10 <sup>a</sup>	4.10±0.00 <sup>a</sup>	4.30±0.20 <sup>a</sup>
Portakallı / Orange	4.20±0.20 <sup>a</sup>	3.60±0.20 <sup>b</sup>	3.85±0.35 <sup>a</sup>	3.60±0.10 <sup>b</sup>	3.80±0.00 <sup>ba</sup>
Önem / Sign.	–	**	–	*	*

\* :  $P < 0.05$

\*\* :  $P < 0.01$

### SONUÇ

Sonuç olarak; vakum kurutma yöntemi ve Arap zamkı taşıyıcı materyali kullanımı ile balın sahip olduğu enzim gibi biyoaktif bileşenlerin korunarak sade bal tozu üretiminin gerçekleştirilebileceği belirlenmiş olup, ürünlerin çeşitliliğini arttırmak için kullanılan meyve suları ile elde edilen örneklerde ise enzim aktivitesinin yeterince korunamadığı ancak örneklerin antioksidan aktivitelerinin atırlabildiği tespit edilmiştir. Bal tozu örnekleri, asitlik düzenleyici ve topaklanma önleyici maddeler ile oluşturulan bal tozu karışımı ile hazırlanan soğuk içecekler ile gerçekleştirilen duyu analiz neticesinde ise çilek suyu içeren bal tozu örneklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiği belirlenmiştir. Elde edilen bal tozu içecek karışımları ile düşük miktarlarda tüketilen bala olan talebin

arttırılabileceği ve böylece sağlıklı beslenmeye katkı sağlanabileceği değerlendirilmiştir.

### TEŞEKKÜR

Projeye (1002 Hızlı Destek Programı-Proje No: 215O005) verdikleri destek nedeniyle Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu’na (TÜBİTAK) teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., Miguel, M.G. (2014). Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys. *Int J Food Sci Nutr*, 65(4): 449-457.

Anonim (2012). Türk gıda kodeksi. Bal tıblığı (2012/58). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 27 temmuz 2012 tarih ve 28366 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

- Babacan, S., A. Rand, G. (2007). Characterization of honey amylase. *J Food Sci*, 72(1): C050-C055.
- Beristain, C.I., Garcia, H.S., Vernon-Carter, E.J. (2001). Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *LWT - Food Sci Technol*, 34(6): 398-401.
- Bogdanov, S., Martin, P., Lullmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld, Switzerland, 62 p.
- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumtay, E.A., Silici, S., Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chem*, 180: 133-141.
- Cemeroğlu, B.S. (2013a). Gıda analizleri. Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye, 480 s. ISBN:978-605-63419-3-9.
- Cemeroğlu, B.S. (2013b). Meyve ve sebze işleme teknolojisi (1. cilt). Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye, 707 s. ISBN:978-605-63419-0-8.
- Collado-Fernandez, M., Gonzalez-Sanjosé, M., Pino-Navarro, R. (2000). Evaluation of turbidity: correlation between Kerstesz turbidimeter and nephelometric turbidimeter. *Food Chem*, 71(4): 563-566.
- Cui, Z.-W., Sun, L.-J., Chen, W., Sun, D.-W. (2008). Preparation of dry honey by microwave-vacuum drying. *J Food Eng*, 84(4): 582-590.
- da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R. (2016). Honey: chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem*, 196: 309-323.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard M.N., Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *J Food Eng*, 75(1): 27-35.
- Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complem Altern M*, 12(1): 1.
- Islam, M., Kitamura, Y., Yamano, Y., Kitamura, M. (2016). Effect of vacuum spray drying on the physicochemical properties, water sorption and glass transition phenomenon of orange juice powder. *J Food Eng*, 169: 131-140.
- Karabagias, I.K., Vavoura, M.V., Nikolaou, C., Badeka, A.V., Kontakos, S., Kontominas, M.G. (2014). Floral authentication of Greek unifloral honeys based on the combination of phenolic compounds, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Res Int*, 62: 753-760.
- Khalilian Movahhed, M., Mohebbi, M. (2015). Spray drying and process optimization of carrot-celery juice. *J Food Process Pres*, 40: 212-225.
- Kreissl, H.T., Nakagawa, K., Peng, Y.-K., Koito, Y., Zheng, J., Tsang, S.C.E. (2016). Niobium oxides: correlation of acidity with structure and catalytic performance in sucrose conversion to 5-hydroxymethylfurfural. *J Catal*, 338: 329-339.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*, 100(2): 526-534.
- Liu, R.H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Adv Nutr*, 4(3): 384-392.
- Nile, S.H., Park, S.W. (2014). Edible berries: bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 30(2): 134-144.
- Nurhadi, B., Andoyo, R., Indiarito, R. (2012). Study the properties of honey powder produced from spray drying and vacuum drying method. *Int Food Res J*, 19(3): 907-912.
- Onoğur-Altuğ, T. (2009). Gıda katkı maddeleri. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 271s. ISBN: 9759740801.
- Pedroso, D.d.L., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2012). Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. *Int Dairy J*, 26(2): 127-132.
- Ram, A.K. (2011). Production of spray-dried honey powder and its application in bread.



- Faculty of the Louisiana State University, Master of Science in the Department of Food Science, Louisiana, USA, 83 p.
- 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 Bio Med*, 26(9): 1231-1237.
- Rufin-Henares, J.A., Delgado-Andrade, C., Morales, F.J. (2006). Application of a fast high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of furanic compounds and glucosylisomaltol in breakfast cereals. *J AOAC Int*, 89(1): 161-165.
- Sahu, J.K. (2008). The effect of additives on vacuum dried honey powder properties. *Int J Food Eng*, 4(8).
- Saikia, S., Mahnot, N.K., Mahanta, C.L. (2015). Effect of spray drying of four fruit juices on physicochemical, phytochemical and antioxidant properties. *J Food Process Pres*, 39(6): 1656-1664.
- Samborska, K., Gajek, P., Kamińska-Dwórznička, A. (2015). Spray drying of honey: the effect of drying agents on powder properties. *Pol J F Nutr Sci*, 65(2): 109-118.
- Sancho, M.T., Pascual-Maté, A., Rodríguez-Morales, E.G., Osés, S.M., Escriche, I., Periche, Á., Fernández-Muiño, M.A. (2016). Critical assessment of antioxidant-related parameters of honey. *Int J Food Sci Technol*, 51(1): 30-36.
- Shi, Q., Fang, Z., Bhandari, B. (2013). Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Dry Technol*, 31(13-14): 1681-1692.
- Simsek, A., Bilsel, M., Goren, A.C. (2012). 13 C/12 C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS. *Food Chem*, 130(4): 1115-1121.
- Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Galkowska, D., Fortuna, T., Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *Int J Food Sci Technol*, 46(3): 528-534.
- Solayman, M., Islam, M., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M., Alam, N., Gan, S.H. (2016). Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. *Compr Rev Food Sci*, 15(1): 219-233.
- Suhag, Y., Nanda, V. (2016). Evaluation of different carrier agents with respect to physicochemical, functional and morphological characteristics of spray dried nutritionally rich honey powder. *J Food Process Pres*, 40(2016): 1429-1437.
- Şahin-Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., Özdemir, F. (2013). Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa Miller*) by spray drying. *LWT-Food Sci Technol*, 52(1): 31-38.
- Tajchakavit, S., Boye, J.I., Couture, R. (2001). Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food Res Int*, 34(5): 415-424.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M.D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *J Food Eng*, 88(3): 411-418.
- Tornuk, F., Karaman, S., Ozturk, I., Toker, O.S., Tastemur, B., Sagdic, O., Dogan, M., Kayacier, A. (2013). Quality characterization of artisanal and retail Turkish blossom honeys: determination of physicochemical, microbiological, bioactive properties and aroma profile. *Ind Crop Prod*, 46: 124-131.
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M.N., Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 6(1): 29-35.

## CHİA TOHUMUNUN (*SALVIA HISPANICA*) FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Merve Yurt\*, Ceren Gezer

Doğu Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gazimağusa, KKTC

Geliş / Received: 09.10.2017; Kabul / Accepted: 24.02.2018; Online baskı / Published online: 18.04.2018

Yurt, M., Gezer, C. (2018). Chia tohumunun (*Salvia hispanica*) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *GIDA* (2018) 43 (3): 446-460 doi: 10.153237/gida.GD17093

Yurt, M., Gezer, C. (2018). A current functional food chia seed (*Salvia hispanica*) and its effects on health. *GIDA* (2018) 43 (3): 446-460 doi: 10.153237/gida.GD17093

### ÖZ

Chia tohumu yağ, protein, diyet posası, mineral ve fenolik bileşikler bakımından zengindir. Chia tohumunda bulunan klorojenik asit, kafeik asit, mirisetin, kuarsetin, kampferol gibi fenolik bileşikler ve tokoferol, fitosterol, karotenoidler antioksidan etki gösterebilmektedir. Chia tohumu, çoklu doymamış yağ asitleri ve özellikle omega-3 yağ asidi içeriği nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, inflamatuvar hastalıklar ve bazı kanser türlerine karşı koruyucu etki gösterebilmektedir. Chia tohumu sade olarak, un haline getirilerek ve yağı ayrıştırılarak yoğurt ve kek gibi birçok besine eklenebilmektedir. Ayrıca gıda sanayinde su tutucu, emulsifiyer ajan ve kıvam artırıcı olarak kullanılabilir. Günümüzde chia tohumunun besin bileşeni içeriği ve sağlık etkileriyle ilgili araştırmaların artması sonucu fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilmektedir. Ancak bu konuda daha fazla randomize kontrollü çift kör çalışmalara ve meta-analiz çalışmalarına ihtiyaç vardır. Bu derlemenin amacı chia tohumunun fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkilerinin irdelenmesidir.

**Anahtar kelimeler:** *Salvia hispanica*, chia tohumu, fonksiyonel gıda, kardiyovasküler hastalık, obezite

## THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF CHIA (*SALVIA HISPANICA*) SEEDS AND THEIR EFFECTS ON HEALTH

### ABSTRACT

Chia seeds are rich in fat, protein, dietary fibers, minerals, and phenolic compounds. Chia seeds contain phenolic compounds including chlorogenic acid, caffeic acid, myricetin, quercetin, and kaempferol, and antioxidants including tocopherol, phytosterol, and carotenoids. Moreover, the polyunsaturated fatty acid content, particularly omega-3 fatty acids, have a protective effect against cardiovascular diseases, hypertension, inflammatory diseases, and certain types of cancers. Chia seed can be added to various types of foods from yogurt to cakes either in their natural form or by milling or extracting their fat content. Moreover, the seeds can be used as a water retainer, emulsifying agents, and thickeners in the food industry. Currently, chia seeds are regarded as a functional food due to the increasing number of studies on its nutrient content and effects on health. However, further studies performing randomized, double-blind, controlled studies and meta-analysis studies focusing on the subject are needed. This review examines the functional properties of chia seeds and their effects on health.

**Keywords:** *Salvia hispanica*, chia seed, functional food, cardiovascular disease, obesity

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉ merve.yurt@emu.edu.tr,

☎ (+90) 0392 630 3007

☎ (+90) 0392 630 3940

## GİRİŞ

Chia, İspanyolca yağlı anlamına gelen chian/chien kelimesinden türemiştir (Muñoz vd., 2013). Salba olarak da bilinen Lamiaceae ailesine ait tek yıllık bir bitkidir. Lamiaceae ailesine ait birçok chia bitkisi (*Salvia columbaria* Beth, *Salvia hispanica* L., *Salvia polystachya*) bulunmakla birlikte sıklıkla kullanılan türü *Salvia hispanica*'dır (Marcinek ve Krejpcio, 2017). Chia tohumu kökeni güney Meksika ve kuzey Guatemala'ya dayanmaktadır. Milattan önce 3500'lü yıllardan itibaren Aztek ve Mayalılar tarafından tüketildiği bilinmektedir. Chia, Meksika halkı için milattan önce 1500 ve 900'lü yıllar arasında mısır ve amarant gibi tahıllarla birlikte tüketilen temel bir ekin ürünüydü (Ulbricht vd., 2009).

Mezoamerikan toplumlarda, chia tohumu suya eklenerek lapa gibi ya da farklı tahıllardan elde edilen unlar ile karıştırılarak pişirilmiştir (Valdivia-Lopez ve Tecante 2015). Aztek ve Mayalılar'ın chiaı, geleneksel tıbbın bir parçası olarak ilaç yapımında, tohumların yağının ayrıştırılmasıyla boya eldesinde, savaşçıların güç ve dayanıklılığının artırılması amacıyla kullandığı bilinmektedir. Chia tohumu, o dönemde mesaj taşıyan habercilerin enerji vermesi amacıyla sıklıkla tükettiği bir besin olduğu için Aztekliler tarafından 'koşu besini' (running food) olarak tanımlanmıştır. Ayrıca chia tohumu dini ritüellerinde bir parçasıydı; Aztek halkı, emirleri altındaki insanlardan haraç olarak chia tohumu alır ve onu dini kutlamalarda Nahua tanrısına hediye olarak sunar (Muñoz vd., 2013). Günümüzde de zengin ve çeşitli besin bileşeni içeriği nedeniyle besin, kozmetik, ilaç üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Muñoz vd., 2013; Ulbricht vd., 2009). Bu derleme makalenin amacı chia tohumunun besin ögesi ve diğer bileşen içeriği ile sağlık etkilerinin değerlendirilmesidir.

## CHIA BİTKİSİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Chia tohumu ticari olarak Bolivia ve Paraguay'da üretilmektedir. Ancak son on yıldır Meksika, Avustralya ve Arjantin gibi ülkelerde de chia bitkisinin ekimi yaygın olarak yapılmaktadır (Sosa vd., 2016). Chia, tropik ya da ılıman iklimlerde yetişen tek yıllık ve hermafrodit bir bitkidir. Yaz aylarında çiçeklenen bu bitkinin boyu yaklaşık bir

metre, yapraklarının uzunluğu 4-8 cm ve genişliği 3-5 cm'i bulabilmektedir. Bunun yanında chia, 11-36 °C arasındaki sıcaklıkta büyüyüp tohum üretebilmektedir. Bitki çok düşük sıcaklıklara duyarlı olduğu için tohumun gelişim süreci için en ideal sıcaklık 16-26 °C'dir (Bochicchio vd., 2015). Düşük miktarda besin ögesi içeren, pH değeri 6.0-8.5 arasında olan yarı kurak topraklar bitki için idealdir (Yeboah vd., 2014). Chia tohumu yaklaşık olarak 2 mm boyunda, oval görümlü, gri, siyah, kahverengi ya da beyaz renkli olup üzerinde koyu renkli noktalar bulunmaktadır. Chia tohumu; kabuk, embriyo ve endosperm olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Valdivia-Lopez ve Tecante 201). Chia tohumu hidroskopik özelliğinden dolayı 20-65 °C ve %7-91 nemli ortamda özelliklerini kaybetmeden saklanabilmektedir (8). Tohumun su ile teması sonucu kabuktaki musilaj oluşturabilecek polisakarit yapı suyu tutarak tohum etrafında kapsül gibi jelatin bir yapı oluşturmaktadır (Moreira vd., 2012). Bu jelatinimsi musilaj yapıda ksiloz, glikoz ve 4-metil glukuronik asit gibi bileşenler bulunmaktadır (Orona-Tamayo vd., 2016).

## CHIA TOHUMUNUN BESİN ÖGESİ BİLEŞİMİ

Chia tohumunun 100 gramı 42.1 g karbonhidrat, 30.7 g yağ ve 16.5 g protein içermekte ve ortalama 486 kkal enerji vermektedir. Tohum, elzem yağ asitlerinden  $\alpha$ -linolenik asidi (ALA, n-3) yüksek miktarda içermektedir. Kalsiyum, fosfor, potasyum ve magnezyum içeriği yüksek olup sodyum, demir ve çinko içeriği düşüktür. Ayrıca, niasin, A vitamini ve diyet posası bakımından zengin olup C vitamini bakımından yetersizdir. Chia tohumunun enerji ve besin ögesi bileşimi Çizelge 1'de gösterilmiştir (USDA, 2017). Ayrıca yapılan değerlendirmelerde tohumda herhangi bir ağır metal ve mitotoksin belirlenmediği bildirilmektedir (EFSA, 2009).

Chia bitkisinin gelişim süreci; erken, orta, geç bitki, filizlenme ve tomurcuklanma olmak üzere beş aşamada incelenmektedir. Bitkinin olgunlaşma sürecinde ALA içeriğinde %23'lük bir azalma, linoleik asit (LA) ve lignin içeriğinde ise artış olmaktadır. Chia tohumunun enerji ve besin ögesi içeriği iklim koşullarına, yetiştiği toprağın

denizden yüksekliğine ve besin ögesi içeriğine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, bitkinin protein içeriği sıcaklık arttıkça azalmakta yağ

içeriği ise topraktaki tuz oranı arttıkça azalmaktadır (Ayerza ve Coates 2011).

Çizelge 1. Chia tohumunun enerji ve besin ögesi bileşimi (USDA, 2017)

Besin ögesi	Miktar (100g)
Enerji (kkal)	486
Karbonhidrat (g)	42.1
Protein (g)	16.5
Lösin (g)	1.371
Fenilalanin (g)	1.016
Lizin (g)	0.970
Valin (g)	0.950
İzolösin (g)	0.801
Treonin (g)	0.709
Metionin (g)	0.588
Histidin (g)	0.531
Triptofan (g)	0.436
Yağ (g)	30.7
Doymuş yağ asidi (DYA) (g)	3.3
Tekli doymamış yağ asidi (TDYA)(g)	2.3
Çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) (g)	23.6
Linoleik asit (18:2)	5.8
Alfa linolenik asit (18:3)	17.8
Diyet posası (g)	34.4
Kalsiyum (mg)	631
Demir (mg)	7.7
Magnezyum (mg)	335
Fosfor (mg)	860
Potasyum (mg)	407
Sodyum (mg)	16
Çinko (mg)	4.5
C vitamini (mg)	1.6
Tiamin (mg)	0.62
Riboflavin (mg)	0.2
Niasin (mg)	8.8
A vitamini (IU)	54
E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)	0.5

Chia bir zamanlar sadece Meksika ve Guatamala halkının temel tahıl kaynağı iken şimdilerde geniş bir tüketici kitlesine sahiptir (Jamboonsri vd., 2012). Besin ögesi içeriği nedeniyle chia tohumu, sağlığı korumak ve geliştirmek için fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilmektedir (Marcinek ve Krejpcio, 2017). Sıklıkla tohum olarak, chia tohumu unu elde edilerek, çeşitli besinlere eklenecek, yağı ayrıştırılıp besin desteği olarak tüketilebilmektedir. Örneğin, chia tohumu ve unu, müsli ve kahvaltılık gevrek, ekmekek, kek, tatlı ve çeşitli içeceklerle eklenebilmektedir. Chia tohumu, özellikle öne çıkan yağ asidi örüntüsü ve antioksidan kapasitesiyle ilişkili sağlık etkileri nedeniyle popüler bir fonksiyonel gıda haline gelmiştir (Oliveira-Alves vd., 2017).

### Chia Tohumu Proteinleri

Chia tohumunun protein içeriği %15 ile %23 arasında değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla mısır (%14), buğday (%14), pirinç (%8.5), arpa (%9.2), yulaf (%15.3) ve amarant (%14.8) tahıllarının protein içeriğine kıyasla daha yüksektir (EFSA, 2009). Tohum, tüm elzem amino asitleri uygun miktarlarda içermektedir (Çizelge 1). Ayrıca gluten içermediği için çölyak hastalarının tüketebileceği bir besindir (Marcinek ve Krejpcio, 2017; USDA, 2017).

Chia tohumu, globülin (%52), albümin (%17.3), gliadin (%14.5) ve prolamin (%12.7) proteinlerini içermektedir (Sandoval-Oliveros ve Paredes-López, 2012). En yüksek oranda bulunan globülin proteini; glutamik asit, aspartik asit, treonin ve histidin içermektedir. Glutamik asit, metabolik aktiviteler için önemli bir amino asit olup merkezi sinir sistemini uyarır, immün fonksiyonları artırır ve sporcular için dayanıklılığın artmasını sağlar (McCormack vd., 2015; Brosnan ve Brosnan 2013). Chia tohumu unu, kükürtlü amino asitler (sistin ve metionin; 2.7 g), arjinin (4.2 g), aspartik asit (4.7 g) ve glutamik asit (7.0 g) içermektedir. Aspartik asit, sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesine yardımcı olmakta ve arjinin ise kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etki gösterebilmektedir (Sandoval-Oliveros ve Paredes-López, 2012; Boger, 2014).

Chia tohumu, kan basıncının dengelenmesini sağlayan peptitler bakımından da iyi bir kaynaktır.

Albümin, globülin, prolamin ve glutelin proteinlerinin farklı peptidazlar (pepsin, tripsin ve kimotripsin) ile hidrolizi sonucunda oluşan peptidler anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonu ile antihipertansif etki gösterebilmektedir (Orona-Tamayo vd., 2015). Ayrıca chia tohumu prolin, lösin, izolösin ve fenilalanin gibi hidrofobik amino asitleri yüksek miktarda içermektedir. Hidrofobik aminoasitlerden üretilen peptitler de ACE'nin inhibisyonu üzerine etki gösterebilmektedir (Salazar-Vega vd., 2012).

### Chia Tohumu Yağları

Chia tohumu yaklaşık %30-35 oranında yağ içermektedir (Muñoz vd., 2013). Chia tohumunun yetiştiği yer, sıcaklık ve hasat edilme zamanı yağ miktarı ile yağ asidi örüntüsünü etkilemektedir. Chia bitkisinin yetiştiği yerin denizden yüksekliğinin azalması ve ortam ısısının artması doymuş yağ asidi (DYA) miktarında artışa neden olabilmektedir. Nisan-Mayıs aylarında gelişen tohumların, hava sıcaklığındaki artışa bağlı olarak çoklu doymamış yağ asidi (ÇDYA) oranlarında azalma olabilmektedir (Ayerza, 2009).

Meksika'da üretilen chia tohumlarının toplam yağ miktarı Jalisco bölgesinde  $29.7 \pm 4.05$ , Sinaloa bölgesinde  $25.5 \pm 4.55$  olarak belirlenmiş olup her iki bölgede yetişen chia tohumlarının ortalama %62 oranında ALA içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca Jalisco ve Sinaloa bölgelerinde yetişen chia tohumlarının toplam fitosterol içeriği sırasıyla  $12.6 \pm 3.80$  g/kg ve  $8.15 \pm 2.12$  g/kg olarak belirlenmiş olup yer fıstığı, kolza, aspir, susam ve rafine edilmemiş ayçiçek yağına kıyasla daha fazladır (Álvarez-Chávez vd., 2008).

Chia tohumunda yüksek oranda ÇDYA (%80) ve düşük oranda DYA bulunmakta, diğer bitkisel n-3 kaynaklarına kıyasla daha yüksek oranda n-3 içermektedir (Ayerza ve Coates 2011; da Silva Marineli vd., 2014). Tohumdaki yağın %55-64'ü n-3 yağ asitleri, %18-20'si ise n-6 yağ asitlerinden oluşmaktadır (Muñoz vd., 2013; Mohd Ali vd., 2012; Ullah vd., 2016).

Yağın n-6/n-3 oranı 0.3 olarak belirlenmiş olup bu oranın düşük olması kardiyovasküler hastalık riskini azaltıcı etki gösterebilmektedir (Timilsena

vd., 2017). Chia tohumundaki n-6/n-3 oranı diğer bitkisel yağlardan mısır (76.5), kanola (2.2), soya (6.7) ve zeytinyağına (17.8) kıyasla oldukça düşüktür (Álvarez-Chávez vd., 2008). Avustralya chia tohumu yağının -34 °C ile 300 °C arasında stabil kalabilmesi nedeniyle salata sosundan kızartmaya kadar birçok alanda kullanılabilmesi bildirilmektedir (Timilsena vd., 2017). Ancak chia tohumu yağının stabil kalabileceği sıcaklık aralığı ve kızartmada kullanımına bağlı gelişebilecek sağlık etkilerinin araştırmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

### Chia Tohumu ve Diyet Posası

Chia tohumu içerisindeki diyet posası; yüksek molekül ağırlığında tetrasakkarit yapıya sahip 4-0-metil- $\alpha$ -D-glukoronopiranozil ve dallı yapıya sahip  $\beta$ -D-ksilopronozil polisakkaritlerinden oluşmaktadır. Monosakkarit yapısının ise %16'sını D-ksiloz ve D-mannoz, %2'sini D-arabinoz, %6'sını D-glikoz, %3'ünü D-galaktöüronik asit ve %12'sini glukronik asit oluşturmaktadır (Capitani vd., 2012).

Chia tohumundaki diyet posanın büyük bir kısmını çözümlü posa (53.45 g/100g chia tohumu) oluşturmaktadır. Çözümlü posa, suyu yapısında tutup doyunluk hissini artırıp sindirimi yavaşlatmakta, yemek sonrası kan glikozunun yavaş yükselmesini sağlayarak insülin salınımını yavaşlatmaktadır (Vuksan vd., 2007). Ayrıca, bağırsak fonksiyonlarını olumlu yönde değiştirmekte, safra asitlerinin emilimini engelleyerek serum kolesterolünün azalmasına ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyuculuk göstermekte ve antioksidan özelliği ile kanser riskini azaltabilmektedir (Borderías vd., 2005; Liu vd., 2015).

### Chia Tohumu Fenolik Bileşikleri ve Antioksidan Etkileri

Chia tohumu bazı fenolik bileşikler, tokoferol, karotenoid, vitaminler ve bazı peptitler gibi antioksidan bileşenleri içermektedir. Flavonoidler ve tokoferol tohumun antioksidan kapasitesinden sorumlu temel yapılardır. Chia tohumunun antioksidan kapasitesi 84/g'dır ve bu değer yaban mersininin antioksidan kapasitesine (96/g) yakındır (Pellegrini vd., 2003). Antioksidan kapasitenin yüksek olması tohumun uzun süre

saklanabilmesini sağlamaktadır. Tokoferoller, chia tohumu (238-427 mg/kg) ve yer fıstığı yağında (398.6 mg/kg) benzer miktarlarda olup chia tohumundaki en önemli antioksidan bileşiklerdir. Chia tohumu aynı zamanda gallik asit, kafeik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, myristin, kuarsetin ve kampferol gibi fenolik bileşikler de içermektedir (Muñoz vd., 2013). Çizelge 2'de chia tohumunun çeşitli araştırma sonuçlarında elde edilen fenolik bileşik içerikleri özetlenmiştir (Orona-Tamayo vd., 2016; Capitani vd., 2012).

Antioksidan etki gösterebilen bu fenolik bileşikler hücredeki oksidatif dengenin sağlanmasını destekleyerek kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kanser gibi kronik hastalıklardan koruyucu olabilmektedirler. Kafeik asit, klorojenik asit ve kuarsetin hücredeki yağlar, proteinler ve DNA'nın serbest radikaller ile okside olmasını engelleyerek antioksidan özelliği gösterebilmektedir (Muñoz vd., 2013; Martinez-Cruz ve Paredes-Lopez, 2014).

Çizelge 2. Chia tohumunda fenolik bileşen kompozisyonu (Orona-Tamayo vd., 2016; Capitani vd., 2012)

Bileşenler	mg/g tohum
Fenolik asitler	
Gallik asit	0.0115
Kafeik asit	0.027-0.086
Klorojenik asit	0.013-0.074
Rosmarinik asit	0.9267
Esterler	
Protokateşik etil esterleri	0.7471
İzoflovanlar	
Daistein	0.0066
Glisit	0.0014
Geniştin	0.0034
Glisit	0.0005
Genistein	0.0051
Flavanoller	
Kuarsetin	0.0181-0.209
Kaempferol	0.0057-0.0435
Mirisetin	0.0095

Meksika'da yetişen, işlenmemiş chia tohumlarında temel antioksidanların kuarsetin ve kaempferol olduğu kafeik ve klorojenik asit miktarlarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Ancak Jalisco bölgesinde yetişen chia tohumlarının Sinaloa bölgesinde yetişenlere göre antioksidan kapasitesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yağı ayrıştırılmış chia tohumu ununun diyet posası bakımından zengin kısımda kafeik ve klorojenik asit içeriği diğer tahıl unlarına kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Chia tohumu ununun antioksidan etkisi şarap, kahve ve çaya benzerdir (Vázquez-Ovando vd., 2010).

Chia'nın in vivo olarak antioksidan kapasitesinin değerlendirildiği çalışmalar ise çok sınırlıdır. Obez ratlar üzerine yapılan bir çalışmada; ratlara 6 ve 12 hafta yüksek yağ ve yüksek fruktoz içeren diyet ile birlikte chia tohumu ve chia yağı verildiğinde chia tohumu ve yağının kanda katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesini, karaciğerde glutatyon redüktaz (GRd) aktivitesini artırdığı bunun sonucunda kanda ve karaciğerdeki antioksidan kapasitenin sırasıyla %35 ve %47 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir (da Silva Marineli vd., 2015).

### **CHIA TOHUMUNUN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ**

Klinik çalışmalar chia tohumu tüketiminin, tohumunun besin ögesi içeriği nedeniyle, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların metabolik kontrolünü ayrıca obezitede ağırlık kaybını sağlayabileceğini belirlemiştir (Çizelge 3).

### **Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerine Etkisi**

DYA alımının artması ve ÇDYA alımının azalması kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve metabolik sendrom gibi kronik hastalıkların riskini artırmaktadır. Chia tohumu n-3 yağ asitlerinin doğal bir kaynağı olarak kan trigliseridinin (Guevara-Cruz vd., 2012) düşmesi ve  $\beta$ -sterol içeriği sayesinde kan kolesterol düzeylerinin düzenlenmesinde etkili olabilmektedir (Alonso-Calderón vd., 2013).

İnsanlarda chia tohumu tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisinin değerlendirildiği bir sistematik derlemede; chia tohumunun kardiyovasküler risk parametrelerini iyileştirici etkisinin net olmadığı sonucuna varılmıştır (de Souza Ferreira vd., 2015). Ancak dislipidemik ratlar üzerine yapılan çalışmalar kan lipid profilinin iyileşmesi üzerine olumlu etki göstermiştir. Dislipidemik ve insülin direnci olan ratlar üzerine yapılan bir çalışmada; yüksek sükröz içeren diyet ile birlikte bir gruba chia tohumu diğer gruba ise mısır nişastası verilmiş ve üç hafta sonunda chia tohumunun dislipidemi riskini azalttığı belirlenmiştir. İki ayın sonunda ise tohum tüketimi insülin düzeyleri üzerine etki göstermezken, dislipidemi üzerine olumlu etki göstermiş ve abdominal obezitenin azalmasını sağlamıştır (Chicco vd., 2009). Diğer bir çalışmada ratlarda chia tüketimi kan TG seviyesini azaltırken HDL seviyesinin artmasına yardımcı olmuştur. Özellikle tam tane halindeki chia tohumunun kan TG'nin düşmesinde öğütülmüş chia tohumu ve chia yağına kıyasla daha etkili olmuştur. Öğütülmüş chia tohumu ise diğerlerine kıyasla HDL'nin artışını anlamlı düzeyde artırmıştır (Ayerza ve Coates, 2007).

Çizelge 3. Chia tohumu ile yapılmış klinik çalışmalar

Klinik çalışma	Katılımcı sayısı Katılımcı profili Cinsiyet	Yaş (yıl)	Metot	Sonuç	Olası mekanizma
Vuksan vd. (2007)	20; Tip 2 diyabet; Kadın ve erkek	64±8	12 hafta ; Kanada Diyabet Enstitüsünün beslenme önerileri; ≤%10 şeker, <%10 DYA, düşük glisemik indeksli, 25-35 g diyet posası, karbonhidrat: protein: yağ yaklaşık olarak enerjinin %55:15:30 Ekmeğin içerisine: (1)15 g/ 1000 kkal/gün chia tohumu (37±4 g/gün) (2)15 g/ 1000 kkal/gün yulaf kepeği (37±4 g/gün)	Her iki grupta HbA1c, açlık kan glikoz ve insülin, LDL, toplam kolesterol ve TG ↔ Yulaf kepeği tüketen grupta bir değişiklik olmazken, Chia tüketen grubun; (1)Sistolik kan basıncı (KB) 6.3±4.2 mmHg düşmüştür (p<0.001). (2)CRP (mm/l) %40±1.6 azalmıştır (p<0.04). (3)Von Willebrand Factor (vWF) %21±0.3 düşmüştür (p<0.03). (4)Plazma ALA ve EPA miktarları artmış (p<0.05), DHA'da bir değişiklik olmamıştır.	Chia daki n-3 yağ asitleri vWF ↓ Plazma ALA ve EPA ↑ KB ve CRP ↓ Chia proteinleri ACE inhibasyonunu sağlamış olabilir.
Nieman vd. (2009)	76; Sağlıklı; BKI ≥25 kg/m <sup>2</sup> , Kadın ve erkek	20-70	12 hafta; • Diyetler ; (1) Günde iki kere 250 ml su ile birlikte 25 gram chia tohumu (2) Kontrol grubuna chia tohumu ile benzer karbonhidrat, protein ve yağ içeren; soya ve ayçiçek yağı, havuç posası ve tapyoka nişastası	Müdahale grubunda plazma ALA düzeyi %24 oranında artmıştır (67.3±5.6'dan 83.7±8.5 mg/Ml'ye). Müdahale ve kontrol grubunda bakılan diğer parametrelerde bir değişim gözlenmemiştir.	Plasebo suplemantasyonu ALA kaynağı bir besin içermemekteydi bu nedenle plazma ALA ↔
Vuksan vd. (2010)	11; Sağlıklı; Kadın ve erkek	30±3.6	Diyetler; (1) 50 gram karbonhidrat içeren beyaz ekmeğin içerisine 7, 15 ve 24 gram chia tohumu eklenmiştir. (2) Kontrol grubu 50 gram karbonhidrat içeren ekmeği tüketmiş.	Kontrol grubu ile kıyaslandığında düşük, orta ve yüksek dozlar kan glikozunu sırasıyla %21, %28 ve %41 oranında ↓ Yüksek dozda 60 dk ve sonraki dakikalarda, düşük dozda ise 120 dk'dan sonra iştah üzerine olumlu etki göstermiştir.	Chia tohumunun yüksek diyet posası içeriği sayesinde tokluk sağlamıştır.
Ilhan vd. (2011)	6, Erkek; Dayanıklılık sporu yapan atletler		Atletlere izokalorik olarak sadece karbonhidrat (%100 gatorade) yüklenmiş. Sonrasında chia tohumu ile birlikte karbonhidrat (%50 chia tohumlu içecek %50 gatorade) yüklenmiştir.	Sadece karbonhidrat yüklenen grup ile chia tohumu ile birlikte karbonhidrat yüklenen grup arasında 10 km mesafeyi koşma süreleri arasında bir farklılık bulunamamıştır. Atletlerin bir kısmı chia tohumunun performanslarını artırdığını ifade etmiştir.	Ekstra enerjinin %50 chia tohumu içeceğinden sağlanmıştır. Bu sayede egzersiz anında yağın kullanımını artırmış ve glikojenin idareli kullanımını sağlamıştır.



Çizelge 3. Chia tohumu ile yapılmış klinik çalışmalar (devamı)

Klinik çalışma	Katılımcı sayısı Katılımcı profili Cinsiyet	Yaş (yıl)	Metot	Sonuç	Olası mekanizma
Nieman vd. (2012)	56; Sağlıklı; Kadın Postmenapozal BKI $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup>	49-75	10 hafta; Diyetler ; (1) 25 gram/gün öğütülmüş chia tohumu (2) 25 gram/gün bütün chia tohumu (3) Kontrol grubu 25 gram/gün haşhaş tohumu	Öğütülmüş chia tohumu tüketen grupta plazma ALA (%58.4) ve EPA (%38.6)↑. Diğer iki grupta ALA ve EPA ↔	25 gram öğütülmüş ya da bütün chia tohumu plazma ALA düzeyini artıramamıştır.  Haşhaş tohumu ALA içermemektedir bu nedenle plazma ALA ↔ Balık ve deniz ürünleri kısıtlandığı için plazma DHA ↓
Jin vd. (2012)	• 10; Sağlıklı; Kadın, Postmenopozal; BKI $\leq 35$ kg/m <sup>2</sup>	55.6±0.8	7 hafta; Bireyler standart diyetlerine devam etmiştir.  Her katılımcı 25 g/gün öğütülmüş chia tohumu	Katılımcıların plazma ALA (%138) ve EPA (%30) değerlerinde artış  DHA ↓  Katılımcıların vücut ağırlığı ↔	
Guevar-Cruz vd. (2012)	67 ; Metabolik sendrom; Kadın ve erkek; BKI 25-39 kg/m <sup>2</sup>	20-60	2 ay; Çalışma iki kısımdan oluşmaktadır Birinci kısım; iki hafta boyunca düşük kolesterolü ve düşük DYA içeren 500 kkal/gün kısıtlı diyet  İkinci kısım; 500 kkal enerji kısıtlaması devam ediyor. Diyetler; (1) Müdahale grubu, 4 gram chia, yulaf, kurutulmuş frenk yemişi ve soya proteini 250 ml su ile birlikte günde iki kez tüketiliyor (ortalama 235 kkal'lik içecek).  (2)Plasebo grubu, 30 gram kalsiyum kazinat, 30 gram maltodekstrin tüketiyor.	Plasebo grubundaki ABCA1 R230C varyantına sahip bireylerin kilo kaybı ABCA1 R230R varyantındaki bireylere göre daha fazla olmuştur. Ayrıca ABCA1 R230C varyantının plazma adiponektin konsantrasyonu ABCA1 R230R varyantına göre daha çok artmıştır. Müdahale grubunda farklı varyantların vücut ağırlığı üzerine etkisi saptanamamıştır.  Çalışma sonunda her iki gruptaki bireylerin BKI değerleri, vücut ağırlığı ve bel çevresi ↓  Sadece müdahale grubundaki bireylerin TG, CRP ve insülin ↓  Her iki grupta kan glikoz, kolesterol, LDL, HDL, leptin ve adiponektin ↔	Chia tohumu n-3 yağ asitleri ve antioksidan ↑ tohum CRP ↓  Metabolik sendrom hem genetik hem de çevresel etmenlerden etkilendiği için bu çalışmada glisemi ve insülin düzeyleri üzerine etkisi saptanamamıştır.
Ho vd. (2013)	13; Sağlıklı; Kadın ve erkek	Belirtilmedi	Besin alımından 15, 30, 45, 60, 90 ve 120. dk sonra kapiller kan alınmıştır.  0, 7, 15, 24 g öğütülmüş veya bütün chia tohumu beyaz ekmeğe eklenmiştir. Ekmeklerin enerji, karbonhidrat, protein ve yağ miktarları eşittir.	Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; chia dozunun artışı postprandiyel glikoz düzeyini sırasıyla %20, %28, %35 oranında düşürmüştür.  Bütün ya da işlenmiş chia ürünlerinin kan glikozu üzerine etkisinde bir fark bulunamamıştır.	Chia tohumunun içerdiği diyet posası sayesinde post prandiyel glisemiyi ↓

Çizelge 3. Chia tohumu ile yapılmış klinik çalışmalar (devamı)

Klinik çalışma	Katılımcı sayısı Katılımcı profili • Cinsiyet	Yaş (yıl)	Metot	Sonuç	Olası mekanizma
de Souza Ferreira vd. (2015)	200 kişi; Hafif şişman veya obez; Kadın ve erkek		7 çalışmadan oluşan sistematik bir derleme	Bazı çalışmalarda dislipidemi önlediği, kan basıncını ve serum inflamasyon belirteçlerini düşürdüğü sonucuna varılsa da chia tohumu tüketiminin kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi net değildir.	
Vuksan vd. (2017a)	• 77 • Tip-2 diyabet (≥1 yıldır) • Kadın ve erkek • Hafif şişman veya obez	60±2	6 ay; Tüm katılımcılara 500 kkal'lik enerji kısıtlaması yapılmıştır. Diyetler; (1) 30 g/ 1000 kkal/gün chia tohumu (2) 36 g/ 1000 kkal/gün yulaf kepeği	Her iki grubun HbA1C ve açlık glikoz ↔  Chia tohumu tüketen bireylerde yulaf kepeği tüketenler kıyaslandığında chia tohumu tüketenlerin: (1) Kilo kaybı (1.9±0.5 kg) yulaf kepeği tüketen (0.3±0.4 kg) bireylere göre çok daha fazladır ( $P>0.05$ ). (2) Bel çevresi kaybı (3.5±0.7 cm) yulaf kepeği tüketen (1.1±0.7 cm) bireylere göre fazladır ( $P>0.05$ ). (3) C-reaktif protein (CRP) değeri (1.1±0.5 mg/L) yulaf kepeği tüketen (0.2±0.4 mg/L) bireylere göre daha çok azalmıştır ( $P>0.05$ ). (4) Plazma adiponektin düzeyleri artmıştır ( $P>0.05$ ). Yulaf kepeği tüketen grupta plazma adiponektin düzeyleri değişmemiştir.	Bel çevresindeki azalması CRP ↓  Chia tohumu tüketen bireylerde visseral yağlanmanın ve bel çevresinin azalmasına plazma adiponektin ↑  Diyet posası sayesinde açlık hissini ve postprandiyal glisemiyi ↓
Vuksan vd. (2017b)	50; Sağlıklı Kadın ve erkek; BKI < 27 kg/m <sup>2</sup>	23.9 ± 3	10-14 saat açlık sonrasında test içecekleri içiyor Test içecekleri (1) 50 g glikoz (kontrol) (2) 50 g glikoz ve 31.5 g keten tohumu (3) 50 g glikoz ve 25 g chia tohumu  Besin alınından 15, 30, 45, 60, 90 ve 120. dk sonra kapiller kan örnekleri alınmıştır.  Tokluk düzeyleri Visual analog scales (VAS)'a göre değerlendirilmiştir.	Bireylerin chia tohumu tüketimleri keten tohumu tüketimleriyle kıyaslandığında chia tohumu tüketenlerin: (1) Kan glikozunun pik seviyesi 0.64±0.24 mmol/l daha düşüktür ( $P>0.05$ ). (2) Kan glikoz düzeyinin pik yapma süresi 11.3±3.8 dk daha fazladır ( $P>0.05$ ). (3) Yemek yeme isteği ve iştah skorlaması daha düşük bulunmuştur.	Chia tohumunda bulunan diyet posanın viskozitesi keten tohumuna göre daha yüksek olduğu için kan glikoz salınımı ve iştah üzerine daha çok olumlu etki göstermiştir.

Chia tohumu ACE inhibisyonu sağlayan peptidler, potasyum ve kalsiyum mineralleri sayesinde yüksek kan basıncını dengeleyebilmektedir (Vuksan vd., 2007). Klinik çalışmaların sonuçları da chia tohumunun kan basıncı üzerine olumlu etkisini destekler niteliktedir. Vuksan vd. (2007) kardiyovasküler hastalık riski olan tip 2 diyabetik bireylere 37 g/gün öğütülmüş chia tohumunu ve tahıl kepeğini tükettirmişlerdir. On iki haftanın sonunda chia tohumu tüketen bireylerin sistolik kan basıncında 6.3 mmHg ve C-reaktif protein (CRP) seviyesinde 40 mg/l düşüş olmuştur. Toscano vd. (2014) ilaç tedavisi görmeyen hipertansif bireylere 12 hafta boyunca 35 g/gün chia unu tükettirmiştir. Plasebo grubunun kan basıncında değişiklik olmazken chia unu tüketenlerin kan basıncında 5.2 mmHg düşüş gözlenmiştir. Ancak Nieman vd. (2009; 2012) tarafından yapılan iki farklı çalışmada 50 g/gün chia unu ve 25 g/gün chia tohumu tüketiminin kan basıncı üzerine etkisi bulunamamıştır. Chia ürünlerinin kan basıncı üzerine etkisini araştıran çalışmalar az kişinin katıldığı klinik çalışmalarla sınırlıdır. Kan basıncının düzenlenmesi üzerine olası olumlu etkinin belirlenmesi için daha çok randomize kontrollü çalışma ve meta-analize ihtiyaç vardır.

n-3 yağ asitlerinden özellikle eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) hepatik yağ sentezini ve sekresyonunu baskılayabilmekte, hepatik hücrelerin ve iskelet kasının yağ asidi oksidasyonunu azaltabilmektedir. Epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda, plazma ALA düzeyi artışı kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasıyla ilişkili bulunmuştur (Pan vd., 2012). Chia tohumu 25 gramında 4.4 g alfa linolenik asit (ALA) ve 9.4 g diyet posası içermektedir (Reyes-Caudillo vd., 2008). Nieman vd. (2009) chia tohumunun yüksek diyet posası ve ALA içeriği sayesinde vücut ağırlığında azalış sağlayarak obezite ve kardiyovasküler hastalıkları ile ilişkili diğer risk faktörlerini azaltabileceğini öngörmektedirler. Günde iki kez 250 ml suda bekletilmiş 25 g chia tohumu tüketiminin bireylerin kan ALA düzeylerini artırmış ancak vücut ağırlığında azalış ve hastalık risk faktörleri üzerine etki göstermemiştir. Nieman vd. (2012) kilolu ve obez kadınlar ile yaptıkları bir başka çalışmada 25

gram/gün öğütülmüş ya da tam tane şeklinde chia tohumu tüketiminin ağırlık kaybı üzerine etkisi olmazken yalnızca öğütülmüş chia tohumu kan ALA düzeyinin artmasını sağlamıştır. Literatürde öğütülmüş ve tam tane chia tohumu tüketiminin kan bulguları veya vücut ağırlığı üzerine etkisinin karşılaştırıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bir çalışmada tam tane keten tohumu, öğütülmüş keten tohumu ve keten tohumu yağı tüketiminin kan ALA, EPA ve DHA üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Öğütülmüş keten tohumu ve keten tohumu yağı tüketimi kan ALA düzeyinin artmasını sağlarken tam tane keten tohumunda aynı etkiyi göstermemiştir (Austria vd., 2008). Jin vd. (2012) postmenopozal dönemdeki sağlıklı kadınlarda 7 hafta boyunca, 25 g/gün öğütülmüş chia tohumu tüketiminin kan ALA ve EPA düzeylerini artırmış ve öğütülmüş tohumların (chia ya da keten tohumu) daha kolay metabolize edilmesi nedeniyle kan ALA düzeyi artmasında daha etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

### Obezite Üzerine Etkisi

Obeziteyi önlemek ve görülme sıklığını azaltmak amacıyla birçok tedavi stratejileri geliştirilmesine rağmen uzun vadede bireylerin enerji kısıtlı diyetlere uyumluluğu çok düşük bulunmuştur. Chia tohumu; diyet posası, mineral, protein, yağ (özellikle ALA) bakımından zengin olması nedeniyle ağırlık kaybı programlarında kullanılacak alternatif bir besin olabilmektedir. İçerdiği sağlıklı bileşenler sayesinde ağırlık kaybının yanısıra obezitenin komorbiditlerini önleyebilmektedir. Kilolu ve obez tip 2 diyabetli bireyler ile yapılan bir çalışmada enerji kısıtlı diyet ile birlikte günlük 30 g/1000 kkal chia tohumu tüketimi ağırlık kaybı, postprandiyal glisemide iyileşme ve kan CRP düzeyinde azalmaya yardımcı olmuştur (Vuksan vd., 2017a).

### Tip 2 Diyabet ve Kan Glikozuna Etkisi

Chia tohumu diyet posası, protein ve ÇDYA içeriği postprandiyal glisemi üzerine olumlu etki göstermektedir. Sağlıklı bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada, müdahale grubundaki bireylere farklı miktarlarda chia tohumu eklenmiş ekme tükettirilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında müdahale grubunun her 1 gram chia tohumu tüketimi postprandiyal glisemiye %2 oranında

düşürmüştür (Vuksan vd., 2010). Chia tohumunun diyet posası içeriğinin yüksek olması da postprandiyal glisemiye düşürmekte ve karbonhidrat salınımını ve kan glikoz seviyesindeki yükselişi yavaşlatabilmektedir (Vuksan vd., 2017b).

### **CHIA TOHUMUNUN GIDA SANAYİSİNDE KULLANIMI**

Chia tohumu, fonksiyonel özelliklere sahip zengin besin ögesi içeriği sayesinde insan sağlığını geliştirebilmektedir (Mohd Ali vd., 2012). Bu nedenle gıda sanayi tarafından son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Chia tohumu ve yağı, Amerika, Kanada, Çin, Avusturya, Yeni Zelanda ve Meksika'da yaygın olarak kahvaltılık gevrekler, tatlı, içecekler, ekmek, bisküvi ve kraker gibi birçok besinin içerisine eklenebilmektedir (Capitani vd., 2012; Levent 2017). Avrupa Komisyonu 2009 yılında yayınladığı karara göre chia tohumunun fırınlanmış ürünlerinde kullanımının %5'ten daha fazla olmaması gerektiğini beyan etmiştir. Güncellenen 2013 yılı önerisine göre fırınlanmış ürünler, kahvaltılık tahıllar, meyve, kuruyemiş ve tohum karışımları %10'dan daha fazla chia tohumu içermemelidir. Ayrıca paketlenme öncesinde ürün etiketinde 15 g/gün'den daha fazla chia tohumu içermediğine dair tüketiciye bilgi verilmesi gerekmektedir (Food Commission, 2017).

Chia tohumu, yaklaşık olarak ağırlığının 12 katı daha fazla suyu çekerek musilaj oluşturabilecek polisakkarit yapısı nedeniyle oluşturduğu jel hem emülsifiyer hem de su tutucu özelliindedir. Bu nedenle fırınlamış ürünlerde, yumurta ve yağ yerine chia tohumunun kullanılabilir (Borneo vd., 2010; Fernandes ve Salas-Mellado, 2017). Chia musilaj jelinin yağ yerine kullanıldığı bir çalışmada; kek için kullanılan yağın %25'i yerine chia musilaj jeli eklendiğinde kekin görüntüsünün, dokusunun ve lezzetinin değişmediği görülmüştür (Felisberto vd., 2015). Gıda sanayinde, chia tohumunun musilaj oluşturma etkisi fom yapısını daha stabil hale getirmek amacıyla; mayonez, soslar ve yoğurt gibi besinlerde kullanılmaktadır (de la Paz Salgado-Cruz vd., 2013).

Chia tohumu veya unu, besinlerin içine eklenerek son ürünün görünüş ve lezzetinin değerlendirildiğinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Coorey vd. (2012) sağlıklı cipslere alternatif olması adına chia unu kullanarak; yüksek omega-3 ve yüksek diyet posası içeren glutensiz cips elde etmişlerdir. Farklı miktarlarda chia unu (%5, %10, %12, %15) kullanılarak yapılan cipslerin renk, koku ve görünüşleri arasında farklılık bulunmamıştır. Tüketicilerin tercihi ise %5 oranında chia unu içeren cips olmuştur. Chia tohumu (11.0 g/100g) ve unu (0.9 g/100g) kullanarak hazırlanan ekmeklerin ÇDYA miktarında yaklaşık 3 kat artış ve tüketici tarafından tercih edilebileceği belirlenmiştir (Coelho vd., 2015). Zettel vd. (2015), 5 g ve 10 g/g su kullanarak oluşturdukları chia tohumu jellerini %1-3 oranında tam tahıllı una eklemişlerdir. Ekmeğin görünüşü, stabilitesi ve yumuşaklığı değerlendirildiğinde optimal doz olarak 5g/g su ile hazırlanmış ve %2 oranında hamura eklenmiş chia jeli ya da 10g/g su ile hazırlanmış %1 oranında eklenmiş chia jeli oluştuğu belirlenmiştir. Chia jeli ile hazırlanan ekmek fonksiyonel bir besin olarak tüketilebilmektedir.

### **ÖNERİLEN TÜKETİM MİKTARI**

Chia tohumu ile ilgili yapılan randomize kontrollü çift kör çalışmaların yetersiz olması ve konuyla ilgili meta-analize rastlanmaması nedeniyle önerilen tüketim miktarı saptanamamıştır. Ancak tavsiye edilen chia tohumu servis miktarı (1 yemek kaşığı) yaklaşık olarak 12 gramdır ve tüketim 2500 mg omega-3 içermekte ve bu miktar yetişkin bir bireyin omega-3 gereksinmesini tamamını karşılamaktadır (Ulbricht vd., 2009; Marcinek ve Krejpcio 2017). 2000 yılında yayınlanan Birleşik Devletler Besin ve Beslenme Rehberi (United States Dietary Guideline)'ne göre yetişkinler için chia tohumu tüketimi 48 g/gün'ü aşmamalıdır (Mohd Ali vd., 2012). Yüksek miktarda chia tohumu tüketimi gastrointestinal sistemde gaz, şişlik gibi problemlerin ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir (Ulbricht vd., 2009). Ayrıca çalışmalar hipotansiyonu olan ya da kan basıncını düşürücü ilaç kullanan bireylerin chia tohumunu tüketimlerinde dikkatli olmaları gerektiğini belirtmektedir (Vuksan vd., 2007). Warfarin

kullanımı ile chia kökü (tohumunda da olabilir) tüketiminin olumsuz farmakokinetik sonuçlara neden olduğundan warfarin ile birlikte chia tüketiminden kaçınmak gerekmektedir (Hu vd., 2005).

## SONUÇ

Chia tohumu içerdiği elzem yağ asitleri ve biyoaktif bileşenler sayesinde kan kolesterolü ve basıncını düşürmekte, enerji kısıtlı diyet ile birlikte uygulandığında vücut ağırlığı kontrolü sağlayabilmekte ve sporcuların dayanıklılığını artırabilmektedir. Ayrıca inflamasyonun biyolojik göstergelerini iyileştirebilmekte; glikoz homeostazı ve insülin direnci üzerine olumlu etki gösterebilmektedir. Tohum, antioksidan etki gösterebilen fenolik bileşenleri de yüksek oranda içermektedir. Diyete 12 gram (1 yemek kaşığı) chia tohumu eklenmesi sağlık üzerine olumsuz etki yaratmamakta, günlük alınan antioksidan bileşikler, posa ve n-3 yağ asidi düzeylerini artırarak sağlığı geliştirici etki sağlanabilmektedir. Sonuç olarak, chia tohumu fonksiyonel bir gıda olarak potansiyel sağlık etkilerinin yanısıra hem evde hem de besin sanayinde su tutucu, emulsifiyer ajan ve kıvam artırıcı olarak kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

Alonso-Calderón, A., Chávez-Bravo, E., Rivera, A., Montalvo-Paquini, C., Arroyo-Tapia, R., Monterrosas-Santamaria, M. et al. 2013. Characterization of black chia seed (*Salvia hispanica* L) and oil and quantification of  $\beta$ -sitosterol. *Int. Res. J. Biological Sci.* 2(1): 70-72.

Álvarez-Chávez, LM., Valdivia-López, MdA., Aburto-Juarez, MdL., Tecante, A. 2008. Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *International Journal of Food Properties.* 11(3): 687-97.

Austria, J. A., Richard, M. N., Chahine, M. N., Edel, A. L., Malcolmson, L. J., Dupasquier, C. M., & Pierce, G. N. (2008). Bioavailability of alpha-linolenic acid in subjects after ingestion of three different forms of flaxseed. *J Am Coll Nutr*, 27(2): 214-221.

Ayerza Jr, R., Coates, W. 2007. Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic fatty acid derived from chia when fed as ground seed, whole seed and oil on lipid content and fatty acid composition of rat plasma. *Ann Nutr Metab.*, 51(1): 27-34.

Ayerza, R. 2009. The seed's protein and oil content, fatty acid composition, and growing cycle length of a single genotype of chia (*Salvia hispanica* L.) as affected by environmental factors. *J Oleo Sci.* 58(7): 347-354.

Ayerza, R., Coates, W. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Ind Crops Prod.* 34(2): 1366-1371.

Bochicchio, R., Philips, TD., Lovelli, S., Labella, R., Galgano, F., Di Marisco, A., et al. 2015. Innovative crop productions for healthy food: the case of Chia (*Salvia hispanica* L.). *The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin.* Vastola, A. (baş editör). Springer Open s. 29-45.

Boger, RH. 2014. The pharmacodynamics of L-arginine. *Altern Ther Health Med.* 20(3):48-54.

Borderías, AJ., Sánchez-Alonso, I., Pérez-Mateos, M. 2005. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. *Trends Food Sci Technol.* 16(10): 458-465.

Borneo, R., Aguirre, A., León, AE. 2010. Chia (*Salvia hispanica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J Am Diet Assoc.* 110(6): 946-949.

Brosnan, JT., Brosnan, ME. 2013. Glutamate: a truly functional amino acid. *Amino Acids.* 45(3): 413-418.

Capitani, MI., Spotorno, V., Nolasco, SM., Tomás, MC. 2012. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT-Food Sci Technol.* 45(1): 94-102.

Chicco, AG., D'Alessandro, ME., Hein, GJ., Oliva, ME., Lombardo, YB. 2009. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in  $\alpha$ -linolenic acid improves adiposity and normalises

- hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. *Br J Nutr.* 101(01): 41-50.
- Coelho, MS., de las Mercedes Salas-Mellado, M. 2015. Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT-Food Sci Technol.* 60(2): 729-736.
- Coorey, R., Grant, A., Jayasena, V. 2012. Effects of chia flour incorporation on the nutritive quality and consumer acceptance of chips. *J Food Res.* 1(4): 85-95.
- da Silva Marineli, R., Lenquiste, SA., Moraes, ÉA., Maróstica, MR. 2015. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. *Food Res Int.* 76: 666-674.
- da Silva Marineli, R., Moraes, ÉA., Lenquiste, SA., Godoy, AT., Eberlin, MN., Maróstica Jr, MR. 2014. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT-Food Sci Technol.* 59(2): 1304-1310.
- de la Paz Salgado-Cruz, M., Calderón-Domínguez, G., Chanona-Pérez, J., Farrera-Rebollo, RR., Méndez-Méndez, JV., Díaz-Ramírez, M. 2013. Chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage release characterisation. A microstructural and image analysis study. *Ind Crops Prod.* 51: 453-462.
- de Souza Ferreira, C., de Sousa Fomes, LdF., Santo da Silva, GE., Rosa, G. 2015. Effect of chia seed (*Salvia hispanica* L.) consumption on cardiovascular risk factors in humans: a systematic review. *Nutr Hosp.* 32(5): 1909-1918.
- EFSA (2009). Opinion on the safety of 'Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds' as a food ingredient. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. 996: 1-26.
- Felisberto, MHF., Wahanik, AL., Gomes-Ruffi, CR., Clerici, MTPS., Chang, YK., Steel, CJ. 2015. Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *LWT-Food Sci Technol.* 63(2): 1049-1055.
- Fernandes, SS., Salas-Mellado, ML. 2017. Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chem.* 227: 237-244.
- Food Commission. 2017. Novel Food Catalogue. Guevara-Cruz, M., Tovar, AR., Aguilar-Salinas, CA., Medina-Vera, I., Gil-Zenteno, L., Hernandez-Viveros, I. et al. 2012. A dietary pattern including nopal, chia seed, soy protein, and oat reduces serum triglycerides and glucose intolerance in patients with metabolic syndrome. *J Nutr.* 142(1): 64-69.
- [http://ec.europa.eu/food/safety/novel\\_food/catalogue/search/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/catalogue/search/public/index.cfm) (Erişim tarihi: 28 Eylül 2017).
- Ho, H., Lee, AS., Jovanovski, E., Jenkins, AL., Desouza, R., Vuksan, V. 2013. Effect of whole and ground Salba seeds (*Salvia Hispanica* L.) on postprandial glycemia in healthy volunteers: a randomized controlled, dose-response trial. *Eur J Clin Nutr.* 67(7): 786-788.
- Hu, Z., Yang, X., Ho, PCL., Chan, SY., Heng, PWS., Chan, E. et al. 2005. Herb-drug interactions. *Drugs.* 65(9): 1239-1282.
- Illian, TG., Casey, JC., Bishop, PA. 2011. Omega 3 chia seed loading as a means of carbohydrate loading. *J Strength Cond Res.* 25(1): 61-65.
- Jamboonsri, W., Phillips, TD., Geneve, RL., Cahill, JP., Hildebrand DF. 2012. Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L.—a new  $\omega$ 3 source. *Genet Resour Crop Evol.* 59(2): 171-178.
- Jin, F., Nieman, DC., Sha, W., Xie, G., Qiu, Y., Jia, W. 2012. Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. *Plant Foods Hum Nutr.* 67(2): 105-110.
- Levent H. 2017. Effect of partial substitution of gluten-free flour mixtures with chia (*Salvia hispanica* L.) flour on quality of gluten-free noodles. *J Food Sci Technol.* 54(7): 1971-1978.
- Liu, L., Wang, S., & Liu, J. 2015. Fiber consumption and all-cause, cardiovascular, and cancer mortalities: A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Molecular nutrition & food research*, 59(1): 139-146.

- Marcinek, K., Krejpcio, Z. 2017. Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications - a review. *Rocznik Panstw Zakl Hi*, 68(2): 123-129.
- Martinez-Cruz, O., Paredes-Lopez, O. 2014. Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 1346: 43-48.
- McCormack, WP., Hoffman, JR., Pruna, GJ., Jajtner, AR., Townsend, JR., Stout, JR. et al. 2015. Effects of l-Alanyl-l-Glutamine Ingestion on One-Hour Run Performance. *J Am Coll Nutr*. 34(6): 488-496.
- Mohd Ali, N., Yeap, SK., Ho, WY., Beh, BK., Tan, SW., Tan, SG. 2012. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *J Biomed Biotechnol*. 2012: 1-9.
- Moreira, R., Chenlo, F., Prieto, DM., Torres, MD. 2012. Water adsorption isotherms of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Bioproc Tech*. 5(3): 1077-1082.
- Muñoz, LA., Cobos, A., Diaz, O., Aguilera, JM. 2013. Chia seed (*Salvia hispanica*): an ancient grain and a new functional food. *Food Rev Int*, 29(4): 394-408.
- Nieman, DC., Cayea, EJ., Austin, MD., Henson, DA., McAnulty, SR., Jin F. 2009. Chia seed does not promote weight loss or alter disease risk factors in overweight adults. *Nutr Res*. 29(6): 414-418.
- Nieman, DC., Gillitt, N., Jin, F., Henson, DA., Kennerly, K., Shanely, RA. et al. 2012. Chia seed supplementation and disease risk factors in overweight women: a metabolomics investigation. *J Altern Complement Med*. 18(7): 700-708.
- Oliveira-Alves, SC., Vendramini-Costa, DB., Betim Cazarin, CB., Marostica Junior, MR., Borges Ferreira, JP., Silva, AB., et al. 2017. Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chem*. 232: 295-305.
- Orona-Tamayo, D., Valverde, ME., Nieto-Rendón, B., Paredes-López, O. 2015. Inhibitory activity of chia (*Salvia hispanica* L.) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity. *LWT-Food Sci Technol*. 64(1): 236-242.
- Orona-Tamayo, DL., Valverde, ME., Paredes-Lopez, O. Chia—The new golden seed for the 21st century: Nutraceutical properties and technological uses. 2016. *Sustainable Protein Sources*. Sudarshan Nadathur (baş editör) Elsevier s. 265-281.
- Pan, A., Chen, M., Chowdhury, R., Wu, JH., Sun, Q., Campos, H. et al. 2012.  $\alpha$ -Linolenic acid and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 96(6): 1262-1273.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., et al. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*. 133(9): 2812-2819.
- Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., Valdivia-López, M. 2008. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Food Chem*. 107(2): 656-663.
- Salazar-Vega, IM., Betancur-Ancona, DA., Chel-Guerrero, LA., Segura-Campos, MR. 2012. Antihypertensive and Antioxidant Effects of Functional Foods Containing Chia (*Salvia hispanica*) Protein Hydrolysates. *INTECH Open Access Publisher*. Valdez, B. (baş editör) s. 381-398.
- Sandoval-Oliveros, MR., Paredes-López, O. 2012. Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *J Agric Food Chem*. 61(1): 193-201.
- Sosa, A., Ruiz, G., Rana, J., Gordillo, G., West, H., Sharma, M., et al. 2016. Chia Crop (*Salvia hispanica* L.): its History and Importance as a Source of Polyunsaturated Fatty Acids Omega-3 Around the World: a Review. *J Crop Res Fert*. 1: 1-9.
- Timilsena, YP., Vongsivut, J., Adhikari, R., Adhikari, B. 2017. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chem*. 228: 394-402.

- Toscano, LT., da Silva, CS., Toscano, LT., de Almeida, AE., Santos Ada, C., Silva, AS. 2014. Chia flour supplementation reduces blood pressure in hypertensive subjects. *Plant Foods Hum Nutr.* 69(4): 392-398.
- Ulbricht, C., Chao, W., Nummy, K., Rusie, E., Tanguay-Colucci, S., Iannuzzi, CM., et al. 2009. Chia (*Salvia hispanica*): a systematic review by the natural standard research collaboration. *Rev Recent Clin Trials*, 4(3): 168-174.
- Ullah, R., Nadeem, M., Khalique, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A. et al. 2016. Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *J Food Sci Technol.* 53(4): 1750-1758.
- United States Department of Agriculture Research Service. 2017. USDA Food Composition Database. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/11542?manu=&fgcd=&ds=> (Erişim tarihi: 28 Eylül 2017).
- Valdivia-Lopez, MA., Tecante, A. 2015. Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. *Adv Food Nutr Res*, 75: 53-75.
- Vázquez-Ovando, J., Rosado-Rubio, J., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D. 2010. Dry processing of chía (*Salvia hispanica* L.) flour: chemical characterization of fiber and protein. *Cyta-J Food.* 8(2): 117-127.
- Vuksan, V., Choleva, L., Jovanovski, E., Jenkins, A., Au-Yeung, F., Dias, A. et al. 2017a. Comparison of flax (*Linum usitatissimum*) and Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) seeds on postprandial glycemia and satiety in healthy individuals: a randomized, controlled, crossover study. *Eur J Clin Nutr.* 71(2): 234-8.
- Vuksan, V., Jenkins, AL., Brissette, C., Choleva, L., Jovanovski, E., Gibbs, AL et al. 2017b. Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 27(2): 138-146.
- Vuksan, V., Jenkins, AL., Dias, AG., Lee, AS., Jovanovski, E., Rogovik, AL. et al. 2010. Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia Hispanica* L.). *Eur J Clin Nutr.* 64(4): 436-438.
- Vuksan, V., Whitham, D., Sievenpiper, JL., Jenkins, AL., Rogovik, AL., Bazinet, RP. et al. 2007. Supplementation of conventional therapy with the novel grain Salba (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* 30(11): 2804-2810.
- Yeboah, S., Owusu Danquah, E., Lamptey, J., Mochiah, M., Lamptey, S., Oteng-Darko, P., et al. 2014. Influence of planting methods and density on performance of chia (*Salvia hispanica*) and its suitability as an oilseed plant. *Agric Sci.* 2(4): 14-26.
- Zettel, V., Krämer, A., Hecker, F., Hitzmann, B. 2015. Influence of gel from ground chia (*Salvia hispanica* L.) for wheat bread production. *Eur Food Res Technol.* 240(3): 655-662.



## KURUTMA YARDIMCI MADDELERİNİN DONDURARAK KURUTULMUŞ TAFLAN TOZLARININ ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

**S. Nur Dirim, Meryem Talih\***

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

Geliş / Received: 14.12.2017; Kabul / Accepted: 18.03.2018; Online baskı / Published online: 24.04.2018

Dirim, S.N., Talih, M. (2018). Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (3): 461-475 doi: 10.15237/gida.GD17109

*Dirim, S.N., Talih, M. (2018). The effects of drying agents on properties of freeze dried cherry laurel powders. GIDA (2018) 43 (3): 461-475 doi: 10.15237/gida.GD17109*

### ÖZ

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda kurutma yardımcı maddeleri içeren taflan püresinin dondurularak kurutulması ve elde edilen taflan tozlarının özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla; taflan püresine gam arabik, peyniraltı suyu tozu ve maltodekstrin (%5, 15 ve 25m/m, km'de) ilave edilerek, dondurarak kurutucuda kurutulmuştur. Katkısız taflan tozunun nem içeriği %7.71 ve su aktivitesi değeri 0.250 olarak belirlenmiş; katkılı tozlarda ise en düşük nem içeriği %25 maltodekstrin katkılı (%3.16), en düşük su aktivitesi değeri ise %25 gam arabik katkılı (0.220) taflan tozlarında ölçülmüştür. Yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri sırasıyla 99.75-242.85kg/m<sup>3</sup> ve 136.06-329.11kg/m<sup>3</sup> aralığında değişmiştir. Taflan tozlarında en düşük ıslanabilirlik süresinin 2.82sn, en yüksek sürenin ise 35.47sn olduğu gözlenmiştir. Taflan tozlarının dağılılabirlik ve higroskopite değerleri sırasıyla %66.05-82.42 ve %2.05-7.17 arasında değişmektedir. Taflan tozlarının morfolojisi incelendiğinde, plaka şeklinde oldukları ve maltodekstrin katkılı örneğin en pürüzsüz yapıda olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Taflan, dondurarak kurutma, kurutma yardımcı maddeleri, toz ürün özellikleri, morfolojik yapı

## THE EFFECTS OF DRYING AGENTS ON PROPERTIES OF FREEZE DRIED CHERRY LAUREL POWDERS

### ABSTRACT

In this study, the aim was drying of cherry laurel puree containing drying agents in different concentrations and to determine the properties of the obtained powders. Gum arabic, whey powder and maltodextrin were added to puree with the ratio of 5, 15 and 25% (w/w, dry basis, db) and dried in a vacuum freeze drier. The moisture content and water activity values of the plain powder were measured as 7.71% and 0.250, respectively, and the minimum moisture content and water activity values were 3.16% (25% maltodextrin) and 0.220 (25%gum arabic) respectively. The bulk and tapped density values ranged between 99.75-242.85kg/m<sup>3</sup> and 136.06-329.11kg/m<sup>3</sup>. The lowest wettability time was 2.82s and the highest was 35.47s. The dispersibility and hygroscopicity values of the powders are changing between 66.05-82.42% and 2.05-7.17% respectively. The morphological inspection showed that the cherry laurel powders had flake shape the powders with maltodextrin had the smoothest surface.

**Keywords:** Cherry laurel, freeze drying, drying agents, powder properties, morphological inspection

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉meryem\_talih07@hotmail.com,

☎(+90) 232 311 3032

☎(+90) 232 311 4831

## GİRİŞ

Taflan (*Laurocerasus officinalis* Roem.); karayemiş, laz kirazı gibi çok farklı isimlerle de adlandırılan Rosaceae familyasında bulunan bir meyvedir (Baytop, 2001). Taflanın yapısında aromatik bileşikler, mineral maddeler, rulaurososin (glikozit), tanen, şeker ve kalsiyum oksalat bulunmaktadır (Orhan ve Akkol, 2011). Rengi ve şeklinden dolayı kiraza benzeyen taflan olgunlaşma durumuna bağlı olarak kırmızı veya koyu mor renkli olmaktadır. Yabani türleri buruk tada sahip olmalarından dolayı çok tercih edilmese de aşılınmış türleri büyük ve tatlı olduğu için daha fazla tüketilmektedir (Ayaz vd., 1997; Kolaylı vd., 2003).

Taze ve kurutulmuş olarak tüketilebilen taflan; reçel, marmelat, meyve suyu, pekmez ve turşu yapımında kullanılmakta, ayrıca taflanın yaprakları da çay olarak tüketilebilmektedir (Orhan ve Akkol, 2011). Taflanın bu kullanım olanaklarına ek olarak meyvesi ve sapsı Türkiye’de geçmiş yıllardan bu yana halk arasında mide ülseri, hemoroit, egzama, bronşit ve sindirim sistemi hastalıklarının tedavisi amacıyla da kullanılmaktadır (Baytop, 2001). Ülkemizde yaygın olarak Karadeniz Bölgesi’nde yetişmekte olan taflan, kısa bir zaman diliminde hasat edildiği için halk arasında yaygın olarak bilinmemektedir (İslam, 2002).

Yüksek nem içeriğine sahip olan taze meyve ve sebzeler, hasat edildikten sonra canlılıklarını belirli bir süre daha devam ettirmektedir. Bu yüzden muhafaza koşullarının uygun olmadığı durumlarda ürünler hızlı bir şekilde bozulabilmektedir. Gıdaların hasat sonrası hızlı şekilde bozulmalarının önlenmesi ve dayanıklılıklarının artırılması için birçok muhafaza yöntemine başvurulmaktadır. Bu yöntemlerden en yaygın kullanılanı gıdaların kurutulmasıdır. Gıdaların kurutulmasında; güneşte kurutma, mikrodalga kurutma, püskürterek kurutma, dondurarak kurutma gibi farklı kurutma yöntemlerinden faydalanılmaktadır. Kurutma işlemi gıdaların mevsimi dışında da kullanılabilmesini sağlamakta, ayrıca taze ürünün kullanılmasına alternatif bir kullanım olanağı yaratmaktadır. Kurutma yöntemlerinden

bazılarında gıdalar yüksek ısıya maruz kaldıkları için vitamin, mineral, antioksidan gibi değerli bileşenlerinin önemli bir kısmını kaybetmektedir. Dondurarak kurutma işlemi ise düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğinden dolayı gıdaların yapısındaki değerli bileşenler en az kayba uğramakta ve taze ürüne en yakın özelliklere sahip ürün eldesi sağlanmaktadır. Dondurarak kurutma işlemi, gıdaların yapısında bulunan suyun katı forma dönüştürüldükten sonra süblimasyonu ilkesine dayanmaktadır. Bu yöntemle kurutulan ürünlerin yapısında daha az değişiklik meydana gelmekte olup, ürünlerin şekli korunmakta ve hacim kaybı oluşumu engellenmektedir (Ratti, 2001). Literatürde yapılan araştırmalar sonucunda gıdaların dondurarak kurutulması üzerine yapılan birçok çalışmanın bulunduğu saptanmıştır. Bunlardan bazıları; elma kabuğu (Henriquez vd., 2012), kestaneli yoğurt (Dirim vd., 2014), kimchi (Eun vd., 2016), erik (Michalska vd., 2016) ve karpuzun (Akyıldız vd., 2017) kurutulması olarak sıralanabilir. Dondurarak kurutma işleminde gıdalar bütün olarak, dilimlenerek ya da püre haline getirilerek kurutulmakta ve kuru ürünler de şekillerini koruyarak bütün halinde ya da öğütülerek toz formda tüketilebilmektedir. Kuru gıdaların toz formuna getirilmesi gıdaların taşınması, ambalajlanması ve depolanması gibi işlemleri kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, son yıllarda doğal maddelere olan ilginin artmasıyla birlikte gıdalara renk ve aroma verici madde olarak gıda tozları ilave edilmektedir.

Yapılan bu çalışmada, dondurarak kurutma yöntemiyle taflan tozu elde edilmesi ve kurutma yardımcı maddeleri kullanılarak elde edilen taflan tozlarının özelliklerinin iyileştirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, dondurarak kurutma işlemiyle taflan tozlarının yapısal özelliklerinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla morfolojik yapıları incelenmiştir. Elde edilen taflan tozlarının çeşitli özelliklerinin belirlenmesi ile farklı gıda formülasyonlarında kullanım olanakları da belirlenmiş olacaktır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Olgun taflan meyveleri Kocaeli’nde yerel bir marketten temin edilmiştir. Sap ve yapraklarından ayrılan meyveler yıkandıktan sonra çekirdekleri

çıkarılmış ve ev tipi öğütücü (Tefal Smart, MB450141, 400W, Türkiye) yardımıyla püre haline getirilmiştir. Taflanın kurutulmasında kullanılacak olan kurutma yardımcı maddelerinin miktarlarının belirlenmesi amacıyla ilk olarak taflan püresinin kuru madde içeriği 70°C'deki vakumlu etüv yardımıyla (Nüve, Ev 018, Türkiye) belirlenmiştir. Nem içeriği belirlenen taflan püresine kuru maddesinin %5, 15 ve 25'i oranlarında gam arabik (Tito, Türkiye), peyniraltı suyu tozu (Tito, Türkiye) ve maltodekstrin (Dekstroz eşdeğeri (DE) 4-5) (Alfasol, Türkiye) ilavesi yapıldıktan sonra ürün kalınlığı 3mm olacak şekilde metal petrilere homojen şekilde yayılmıştır. Kurutma işlemi öncesi hazırlanan örnekler -24°C'deki hava akımlı dondurucuda (Vestel, 2451, Türkiye) 2 saat süreyle dondurulmuştur. Kurutma işlemi pilot ölçekli dondurarak kurutucuda (Armfield, FT 33 Vacuum Freeze Drier, İngiltere) -48°C kondansör sıcaklığı, +10°C plaka sıcaklığı ve 13.33Pa mutlak basınçta, ön denemelerle belirlenmiş kuruma süresi olan 8 saatte gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi sonucunda elde edilen kurutulmuş ürün ev tipi öğütücü yardımıyla (Tefal Smart, MB450141,

400W, Türkiye) 1 dakika öğütülerek toz forma getirilmiştir. Taflan tozları analizleri yapılacağı güne kadar ısı ile kapatılmış alüminyum polietilen (ALPE) ambalajlarda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

#### ***Nem tayini, su aktivitesi ve renk analizi***

Kurutma yardımcı maddeleri, taflan püresi ve tozlarında gerçekleştirilen nem tayini AOAC (2000) metoduna göre belirlenmiştir (% , yaş bazlı, yb). Su aktivitesi değeri, 0.001 hassasiyete sahip su aktivitesi ölçüm cihazı (Testo AG 400, Almanya); renk değerleri ( $L^*$  (parlaklık),  $a^*$  (yeşillik/kırmızılık) ve  $b^*$  (mavilik/sarıklık)) renk ölçüm cihazı (Konica Minolta Chroma Meter CR-400, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Renk değerlerinin belirlenmesinde CIE Lab sistem skalası kullanılmış olup örneklerde 6 ölçüm yapılarak, bu ölçümlerin ortalama değerleri alınmıştır. Ayrıca toplam renk değerleri derecesi ( $\Delta E$ ), Kroma ve esmerleşme derecesi eşitlikler (1-4) kullanılarak hesaplanmıştır (Demirhan ve Özbek, 2011);

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

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

$$\text{Esmerleşme Derecesi} = \frac{[100(x - 0.31)]}{0.17} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

$$x = \frac{(a^* + 1.75L^*)}{(5.645L^* + a^* - 3.01b^*)} \quad (\text{Eşitlik 4})$$

#### ***Tozların yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, akabilirlik ve yapışkanlık özellikleri***

Toz ürünlerin yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu analizleri; Chegini ve Ghobadian (2005) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Toz örneklerin akabilirlik ve yapışkanlık değerleri

Carr indeks (Carr Index, CI) ve Hausner oranı (Hausner Ratio, HR) değerlerine göre belirlenmiştir (Jinapong vd., 2008). CI ve HR değerleri, yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri kullanılarak Eşitlik 5 ve 6'ya göre hesaplanmıştır.

$$CI = \frac{(\rho_{\text{sıkıştırılmış yığın}} - \rho_{\text{yığın}})}{\rho_{\text{sıkıştırılmış yığın}}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

$$HR = \frac{\rho_{\text{sıkıştırılmış yığın}}}{\rho_{\text{yığın}}} \quad (\text{Eşitlik 6})$$

**Islanabilirlik süresi ve dağılıbilirlik özellikleri**  
Islanabilirlik süresi; 10g toz ürünün, 100ml 25°C'de demineralize su üzerine yayılarak tamamının suyun içine çökmesinin sağlandığı süre olarak belirlenmiştir (Gong vd., 2008). Dağılıbilirlik değeri; 1g toz ürünün, 25°C'deki 10ml saf suda 15sn süreyle karıştırılıp 212µm'lik elekten süzülmesi sonucunda elde edilen süzütüden 1ml alınıp 105±1°C'deki etüvde 4 saat süreyle bekletilmesiyle hesaplanmıştır (Gong vd., 2008).

**Higroskopite değeri ve kekleşme derecesi**  
Toz ürünlerin higroskopite değerleri Cai ve Corke (2000) metodunda çeşitli modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 1g toz örnek %75.3 doymun neme sahip ortamda 1 hafta boyunca bekletilmiştir. Higroskopite değeri Eşitlik 7 kullanılarak hesaplanmıştır. Eşitlikte bulunan; b, toz ürünün ağırlığındaki artış miktarını (g); a, toz ürün miktarını (g);  $W_i$ , ölçümden önce toz üründe bulunan serbest su miktarını temsil etmektedir.

$$\text{Higroskopite değeri (\%)} = \frac{\frac{b}{a} + W_i}{\frac{b}{a} + 1} \quad (\text{Eşitlik 7})$$

Kekleşme derecesi ölçümü için, higroskopite ölçümünden sonra elde edilen yaş örnek 105°C ve 50mmHg'de kurutulduktan sonra 450µm açıklıklı elekten geçirilmiştir. Kekleşme derecesi değeri Eşitlik 8 kullanılarak belirlenmiştir. Eşitlikteki c, elek üstünde kalan ürün miktarını (g); d, toplam toz miktarını (g) temsil etmektedir (Jaya ve Das, 2004).

$$\text{Kekleşme derecesi (\%)} = \frac{c}{d} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 8})$$

### **Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope (SEM)) ile taflan tozlarının morfolojik özelliklerinin belirlenmesi**

Taflan tozlarının yapısal özelliklerinin incelenmesi amacıyla, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Merkez

Araştırma Laboratuvarında bulunan taramalı elektron mikroskobu (SEM, 3kV voltajda, Carl Zeiss 300 VP, Almanya) yardımıyla +(SEM) görüntüleri belirlenmiştir. SEM görüntülerinin elde edilmesinde öncelikli olarak çift tarafı yapışkan olan bant üzerine taflan tozları yapıştırılmıştır. Görüntülerin daha ayrıntılı ve net olmasını sağlamak için püskürtme akımı 20mA ve püskürtme süresi 60sn olan kaplama cihazında (Quorum, Q150 RES, Almanya) taflan tozları altın ile kaplanmıştır. Taflan tozlarının farklı oranlarda büyütülmüş SEM görüntüleri (500-5000x) elde edilmiştir.

### **İstatistiksel analiz**

En az iki paralel olarak gerçekleştirilen analizlerin sonuçları ortalama ± standart sapma olacak şekilde verilmiştir. Bu amaçla SPSS 16.0 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile %95 güven aralığında varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi yardımıyla da gruplar arasındaki farklar test edilmiştir.

## **ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

Yapılan çalışmada taflan püresinin kurutulmasında dondurarak kurutma tekniğinin verimli olarak kullanılabilmesi saptanmıştır. Dondurarak kurutma işlemi sonucunda elde edilen katkısız ve katkılı taflan tozlarının özellikleri incelenerek, depolama ve taşıma gibi işlemler için kullanılabilir ürün özelliklerinin belirlenmesi sağlanmıştır.

Gıdaların sahip olduğu fiziksel özellikler, ürünlerin muhafazasında dikkat edilen önemli parametrelerden biridir. Dondurarak kurutma işleminde elde edilen katkılı taflan tozlarının özelliklerinin değerlendirilmesinde, kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin özellikleri de önemli bir etkidir. Bu nedenle taflan tozlarının özelliklerinin belirlenmesinde gerçekleştirilen analizler kurutma yardımcı maddeleri için de gerçekleştirilmiştir. Kurutma yardımcı maddelerinin ve taflan tozlarının nem içeriği, su aktivitesi ve renk değerleri sırasıyla Çizelge 1 ve 2'de verilmiştir.

Kurutma maddelerinin taflan tozları özelliklerine etkisi

Çizelge 1. Kurutma yardımcı maddelerinin özellikleri  
Table 1. The properties of the drying agents

Kurutma Yardımcı Maddeleri (Drying Agents)	Nem İçeriği (Moisture Content) (%)	Su Aktivitesi (Water Activity) (a <sub>w</sub> )	Renk Değerleri (Color Values)		
			L*	a*	b*
Gam Arabik (Gum Arabic)	8.35 ± 0.29	0.473 ± 0.006	96.97 ± 0.02	1.99 ± 0.03	9.42 ± 0.08
Peyniraltı Suyu Tozu (Whey Powder)	5.21 ± 0.17	0.382 ± 0.008	93.93 ± 0.52	-4.42 ± 0.26	22.54 ± 0.24
Maltodekstrin (Maltodextrin)	4.87 ± 0.16	0.429 ± 0.016	96.46 ± 0.53	-0.15 ± 0.03	0.45 ± 0.05

Çizelge 2. Taflan tozlarının özellikleri  
Table 2. The properties of cherry laurel powders

Örnekler (Samples)	Nem İçeriği (Moisture Content) (%)	Su Aktivitesi (Water Activity) (a <sub>w</sub> )	Renk Değerleri (Color Values)				Kroma Değeri (Croma Values)	Esmerleşme Derecesi (Browning Index)
			L*	a*	b*	ΔE		
Katkısız (Plain)	7.71 ± 0.03	0.250 ± 0.001	45.08 ± 0.02	20.54 ± 0.02	3.15 ± 0.01	17.73 ± 0.05	20.78 ± 0.12	37.91 ± 0.25
Gam Arabik (Gum Arabic)	%5 ± 0.35 <sup>bC</sup>	0.290 ± 0.001 <sup>cC</sup>	45.43 ± 0.35 <sup>bA</sup>	17.02 ± 0.52 <sup>aA</sup>	7.42 ± 0.26 <sup>aA</sup>	17.92 ± 0.12 <sup>aA</sup>	18.57 ± 0.25 <sup>aA</sup>	53.34 ± 0.24 <sup>bC</sup>
	%15 ± 0.08 <sup>aA</sup>	0.257 ± 0.012 <sup>aB</sup>	46.87 ± 0.23 <sup>aB</sup>	17.30 ± 0.50 <sup>cA</sup>	8.34 ± 0.60 <sup>aA</sup>	19.59 ± 0.25 <sup>aB</sup>	19.01 ± 0.40 <sup>bA</sup>	45.18 ± 0.25 <sup>cB</sup>
	%25 ± 0.47 <sup>bB</sup>	0.220 ± 0.026 <sup>aA</sup>	47.12 ± 0.03 <sup>aB</sup>	19.11 ± 0.04 <sup>cB</sup>	10.50 ± 0.26 <sup>bB</sup>	20.89 ± 0.05 <sup>aC</sup>	21.80 ± 0.15 <sup>bB</sup>	43.73 ± 0.12 <sup>bA</sup>
Peyniraltı Suyu Tozu (Whey Powder)	%5 ± 0.45 <sup>aB</sup>	0.248 ± 0.001 <sup>aA</sup>	43.49 ± 0.18 <sup>aA</sup>	19.52 ± 0.17 <sup>bB</sup>	10.85 ± 0.12 <sup>cB</sup>	17.97 ± 0.20 <sup>aA</sup>	22.33 ± 0.10 <sup>cC</sup>	59.73 ± 0.25 <sup>cB</sup>
	%15 ± 0.15 <sup>bA</sup>	0.253 ± 0.006 <sup>aA</sup>	50.77 ± 0.09 <sup>cB</sup>	14.97 ± 0.01 <sup>aA</sup>	10.43 ± 0.03 <sup>bA</sup>	23.78 ± 0.05 <sup>cB</sup>	18.85 ± 0.12 <sup>bB</sup>	43.68 ± 0.13 <sup>bA</sup>
	%25 ± 0.27 <sup>bA</sup>	0.247 ± 0.006 <sup>aA</sup>	50.90 ± 0.06 <sup>cB</sup>	14.95 ± 0.02 <sup>aA</sup>	10.43 ± 0.01 <sup>bA</sup>	23.90 ± 0.04 <sup>cB</sup>	18.23 ± 0.05 <sup>aA</sup>	43.54 ± 0.08 <sup>bA</sup>
Maltodekstrin (Maltodextrin)	%5 ± 0.03 <sup>aC</sup>	0.273 ± 0.005 <sup>bA</sup>	46.35 ± 0.31 <sup>cA</sup>	19.52 ± 0.28 <sup>bB</sup>	8.95 ± 0.15 <sup>bA</sup>	19.73 ± 0.32 <sup>bA</sup>	21.48 ± 0.42 <sup>bB</sup>	50.49 ± 0.34 <sup>aB</sup>
	%15 ± 0.16 <sup>aB</sup>	0.267 ± 0.021 <sup>aA</sup>	49.29 ± 0.37 <sup>bB</sup>	15.75 ± 0.30 <sup>bA</sup>	8.62 ± 0.19 <sup>aA</sup>	21.83 ± 0.25 <sup>bB</sup>	17.95 ± 0.32 <sup>aA</sup>	41.51 ± 0.40 <sup>aA</sup>
	%25 ± 0.03 <sup>aA</sup>	0.270 ± 0.01 <sup>bA</sup>	50.11 ± 0.21 <sup>bC</sup>	15.50 ± 0.07 <sup>bA</sup>	8.84 ± 0.07 <sup>aA</sup>	22.67 ± 0.15 <sup>bC</sup>	17.84 ± 0.20 <sup>aA</sup>	41.01 ± 0.25 <sup>aA</sup>

<sup>a-c</sup> Aynı konsantrasyon yüzdesinde farklı kurutma yardımcı maddeleri arasındaki farkı gösterir (P < 0.05)

<sup>A-C</sup> Aynı kurutma yardımcı maddelerinin farklı konsantrasyonları arasındaki farkı gösterir (P < 0.05)

<sup>a-c</sup> Indicates the difference between different drying agents at the same concentration percentage (P < 0.05)

<sup>A-C</sup> Indicates the difference between different concentrations in the same drying agents (P < 0.05)

Gıdaların muhafazasında dikkat edilmesi gereken özelliklerden en önemlisi ürünlerin sahip olduğu nem içerikleridir. Kurutma işlemi öncesinde taflan püresinin sahip olduğu nem içeriği %81.15±0.28 olarak belirlenmiş ve bu sonuç literatürde yapılan bazı çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. Örneğin, Kolaylı vd. (2003) yaptıkları çalışmada

taflanın nem içeriğini %80.00±4.10 olarak saptamışlardır. Taflanın olgunlaşma durumu ve türü, toz ürünlerin nem içeriklerinde farklılıklara neden olabilmektedir. Gıdaların fiziksel ve kimyasal özelliklerinin daha uzun süre muhafaza edilebilmesinde, sahip oldukları nem içeriklerinin %10'un altında olması gerekmektedir (Quek vd.,

2007). Çizelge 1 incelendiğinde, kurutma yardımcı maddelerinin nem içeriklerinin %4.87-8.35 aralığında değişim gösterdiği ve gam arabığın diğer kurutma yardımcı maddelerine göre daha yüksek nem içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Çizelge 2'ye göre kurutma işlemi sonucunda elde edilen taflan tozlarının nem içeriklerinin %3.16-7.71 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Katkısız taflan tozunun nem içeriği (%7.71) dikkate alındığında, kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlardaki artışla taflan tozlarının nem içeriğinin azaldığı gözlenmiştir (%25 gam arabik katkılı toz hariç) ( $P < 0.05$ ). Peyniraltı suyu tozunun nem içeriği gam arabikten düşük, maltodekstrinin nem içeriğinden ise yüksek bulunmuştur. Gam arabığın yüksek nem içeriği ve yüksek su bağlama özelliğinden dolayı elde edilen gam arabik katkılı taflan tozlarının nem içeriklerinin diğer taflan tozlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde en düşük nem içeriği değerlerine de, en düşük nem içeriğine sahip maltodekstrin katkılı taflan tozlarında rastlanılmıştır. Kurutma yardımcı maddelerinin sahip olduğu nem içeriklerinin son ürünün nem içeriğini doğrudan etkilediği saptanmıştır. Ergüney vd. (2015), karayemiş püresini dondurarak kurutucuda 5mm ürün kalınlığında,  $-52^{\circ}\text{C}$ , 100mTorr basınçta 18 saat süreyle kuruttıkları çalışmada, karayemiş tozu üretiminde kurutma yardımcı maddelerinin (maltodekstrin (DE5 ve DE 4-7) ve trikalsiyum fosfat) toz ürün özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar yapılan çalışmada kütlece %10 oranında maltodekstrin (DE4-7) eklenerek elde edilen karayemiş tozunun nem içeriğinin %1.78 ve kontrol grubunun nem içeriğinin ise %2.43 olduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, karayemiş püresine kütlece %10 oranında maltodekstrin eklenmesiyle nem içeriğinin yaklaşık olarak %26 oranında azaldığı görülmektedir. Çalışmamızda, kullanılan taflan ve kurutma koşullarının farklı olması nedeniyle katkısız taflan tozunun nem içeriği %7.71 olarak bulunmuş ancak %5 maltodekstrin eklenmesiyle bile nem içeriğinde yaklaşık %35 oranında azalma meydana gelmiştir. Çalışkan vd. (2015), yaptıkları çalışmada başlangıç nem içeriği %81.19 olan kivi püresine kütlece %10 oranında maltodekstrin ilavesi yaparak dondurarak

kurutucuda 3mm ürün kalınlığında,  $30^{\circ}\text{C}$  plaka sıcaklığı ve 13.33kPa mutlak basınçta 9saat süreyle kurutmuşlardır. Kurutma işlemi sonucunda katkısız kivi tozlarının nem içeriğinin %9.55, katkılı kivi tozunun nem içeriğinin ise %4.20 olduğunu ve katkı maddesinin ilavesi ile nem içeriğinin azaldığını belirlemişlerdir.

Gıdalarda mikrobiyal stabilitenin sağlanması için su aktivitesi değerinin 0.6'nın altında olması gerekmektedir (Quek vd., 2007). Su aktivitesi değerleri 0.20 ile 0.40 arasında olan ürünler istenmeyen reaksiyonlara (esmerleşme ve hidrokolloidal reaksiyonlar, yağ oksidasyonu, enzimatik aktiviteler vb.) karşı daha dayanıklıdır (Marques vd., 2007). Taflan püresinin su aktivitesi değeri  $0.999 \pm 0.000$  olarak ölçülmüştür. Kurutma işleminde kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin su aktivitesi değerlerinin 0.382 ile 0.473 aralığında değiştiği ve en düşük değere peyniraltı suyu tozunun sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 1). Kurutma işlemi sonucunda taflan tozlarının su aktivitesi değerleri 0.220-0.290 aralığında bulunmuştur. Kurutma yardımcı maddeleri dondurarak kurutma işleminde elde edilen son ürünün su aktivitesi değerlerini de etkilemektedir. Kurutma yardımcı maddelerinin su aktivitesi değerlerinin, genel olarak katkısız taflan tozunun su aktivitesi ( $a_w=0.250$ ) değerinden yüksek olması ürün özellikleri açısından istenen sonuçlara katkı sağlayamamıştır. Çizelge 2 değerlendirildiğinde, peyniraltı suyu tozu ve maltodekstrin konsantrasyonundaki artışın tozların su aktivitesini istatistiksel olarak etkilemediği ( $P > 0.05$ ), fakat gam arabik konsantrasyonundaki artışla birlikte su aktivitesi değerinde azalmanın meydana geldiği saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Çalışkan ve Dirim (2016) yaptıkları çalışmada sumak ekstraktlarına kütlece %20, 25 ve 30 oranında maltodekstrin ilavesi yaparak dondurarak kurutucuda kurutmuşlardır. Elde ettikleri sumak ekstraktı tozlarının su aktivitesi değerlerinin maltodekstrin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak 0.410'dan 0.160'a düştüğünü saptamışlardır.

Gıdaların sahip olduğu renk değerleri tüketiciler tarafından en temel değerlendirme ölçütü olarak kullanılmaktadır. Katkısız ve katkılı taflan

tozlarının renk değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. Taflan püresinin kurutma işlemi öncesi sahip olduğu renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ )  $28.38 \pm 0.17$ ,  $14.63 \pm 0.23$  ve  $2.44 \pm 0.08$  olarak ölçülmüştür. Bu değerler, Kasım vd. (2011)’nin 12 farklı türdeki taflanın  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin ortalama olarak sırasıyla, 21.14-24.21, 5.63-17.72 ve 0.22-3.97 aralığında olduğunu belirledikleri çalışmayla uyumludur. Kurutma işleminde kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin eklenmesinin katkılı taflan tozlarının renk değerlerini istatistiksel olarak önemli ölçüde etkilediği sonucuna varılmıştır (Çizelge 2). Elde edilen katkılı taflan tozlarının  $L^*$  değerlerinde, kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak artışın meydana geldiği sonucuna varılmıştır ( $P < 0.05$ ). Genel olarak peyniraltı suyu tozu katkılı örneklerin  $L^*$  değerleri diğer tozlara göre daha yüksektir (%5 peyniraltı suyu tozu katkılı toz hariç). Gam arabik ve maltodekstrin (Çizelge 1,  $L^* = 96.97$  ve  $96.46$ ) birbirine yakın parlaklık renk değerine sahip olmalarına karşın, maltodekstrin katkılı taflan tozları daha parlak bulunmuştur. Taflan püresinin parlaklık değerinin, kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin renk değerlerine göre daha düşük olması nedeniyle bu maddelerin konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak elde edilen taflan tozlarının parlaklık değerleri artmaktadır ( $P < 0.05$ ). Katkılı taflan tozlarının kırmızılık değerleri incelendiğinde, kurutma katkılarının kullanımının kırmızılık değerlerinde azalmaya neden olduğu sonucuna varılmıştır. Gam arabik katkılı taflan tozlarının  $a^*$  değerlerinin genel olarak diğer tozlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kurutma yardımcı maddelerinden gam arabik ve peyniraltı suyu tozunun taflan püresine göre daha yüksek sarılık ( $+b^*$ ) değerine sahip olmaları nedeniyle, taflan tozlarının sarılık değerini önemli oranda etkilemişlerdir ( $P < 0.05$ ). Bununla birlikte sarılık değeri diğer kurutma yardımcı maddelerine oranla çok düşük olan maltodekstrin katkılı toz ürünlerde de benzer artışın gözlenmiş olması dondurarak kurutma yönteminin etkisi olarak açıklanabilir. Katkılı taflan tozlarında meydana gelen toplam renk değişiminin en az gam arabik, en fazla ise peyniraltı suyu tozu ilavesiyle olduğu

belirlenmiştir (%5 peyniraltı suyu tozu katkılı toz hariç) ( $P < 0.05$ ).

Ölçülen  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri kullanılarak hesaplanan Kroma değeri, ürünlerin renginin şiddetini ifade etmektedir (Quek vd., 2007). Taflan tozlarının Kroma değerleri incelendiğinde, kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonunun artmasıyla birlikte Kroma değerinde gam arabik katkılı tozlarda artış, peyniraltı suyu tozu ve maltodekstrin katkılı tozlarda ise azalış meydana gelmiştir. Taflan tozlarının esmerleşme derecesi değerleri incelendiğinde, genel olarak kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarındaki artışla toz ürünlerin esmerleşme derecesinde azalmanın olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Esmerleşme derecesi genellikle ısı işleminin olduğu durumlarda kararmanın belirlenmesi için kullanılmakla birlikte,  $L^*$  değerindeki değişimlerden yüksek oranda etkilendiği için genel olarak işlem ve katkıların etkisinin değerlendirilmesi amacıyla da kullanılabilir. Çalışkan ve Dirim (2016) farklı konsantrasyonlarda (%20, 25 ve 30) maltodekstrin ilavesi yaptıkları sumak ekstraktlarını dondurarak kurutucuda kurutmuşlar ve kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarındaki artışla birlikte elde ettikleri sumak ekstraktı tozlarının  $L^*$  değerinin arttığını,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin ise azaldığını belirlemişlerdir.

Kurutulmuş ve öğütülmüş ürünlerin, ağırlık-hacim ve akışkanlık gibi temel fiziksel ve toz ürün özellikleri bu ürünlerin tanımlanması ve gıda işleme teknolojilerinde kullanılması açısından önemlidir.

Yığın yoğunluğu, toz ürünlerin taşınması ve ambalajlanmasında önemlidir ve yüksek yığın yoğunluğu değerine sahip toz ürünlerin elde edilmesi düşük paketleme ve taşıma maliyetlerinden dolayı üreticiler tarafından istenen bir özelliktir (Walton, 2000). Çizelge 3 incelendiğinde, kurutma yardımcı maddelerinin yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin sırasıyla  $358.74-637.50 \text{ kg/m}^3$  ve  $499.99-792.79 \text{ kg/m}^3$  aralığında değiştiği ve en düşük yoğunluk değerlerine maltodekstrinin sahip olduğu görülmektedir. Çizelge 4 incelendiğinde,

taflan tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin sırasıyla 99.75-242.85kg/m<sup>3</sup> ve 136.06-329.11kg/m<sup>3</sup> aralığında değiştiği saptanmıştır. Katkısız taflan tozlarının en düşük yoğunluk değerlerine sahip olduğu ve katkı maddelerinin ilavesiyle taflan tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin önemli oranda arttığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Katkılı tozlarda belirlenen yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri genel olarak katkıların

konsantrasyonlarının artmasıyla artmış, ancak peyniraltı suyu tozu (%15 oranında) ve maltodekstrin (%25 oranında) katkı tozlarda bu davranıştan sapmalar meydana gelmiştir ( $P < 0.05$ ). Maltodekstrin düşük yığın yoğunluğu değerine sahip olmasından dolayı, elde edilen maltodekstrin katkı taflan tozlarının diğer tozlara göre daha düşük yığın yoğunluğu değerine sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 3. Kurutma yardımcı maddelerinin toz ürün özellikleri

Table 3. Powder properties of drying agents

	Yığın Yoğunluğu (Bulk Density) (kg/m <sup>3</sup> )	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu (Tapped Density) (kg/m <sup>3</sup> )	Akabilirlik (Flowability) (CI)	Yapışkanlık (Cohesiveness) (HR)	Islanabilirlik Süresi (Wettability Time) (dk)	Dağılılırlik (Dispersibility) (%)	Higroskopite Değeri (Hygroscopicity Values) (%)	Kekleşme Derecesi (Degree of Caking) (%)
Gam Arabik (Gum Arabic)	637.50 ± 1.50	792.79 ± 7.32	19.58 ± 0.72 (İyi) (Good)	1.24 ± 0.01 (Orta) (Intermediate)	42.82 ± 0.75	39.46 ± 0.80	7.92 ± 0.05	72.34 ± 0.56
Peyniraltı Suyu Tozu (Whey Powder)	587.64 ± 2.66	660.38 ± 2.78	11.02 ± 0.16 (Çok iyi) (Very Good)	1.12 ± 0.01 (Düşük) (Low)	0.11 ± 0.08	93.95 ± 0.63	4.05 ± 0.01	20.69 ± 0.50
Maltodekstrin (Maltodextrin)	358.74 ± 2.88	499.99 ± 4.58	28.24 ± 0.57 (Orta) (Fair)	1.39 ± 0.01 (Orta) (Intermediate)	0.19 ± 0.02	88.05 ± 0.52	5.99 ± 0.03	12.75 ± 0.53



Kurutma maddelerinin taflan tozları özelliklerine etkisi

Çizelge 4. Taflan tozlarının toz ürün özellikleri  
Table 4. Powder properties of cherry laurel powders

	Yığın Yoğunluğu (Bulk Density) (kg/m <sup>3</sup> )	Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu (Tapped Density) (kg/m <sup>3</sup> )	Akabilirlik (Flowability) (CI)	Yapışkanlık (Cohesiveness) (HR)	Islanabilirlik Süresi (Wettability Time) (dk)	Dağılıbilirlik (Dispersibility) (%)	Higroskopite Değeri (Hygroscopicity Values) (%)	Kekleşme Derecesi (Degree of Caking) (%)	
Katkısız (Plain)	99.75 ± 0.01	136.06 ± 0.12	26.75 ± 0.01 (Orta) (Fair)	1.36 ± 0.01 (Orta) (Intermediate)	3.25 ± 0.02	82.42 ± 0.35	7.17 ± 0.01	47.15 ± 0.02	
Gam Arabik (Gum Arabic)	%05	164.73 ± 2.96 <sup>bA</sup>	245.67 ± 4.53 <sup>aA</sup>	32.94 ± 0.70 <sup>bB</sup> (Orta) (Fair)	1.49 ± 0.02 <sup>aB</sup> (Yüksek) (High)	4.58 ± 0.26 <sup>bA</sup>	66.42 ± 0.50 <sup>aA</sup>	4.33 ± 0.05 <sup>aB</sup>	84.61 ± 0.85 <sup>bC</sup>
		203.34 ± 6.25 <sup>bB</sup>	274.44 ± 8.56 <sup>cb</sup>	25.74 ± 0.65 <sup>bA</sup> (Orta) (Fair)	1.36 ± 0.06 <sup>bA</sup> (Orta) (Intermediate)	22.94 ± 0.45 <sup>eB</sup>	66.16 ± 0.81 <sup>aA</sup>	6.28 ± 0.03 <sup>cC</sup>	76.18 ± 0.40 <sup>aB</sup>
		209.66 ± 1.08 <sup>bB</sup>	285.24 ± 5.01 <sup>bB</sup>	25.82 ± 0.71 <sup>aA</sup> (Orta) (Fair)	1.33 ± 0.03 <sup>aA</sup> (Orta) (Intermediate)	35.47 ± 0.20 <sup>cC</sup>	66.05 ± 0.80 <sup>aA</sup>	3.06 ± 0.01 <sup>cA</sup>	64.79 ± 0.15 <sup>aA</sup>
Peyniraltı Suyu Tozu (Whey Powder)	%05	169.47 ± 1.13 <sup>bA</sup>	237.59 ± 7.43 <sup>aA</sup>	29.19 ± 0.59 <sup>aC</sup> (Orta) (Fair)	1.41 ± 0.08 <sup>aB</sup> (Yüksek) (High)	2.82 ± 0.18 <sup>aA</sup>	78.28 ± 0.26 <sup>cA</sup>	4.38 ± 0.13 <sup>aB</sup>	80.21 ± 0.06 <sup>aC</sup>
		183.61 ± 7.47 <sup>bB</sup>	231.58 ± 8.00 <sup>aA</sup>	20.57 ± 0.20 <sup>aA</sup> (Orta) (Fair)	1.26 ± 0.07 <sup>aA</sup> (Orta) (Intermediate)	3.88 ± 0.04 <sup>aB</sup>	78.85 ± 0.35 <sup>bA</sup>	4.35 ± 0.01 <sup>aB</sup>	78.07 ± 0.35 <sup>bB</sup>
		242.85 ± 3.20 <sup>cC</sup>	329.11 ± 5.23 <sup>cB</sup>	26.19 ± 0.06 <sup>aB</sup> (Orta) (Fair)	1.34 ± 0.02 <sup>aA</sup> (Orta) (Intermediate)	9.05 ± 0.06 <sup>aC</sup>	79.78 ± 0.31 <sup>cB</sup>	2.49 ± 0.01 <sup>bA</sup>	69.86 ± 0.33 <sup>bA</sup>
Maltodekstrin (Maltodextrin)	%05	156.11 ± 5.57 <sup>aA</sup>	253.94 ± 4.50 <sup>bA</sup>	37.67 ± 0.12 <sup>cB</sup> (Kötü) (Bad)	1.63 ± 0.12 <sup>bB</sup> (Yüksek) (High)	4.35 ± 0.23 <sup>bA</sup>	72.21 ± 0.16 <sup>bA</sup>	4.66 ± 0.01 <sup>bB</sup>	80.19 ± 0.67 <sup>aB</sup>
		185.53 ± 1.54 <sup>bB</sup>	253.71 ± 3.31 <sup>bA</sup>	26.87 ± 0.35 <sup>bA</sup> (Orta) (Fair)	1.37 ± 0.01 <sup>bA</sup> (Orta) (Intermediate)	9.33 ± 0.57 <sup>cC</sup>	81.94 ± 0.71 <sup>cC</sup>	4.72 ± 0.03 <sup>bC</sup>	79.80 ± 0.05 <sup>cB</sup>
		156.09 ± 6.17 <sup>aA</sup>	264.68 ± 7.05 <sup>aA</sup>	37.50 ± 0.16 <sup>bB</sup> (Kötü) (Bad)	1.60 ± 0.06 <sup>bB</sup> (Yüksek) (High)	11.58 ± 0.18 <sup>bC</sup>	78.81 ± 0.18 <sup>bB</sup>	2.05 ± 0.03 <sup>aA</sup>	72.51 ± 0.13 <sup>cA</sup>

<sup>a-c</sup> Aynı konsantrasyon yüzdesinde farklı kurutma yardımcı maddeleri arasındaki farkı gösterir ( $P < 0.05$ )

<sup>A-C</sup> Aynı kurutma yardımcı maddelerinin farklı konsantrasyonları arasındaki farkı gösterir ( $P < 0.05$ )

<sup>a-c</sup> Indicates the difference between different drying agents at the same concentration percentage ( $P < 0.05$ )

<sup>A-C</sup> Indicates the difference between different concentrations in the same drying agents ( $P < 0.05$ )

Toz ürünlerin akabilirlik ve yapışkanlık özellikleri ambalajlama, ölçme, nakliye koşulları, doz ayarlaması ve karıştırma işlemlerinde üretici ve son kullanıcı için önemli kalite parametreleridir (Çalışkan ve Dirim, 2016). Kurutma yardımcı maddelerinin ve taflan tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık özellikleri CI ve HR kullanılarak belirlenmiştir. CI ve HR değerleri sırasıyla; <15 (çok iyi), 15-20 (iyi), 20-35(orta) ve 35>(kötü) ve <1.2 (düşük), 1.2-1.4 (orta) ve >1.4 (yüksek) olarak değerlendirilmektedir (Jinapong vd., 2008). Bu değerlendirme ölçütleri kullanıldığında, katkısız taflan tozunun akabilirlik ve yapışkanlık değerlerinin orta düzeyde olduğu görülmektedir (Çizelge 4). Bu çalışmada, kurutma yardımcı maddeleri kullanımının öncelikli amacı; kurutma işleminin verimli olabilmesi için daha düşük nem ve su aktivitesi değerlerine ulaşılmasıdır ve bu konuda başarılı olunmuştur. Ancak, bu katkıların akabilirlik ve yapışkanlık özelliklerinin iyileştirilmesi konusunda başarılı olduğu söylenemez. Özellikle de peyniraltı suyu tozunun çok iyi akabilirlik ve düşük yapışkanlık özelliklerine sahip olmasına rağmen elde edilen toz ürünlerde beklenen katkıyı sağlayamamıştır. Gam arabik ve peyniraltı suyu tozu katkılı taflan tozlarının akabilirlik özellikleri orta seviyededir. Diğer yandan, maltodekstrin orta seviyede akabilirlik özelliğine sahip olmasına rağmen, elde edilen maltodekstrin katkılı taflan tozları genel olarak kötü akabilirlik özelliği göstermektedir. Çalışkan ve Dirim (2016) dondurarak kurutulmuş sumak ekstraktı tozu üretiminde kullandıkları maltodekstrin konsantrasyonunun (%20, 25 ve 30) artmasına bağlı olarak CI değerinin 25.02'den 15.89'a ve HR değerinin ise 1.33'den 1.19'a düştüğünü belirlemişlerdir. Bu sonuçlar incelendiğinde sumak ekstraktı tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık özelliklerinin maltodekstrinin konsantrasyonundaki artışla daha iyi bir hale geldiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacıların bu yaklaşımına katkılı taflan tozlarının yapışkanlık özellikleri (%25 katkılı taflan tozları hariç) uymaktadır.

Islanabilirlik özelliği toz partiküllerin yüzeylerinden suyu absorplama yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Toz ürünlerin ıslanabilirlik özellikleri ürünlerin sahip olduğu özelliklere (partikülün alanına, yoğunluğuna, büyüklüğüne ve

partikülün yapısında bulunan higroskopik maddelerin içeriği vb.) göre değişim göstermektedir (Schuck, 2011). Kurutma yardımcı maddelerinin ıslanabilirlik süreleri değerlendirildiğinde (Çizelge 3) gam arabik diğer kurutma yardımcı maddelerine göre daha yüksek ıslanabilirlik süresine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle elde edilen gam arabik katkılı taflan tozlarının ıslanabilirlik süreleri diğer katkılı tozlara göre daha fazladır (Çizelge 4). Katkılı taflan tozlarında ıslanabilirlik süresi en düşük olan örnekler beklendiği gibi peyniraltı suyu tozu katkılı tozlardır. Taflan tozlarının ıslanabilirlik süreleri kurutma yardımcı maddelerinin türünden etkilenmiş olup kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarının artmasıyla artmıştır ( $P < 0.05$ ). Çalışkan ve Dirim'in (2013) dört farklı konsantrasyonda (%10, 15, 20 ve 25) maltodekstrin katkılı sumak ekstraktlarını püskürtmeli kurutucuda kurutarak toz ürün elde ettikleri çalışmada tozların ıslanabilirlik sürelerinin maltodekstrin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir. Taflan tozlarının ıslanabilirlik süreleri de benzer biçimde kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak artmıştır ( $P < 0.05$ ). Freuding vd. (1999), düşük sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerine sahip toz ürünlerin ıslanabilirlik özelliğinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Katkılı taflan tozları değerlendirildiğinde genel olarak bu durumun geçerli olduğu ve düşük sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerine sahip tozların ıslanabilirlik sürelerinin kısa olduğu yani ıslanabilirlik özelliklerinin yüksek olduğu söylenebilir.

Dağılılırlik özelliği, toz ürünlerin bir çözelti içerisinde hafif bir şekilde karıştırılması sonucunda dağılılırme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Jaya and Das, 2005). Taflan tozlarının dağılılırlik değerleri %66.05 ile %82.42 arasında değişmektedir (Çizelge 4). En düşük dağılılırlik özelliğine gam arabik katkılı tozların sahip olduğu belirlenmiştir. Kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonları açısından değerlendirildiğinde, en yüksek dağılılırlik özelliğine sahip olan örneklerin peyniraltı suyu tozu katkılı taflan tozlarının olduğu saptanmıştır (%15 peyniraltı suyu tozu katkılı toz hariç). Jaya ve Das (2005) yaptıkları çalışmada, bazı toz

gıdaların (çözünabilir kahve, toz domates çorbası karışımı, mango tozu vb.) dağılılırlık değerlerinin %68.19-99.98 aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Ergüney vd. (2015), dondurarak kurutulmuş karayemiş tozlarının dağılılırlık değerlerinin katkısız tozlar için %81, %10 maltodekstrin (DE4-7) katkılı tozlar için %87 olduğunu belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada, her iki çalışmaya benzer dağılılırlık değerleri elde edilmiştir.

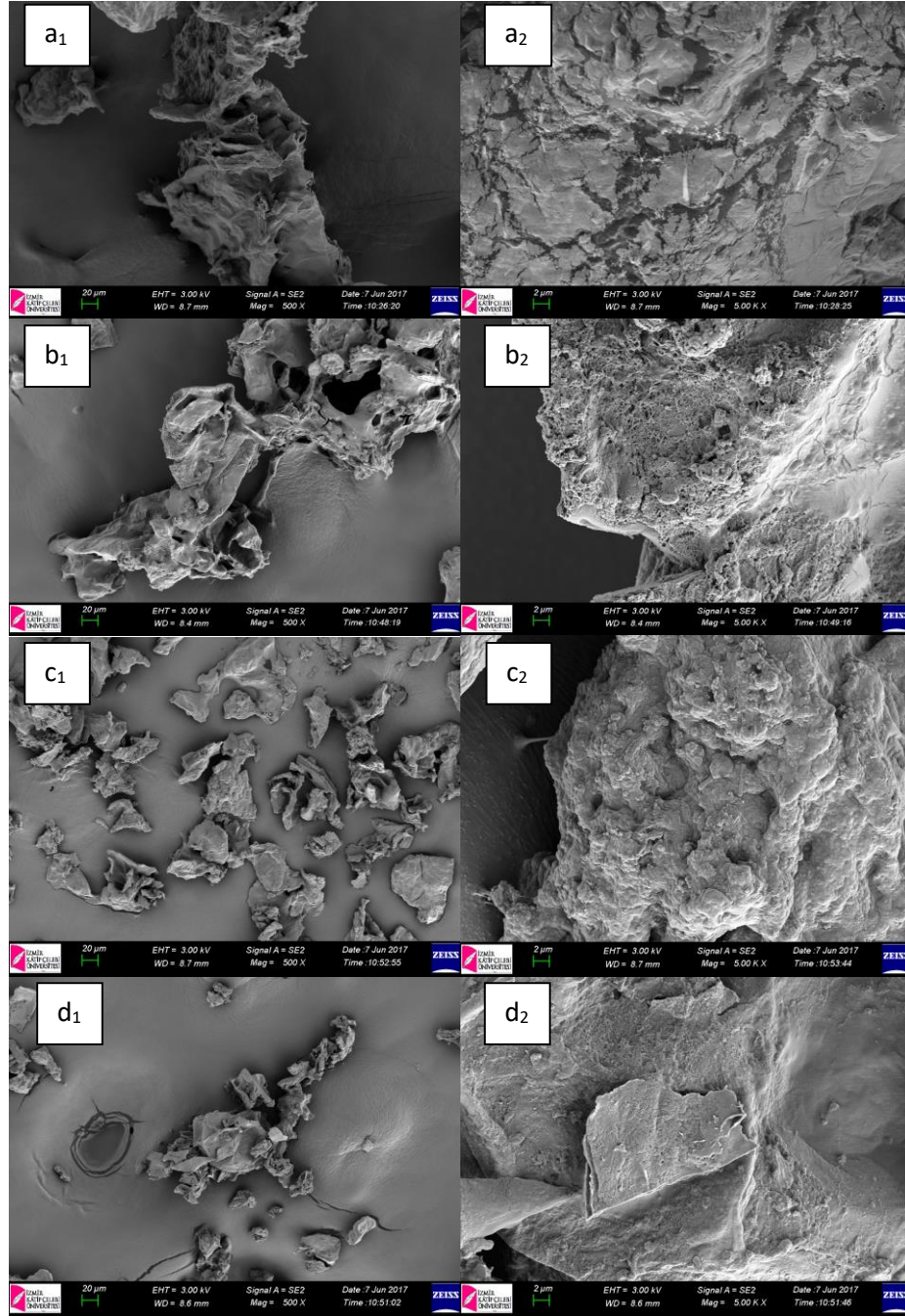
Toz ürünlerin higroskopik yapıda olup olmamaları ürünün yapısal özelliklerine (yapısında bulunan organik asit, ürünün sahip olduğu nem içeriği vb.) bağlı olarak değişim göstermektedir (Ferrari vd., 2012). Çizelge 4 incelediğinde, kurutma işleminde kurutma yardımcı maddelerinin kullanılmasıyla birlikte taflan tozlarının higroskopik özelliklerinin iyileştirildiği görülmektedir. Katkısız taflan tozunun higroskopite değeri %7.17 iken, bu değer kurutma yardımcı maddelerinin ilavesiyle %2.05-6.28 aralığına düşürülmüştür. Gam arabik katkılı taflan tozlarının, peyniraltı suyu tozu ve maltodekstrin katkılı tozlara göre daha yüksek higroskopite değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni, kurutma yardımcı maddelerinden gam arabik'in en yüksek higroskopite değerine sahip olmasıdır. Tozların higroskopik özellikleri konsantrasyonlarının değişiminden istatistiksel olarak önemli oranda etkilenmiştir ( $P < 0.05$ ). Taflan tozlarının higroskopite değerlerinin literatürde yapılan çalışmaların sonuçlarına benzediği saptanmıştır. Jaya ve Das (2005) vakum kurutucuda kurutulmuş mango tozunun %7.20 ve toz domates çorba karışımının %4.20-6.64 aralığında higroskopite değerine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, hurma meyvesinin fırında kurutulması sonrası elde edilen toz ürünlerin higroskopite değerlerinin maltodekstrin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak %6.2'den 4.0'a düştüğü belirtilmiştir (Sablani vd., 2008). Oliveria vd. (2013) yaptıkları çalışmada, palm meyvesinin dondurularak kurutulmasında %8 konsantrasyonunda maltodekstrin ekleyerek elde ettikleri toz ürünün higroskopite değerini % 6.86 ve katkısız toz ürünün higroskopite değerini ise %7.68 olarak belirlemişlerdir. Tonon vd. (2008), elde ettikleri açai tozlarında maltodekstrin konsantrasyonunun

artışına bağlı olarak higroskopite değerinin azaldığını belirtmişlerdir. Genel olarak bizim çalışmamızda olduğu gibi, kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarının artmasıyla elde edilen tozların higroskopite değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Ancak maltodekstrin ve gam arabik'in konsantrasyonunun %5'den %15'e artırılması bu sonuca uymamaktadır. Bu durumun nedeni, kurutma yardımcı maddelerinden gam arabik ve maltodekstrinin higroskopite değerlerinin peyniraltı suyu tozunun higroskopite değerine oranla daha yüksek olmasıyla açıklanabilir. Kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonunun %25'e çıkarılmasıyla beklenen etki sağlanmıştır.

Toz ürünlerde kekleşme, serbest halde bulunan ve suda çözünebilen amorf partiküllerin birbirleriyle temas ederek bir araya gelip katı yapı oluşturması olarak tanımlanmaktadır. Elde edilen toz ürünlerin depolama koşulları, kimyasal yapısı, molekül dağılımı gibi özellikler kek oluşumunu etkilemektedir (Hartmann ve Palzer, 2011). Elde edilen taflan tozlarının kekleşme derecelerinin %47.15- 84.61 aralığında değiştiği görülmektedir (Çizelge 4). Seçilen kurutma yardımcı maddelerinin kekleşme değerlerinin birbirinden oldukça farklı olması nedeniyle taflan tozlarının kekleşme derecelerinin farklı olduğu ve konsantrasyon artışına bağlı olarak kekleşme derecelerinde bir azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir (%15 maltodekstrin katkılı toz hariç) ( $P < 0.05$ ). Yapılan bir çalışmada, palm meyvesinin dondurularak kurutulması sonucunda maltodekstrin katkılı tozların kekleşme derecesinin (%0.09), katkısız tozların kekleşme derecesine (%0.33) göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde kurutma işleminde maltodekstrin konsantrasyonunun artışıyla kekleşme derecesinde %72.73 oranında bir azalma olmuştur (Oliveria vd., 2013). Çalışmamızda ise katkısız taflan tozuna göre kurutma yardımcı maddelerinin ilavesiyle tozların kekleşme derecesinde %37.41-67.22 aralığında bir artış meydana gelmiştir. Kurutma yardımcı maddelerinin sahip olduğu kekleşme dereceleri, elde edilen katkılı taflan tozlarının kekleşme derecelerinin katkısız olanlara göre daha fazla olmasını etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Literatürde yapılan çalışmalarda grugru palm

(dikenli kaktüs meyvesi), mango ve limon suyu tozlarının kekleşme derecelerinin %0.03 ve 34.77 aralığında değişim gösterdikleri belirlenmiştir

(Oliveria et al, 2014; Jaya ve Das, 2005; Martinelli vd., 2007).



Şekil 1. Dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının SEM görüntüleri (500-5000x büyütülmüş) ((a1- a2): katkısız; (b1-b2): %15 gam arabik; (c1- c2): %15 peyniraltı suyu tozu; (d1- d2): %15 maltodekstrin katkılı taflan tozu)

Figure 1. SEM images of freeze dried cherry laurel powders (500-5000x magnification) ((a1- a2): plain; (b1-b2): 15% gum arabic; (c1- c2): 15% whey powder; (d1- d2): %15 maltodextrin added cherry laurel powder)

Katkısız ve %15 oranında kurutma yardımcı maddesi içeren taflan tozlarının SEM görüntüleri (500 ve 5000x büyütülmüş) Şekil 1'de verilmiştir. SEM görüntüleri incelendiğinde, elde edilen tozlarının plaka şeklinde bir görünüme sahip oldukları gözlenmiştir. Genel olarak katkısız ve gam arabik katkılı taflan tozlarında toz partikülleri birleşip büyük partiküller meydana getirmiştir (500x büyütülmüş). 5000x büyütülmüş SEM görüntüleri incelendiğinde, katkısız taflan tozunda derin çatlakların meydana geldiği ve kurutma yardımcı maddelerinin kullanıldığı tozlarda ise bu çatlakların oluşumunun azaldığı görülmektedir. Genel bir kıyaslama yapıldığında, maltodekstrin katkılı taflan tozlarının diğer tozlara göre daha pürüzlü yapıya sahip olduğu ve daha çok gözenek içerdiği gözlenmiştir.

### SONUÇ

Bu çalışmada; taflan meyvesinin dondurarak kurutulmasında kurutma yardımcı madde ilavesinin elde edilen toz ürünün özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Taflan tozlarının nem içeriği %10'dan az, su aktivitesi değeri ise 0.300'ün altında bulunmuştur. Bu nedenle taflan tozlarının mikrobiyal gelişme ve biyokimyasal reaksiyonlara karşı stabil olduğu kabul edilebilir. Kurutma yardımcı maddelerinin kullanılmasıyla birlikte taflan tozlarının L\* değerlerinde artış meydana gelmiştir. Toplam renk değişim değerleri ( $\Delta E$ ) 17.73 ile 23.90 arasında bulunmuştur. Taflan tozlarının yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerlerinin kurutma yardımcı maddelerinin kullanılmasıyla arttığı belirlenmiştir. Taflan tozlarının akabilirlik ve yapışkanlık özelliklerinin kullanılan katkılarla iyileştirilemediği gözlenmiştir. Islanabilirlik sürelerinin en yüksek gam arabik katkılı tozlarda olduğu, taflan tozlarının genel olarak 40sn'den kısa sürede tamamen ıslandıkları belirlenmiştir. Taflan tozlarının dağılıbilirlik özellikleri kurutma yardımcı maddelerinin kullanılmasıyla azalmış olup katkılı tozlardan en düşük dağılıbilirlik özelliğine gam arabik katkılı taflan tozlarının sahip olduğu belirlenmiştir. Kurutma işleminde kurutma yardımcı maddelerinin kullanılması taflan tozlarının higroskopite özelliklerini iyileştirmiştir. Katkısız taflan tozunun kekleşme derecesi dikkate alındığında, kurutma yardımcı maddelerinin

kullanılmasıyla kekleşme derecelerinde artış meydana geldiği ve kurutma yardımcı maddelerinin konsantrasyonlarının artmasıyla azaldığı belirlenmiştir. Katkısız taflan tozlarına göre, katkılı tozlarının daha pürüzsüz yapıya sahip olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, kullanılan kurutma yardımcı maddelerinin özelliklerinin son ürün üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada elde edilen taflan tozları ile üreticilere ve tüketicilere renk ve kendine özgü aroma verici madde olarak kullanım olanağı sunulmuş olacak ve taflanın daha geniş kitle tarafından tanınması sağlanacaktır. Elde edilen taflan tozları tatlılarda, pastalarda ve meyve sularında kullanılabilme olanağı bulabilecektir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenen projenin (Proje No: 16-MÜH-081) bir bölümüdür.

### KAYNAKLAR

- Akyıldız, A., Polat, S., Ağçam, E. (2017). Konveksiyonel ve dondurarak kurutma yöntemlerinin karpuzun bazı kalite özelliklerine etkisi. *GIDA* 42(2): 169–176.
- AOAC (2000). Association of Official Analytical Chemists, Official methods of analysis 17<sup>th</sup> Edition, Gaithersburg, MD, the USA.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., Var, M. (1997). Phenolic acid and fatty acid composition in the fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its cultivars. *J Food Compos Anal*, 10: 350–357.
- Baytop, T. (2001). Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present), 1<sup>st</sup> Edition Istanbul University, Istanbul, Turkey, 178–249.
- Cai, Y.Z., Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *J Food Sci*, 65(6): 1248–1252.
- Chegini, G.R., Ghobadian B. (2005). Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. *Drying Technology*, 23: 657–668.
- Çalışkan, G., Dirim, S.N. (2013). The effects of the different drying conditions and the amounts

- of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food and Bioproducts Processing*, 91: 539–548.
- Çalışkan, G., Ergün, K., Dirim, S.N. (2015). Freeze drying of kiwi (*Actinidia deliciosa*) puree and the powder properties. *Ital J Food Sci*, 27: 385–396.
- Çalışkan, G., Dirim, S.N. (2016). The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. *Powder Technology*, 287: 308–314.
- Demirhan, E., Özbek, B. (2011). Color change kinetics of celery leaves undergoing microwave drying. *Chem Eng Commun*, 198(10): 1189–1205.
- Dirim, S.N., Sakin Yılmaz, M., Di Pinto, D., Kaymak Ertekin, F. (2014). Yogurt with candied chestnut: freeze drying, physical, and rheological behaviour. *J Food Sci Technol*, 51(12): 3949–3955.
- Ergüney, E., Gülsünoğlu, Z., Fıratgil Durmuş, E., Kılıç Akyılmaz, M. (2015). Karayemiş tozu fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi. *Akademik Gıda*, 13(2):108–114.
- Eun, J.B., Park, H.J., Lee, Y. (2016). Physicochemical characteristics of kimchi powder manufactured by hot air drying and freeze drying. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 5: 193–198.
- Ferrari, C.C., Germer, S.P.M., Alvim, I.D., Vissotto, F.Z., Aguirre, J.M. (2012). Influence of carrier agents on the physicochemical properties of blackberry powder produced by spray drying. *Int J Food Sci Technol*, 47: 1237–1245.
- Freuding, B., Hogeckamp, S., Schubert, H. (1999). Dispersion of powders in liquids in a stirred vessel. *Chem Eng Process*, 38: 525–532.
- Gong Z., Zhang M., Mujumdar A.S., Sun, J. (2008). Spray drying and agglomeration of instant bayberry powder. *Drying Technology*, 26: 116–121.
- Hartmann, M., Palzer, S. (2011). Caking of amorphous powders—material aspects, modelling and applications. *Powder Technology*, 206:112–121.
- Henriquez, M., Almonacid, S., Lutza, M., Simpson, R., Valdenegro, M. (2012). Comparison of three drying processes to obtain an apple peel food ingredient. *J Food Sci*, 11(2): 127–135.
- İslam, A. (2002). Cherry laurel (*Prunus lauracerasus*). *N Z J Crop Horti Sci*,30: 301–302.
- Jaya, S., Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on Vacuum dried mango powder properties. *J Food Eng*, 63: 125–134.
- Jaya, S., Das, H. (2005). Accelerated storage, shelf life and color of mango powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29: 45–62.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *J Food Eng*, 84: 194–205.
- Kasım, R., Sülüsoğlu, M., Kasım, M.U. (2011). Relationship between total anthocyanin level and colour of natural cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) fruits. *Afr J Plant Sci*, 5(5): 323–328.
- Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F., Dinçer, B. (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry Laurel) fruit grown in the Black Sea Region. *J Agric Food Chem*, 51: 7489–7494.
- Marques, L.G., Ferreira, M.C., Freire, J.T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). *Chem Eng Process*, 46: 451–457.
- Martinelli, L., Gabas, A.L., Telis Romero, J. (2007). Thermodynamic and quality properties of lemon juice powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Drying Technology*, 25: 2035–2045.
- Michalska, A., Wojdyło, A., Lech, K., Lysiak, G.P., Figie, A. (2016). Physicochemical properties of whole fruit plum powders obtained using different drying technologies. *Food Chem*, 207: 223–232.
- Oliveria, D.M., Clemente, E., Aonso, M.R.A., Correia da Costa, J.M. (2013). Hygroscopic behavior of lyophilized powder of grugru palm (*Acrocomia aculeata*). *Am J Anal Chem*, 4: 1–7.
- Oliveria, D.M., Clemente, E., Correia da Costa, J.M. (2014). Hygroscopic behavior and degree of caking of grugru palm (*Acrocomia aculeata*) powder. *J Food Sci Technol*, 51(10): 2783–2789.
- Orhan, I.E., Akkol, E.K. (2011). Estimation of neuroprotective effects of *Laurocerasus officinalis*

- Roem. (Cherry laurel) by in vitro methods. *Food Res Int*, 44: 818–822.
- Quek, Y.S., Chok, N.K., Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chem Eng Process*, 46: 386–392.
- Ratti, C. (2001). Hot-air and freeze-drying of high value foods: A review. *J Food Eng*, 49:311–319.
- Sablani, S.S., Shrestha, A.K., Bhandari, B.R. (2008). A new method of producing date powder granules: physicochemical characteristics of powder. *J Food Eng*, 87: 416–421.
- Schuck, P. (2011). Milk powder: physical and functional properties of milk powders, J.W. Fuquay (chief ed.), P.F.Fox and P.L.H.Mc Sweeney, Volume 2, Elsevier Academic Press, the UK, pp. 117–124.
- Tonon, V.R., Brabet, C., Hubinger, M.D. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpeoleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. *J Food Eng*, 88: 411–418.
- Walton, D.E. (2000). The morphology of spray-dried particles a qualitative view. *Drying Technology*, 18(9): 1943–1986.

## DETERMINATION OF CROCIN CONTENT AND VOLATILE COMPONENTS IN DIFFERENT QUALITIES OF IRANIAN SAFFRON

**Negin Azarabadi, Feramuz Özdemir\***

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Received / Geliş: 18.01.2018; Accepted / Kabul: 27.04.2018; Published online / Online baskı: 18.052017

Azarabadi, N., Özdemir, F. (2018). Determination of crocin content and volatile components in different qualities of Iranian saffron. *GIDA* (2018) 43 (3): 476-489 doi: 10.15237/gida.GD18018

Azarabadi, N., Özdemir, F. (2018). Farklı kalitedeki İran safranlarının krosin içeriği ve uçucu bileşenlerinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (3): 476-489 doi: 10.15237/gida.GD18018

### ABSTRACT

Saffron, obtained from dried stigmas of *Crocus sativus* L. flowers, is widely used as a food colouring and flavouring spice. The aim of this study was to determine crocin content and volatile constituents of saffron belonging to different quality categories. The quality categories of saffron samples differ in red stigmas (Sargol-I and Sargol-II) and threads with yellow styles (Pushal-I, Pushal-II and Bunch). The total amount of the crocin component was identified with HPLC as highest in the Sargol-I sample (66.67 mg/g) and lowest in the Bunch sample (51.66 mg/g). SPME followed by GC-MS was used to screen of saffron volatile composition. As the result of study, 40 volatile compounds were detected by 3 different fibers (PA, PDMS and CAR/PDMS). GC-MS (PDMS). Safranal, the main volatile compound of saffron, was determined in the Sargol-I, Sargol-II, Pushal-I, Pushal-II and Bunch category samples as 49.64%, 50.29%, 50.42%, 57.02% and 61.31%, respectively.

**Keywords:** Saffron (*Crocus Sativus* L.); Solid phase micro extraction (SPME); GC-MS; HPLC

### FARKLI KALİTEDEKİ İRAN SAFRANLARIN KROSİN İÇERİĞİ VE UÇUCU BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

#### ÖZ

Safran, *Crocus sativus* L. çiçeklerinin kurutulmuş stigmalarından elde edilen, gıda renklendirici ve lezzet verici olarak yaygın biçimde kullanılan bir baharattır. Bu çalışmanın amacı, farklı kalite sınıflarına ait safranın krosin içeriğini ve uçucu bileşenlerini belirlemektir. Safran örneklerinin kalite sınıfları, içerdikleri kırmızı stigmalar (Sargol-I ve Sargol-II) ve sarı stiluslar (Pushal-I, Pushal-II ve Bunch) bakımından farklılık göstermektedir. HPLC ile belirlenen toplam Krosin miktarı Sargol-I örneğinde en yüksek (66.67 mg / g) ve Bunch örneğinde en düşük (51.66 mg / g) olarak tespit edilmiştir. Safranın uçucu bileşenleri; GC-MS kullanılarak SPME yöntemi ile belirlenmiş, çalışmada 3 farklı fiber (PA, PDMS ve CAR / PDMS) kullanılarak 40 uçucu bileşik tespit edilmiştir. Safranın ana uçucu bileşiği olan Safranal; Sargol-I, Sargol-II, Pushal-I, Pushal-II ve Bunch kategori örneklerinde sırasıyla % 49.64, % 50.29, % 50.42, % 57.02 ve % 61.31 olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Safran (*Crocus Sativus* L.); Katı faz mikro ekstraksiyon (SPME); GC-MS; HPLC

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ feramuz@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 2434

☎ (+90) 242 310 6306



## INTRODUCTION

Saffron, obtained from dried stigmas of *Crocus sativus* L. flowers, is widely used as a food colouring and flavouring spice (Negbi, 1997; García-Rodríguez et al., 2017). As it needs specific climatic conditions for growing and skilled labour for harvesting of flowers, it is one of the most expensive spices. Recently, due to the strong flavour and colouring properties of saffron, its consumption has increased with decreasing interest in synthetic food colourants, flavour and aroma agents (Shahi et al., 2016; Anastasaki et al., 2010). The most important saffron-producing countries are Iran, Greece, Morocco, Spain, Italy and India. Among these countries, Iran has special importance, with 240 tonnes of saffron production per year (Shahi et al., 2016; Velasco-Negueruela, 2001; Pitsikas, 2016). As a matter of fact, 1 kg of dried saffron is obtained from about 80 kg fresh flower (Gracia et al., 2009; Husaini et al., 2009; Shahi et al., 2016).

Chemical analysis has shown more than 150 compounds have been extracted from saffron stigmas. These are lipophilic and hydrophilic carbohydrates (63 %), proteins (12 %), amino acids, minerals (5 %) (Ca, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, K, Na, Zn and Mn), mucilage, starch, gums, vitamins (especially riboflavin and thiamine), pigments (crocin,  $\alpha$  and  $\beta$  carotenes, mangicrocin, xanthonecarotenoid glycosidic conjugate, anthocyanin, lycopene, flavonoids and zeaxanthin), alkaloids, saponins, safranal (aromatic essence terpene) and picrocrocin (bitter flavor) together with other chemical compounds (Negbi, 1997; Melnyk et al., 2010; Shahi et al., 2016).

The compound responsible for the colour of saffron is *cis* and *trans* crocins (Caballero-Ortega et al., 2007; D'Archivio et al., 2016; Tarantilis et al., 1995). The molecular formula of crocin is C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub> (Velasco-Negueruela, 2001). Crocins are glucosyl esters of 8,8'-diapocarotene-8,8'-dioic acid (crocetin) and water-soluble carotenoids (Hadizadeh, 2010; Pitsikas, 2016; Carmona et al., 2007).  $\alpha$ -Crocins (digentiobioside crocetin), crocin-2 (tricrocin or gentioglucoside crocetin), crocin-3 (entiobioside crocetin), crocin-4 (glucoside crocetin), crocin-5 (diglucoside

crocetin) are stable under ambient conditions (Christodoulou et al., 2015). Besides its colour, the other features that affect saffron's quality are its taste and aroma. Picrocrocin (C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>), one of the important compound of saffron giving bitterness, turns into 4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-carboxaldehyde-1-cyclohexene (HTTC) due to acid, alkali, heat and enzyme effects and HTTC turns into safranal (2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde) which is the main compound of saffron's volatile oil and responsible for saffron's aroma (more than 60% of the essential oil) (Zougagh et al., 2006; Kiani et al., 2018).

Saffron contains more than 160 volatile and aroma compounds (terpenes, terpene alcohol and their esters). Safranal comprises approximately 0.001-0.006% of saffron dry matter (Shahi et al., 2018). The other saffron volatile constituents are 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexene-1-one (isophorone), 3,5,5-trimethyl-3-cyclohexene-1-one (an isomer of isophorone), 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione (4-ketoisophorone), 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione and 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,2,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione, and 2-hydroxy-4,4,6-trimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one (Kanakakis et al., 2004; Urbani et al., 2015; Amanpour et al., 2015).

In fact, the freshly picked stigmas are nearly odourless, so the typical saffron flavour being developed especially during the drying process. Briefly, all these compounds responsible for saffron's colour, aroma and taste are found intensively in its stigmas (Velasco-Negueruela, 2001; Amanpour et al., 2015). These compounds lose their nature when exposed to light, heat and oxygen during storage (Rajabi et al., 2015). The result of volatile components determined with GC-MS technique has shown components such as 4,4-dimethyl-2-cyclopenten-1-one, heptanal,  $\alpha$ -Pinene, 1-carboxaldehyde-5,5-dimethyl-2-methylene-3-cyclohexene,  $\alpha$ -Isophorane, eucarvone, tetradecanic acid, hexadecanoic acid, 10,13-octadecadienoic acid, methyl ester, 4,8,1,16-tetramethylheptadecan-4-olide and other

components in low quantities (Sereshti et al., 2014)

Saffron quality, determined by its taste, aroma and colour, depends on its geographical origin, harvesting time (Condursa et al., 2017; Karabagias et al., 2017) and post-harvest treatment such as handling, corm size/weight, corm rate, planting depth, crop density, nutrient type and fertilisation management, weed management, dehydration process and storage conditions (Anastasaki et al., 2010; Rabani-Foroutagheh et al., 2014).

It is clear that, since saffron is a very rare and expensive spice, it is open to adulteration. In order to prevent adulteration and categorise saffron according to its quality, the International Standards Organization (ISO) published a standard ISO-3632 (2011) according to which saffron is categorised in regard to its physical and chemical characteristics. With regard to this standardisation, the limitations of the compounds used in this categorisation, which determine the quality of saffron in terms of colouring strength, flavour strength and aroma strength, have been specified with a spectrophotometric measurement technique by the ISO-3632 (2011). With this technique, it has been declared that the absorbance rate of 1% aqueous solution of saffron at 257 nm for flavour strength must be 70 (Category I), 55 (Category II) and 40 (Category III). It has also been stated that the colouring strength of %1 aqueous solution of saffron at 440 nm must be 200 for Category I, 170 for Category II and 120 for Category III. At the same time, it has been stated that the absorbance grade of the same solution at 330 nm for aroma strength must be between 20 and 50 for all categories.

Numerous works have been performed with different techniques and reported in the literature on saffron quality characteristics depending on origin, drying conditions (Gregory and Menary, 2007) and storage period. But there are few studies focused on the physicochemical properties of different quality Iranian saffron (Anastasaki, et al., 2010; Zougagh et al., 2006; Maggi et al., 2010; Alonso et al., 1996; Anastasaki

et al., 2009; Carmona et al., 2006a; D'Auria et al., 2004; Maggi et al., 2009; Masuda et al., 2012; Rödel & Petrzika, 1991; Sarma et al., 1991; Sereshti et al., 2014; Tarantilis & Polissiou, 1997).

In market, it is possible to find different qualities saffron and of course adulterations and similar stigmas from other plants. Generally, saffron has marketed in different quality categories (sargol, pushals and bunch) according to stigma and style mass proportion of the product. In high quality saffron, only the red part of stigma, which is the end of the stigmas, was used. To our best knowledge, there is no study on volatile constituents of Iranian saffron with regard to commercial categorization. Therefore, in this study, saffron samples were sampled according to the ISO categorization of Iranian saffron and some chemical properties (volatile constituents and crocin content) were determined.

## MATERIALS AND METHODS

### Saffron materials

In this study, different saffron samples from *Crocus sativus* L. marketed in Iran as different quality categories (Sargol-I, Sargol-II, Pushal-I, Pushal-II and Bunch) were used (Figure 1). The samples were provided directly from the commercial producer with a guarantee of freedom from adulteration and were stored at 4 °C in the dark until analysis. The categories of saffron samples differ in red threads (Sargol-I and Sargol-II) and threads with yellow styles (Pushal-I, Pushal-II and Bunch). Sargol saffron consists of only the red part of the stigma. This category of saffron has a strong colouring property. Pushal saffron is longer than Sargol saffron and contains stigmas with styles (Figure 2) (Heidarbeigi et al., 2015). This kind of saffron has a lower colour strength compared to Sargol saffron. In this study, we chose different Sargol (S-I, S-II) and Pushal (P-I, P-II) saffron samples. Bunch consisted completely of stigmas and styles.

### Determination of flavour and colouring strength of saffron samples

Saffron samples were analysed according to ISO/International Technical Standard TS 3632 (2011) to identify the quality category of the

samples dependent on flavour and colouring strength. For this purpose, the absorbance of 1% aqueous solution of dried saffron samples was measured at 257 and 440 nm wavelength. Even though this method is also suggested to determine aroma strength, it was not preferred since it was stated in other studies that presented safranal in

aqueous solution could interfere with absorbance of crocetin esters (mainly cis-isomers) at suggested wavelength of 330 nm in ISO 3632 (2011) spectrophotometric measurement technique (García-Rodríguez et al., 2017; Hadizadeh et al., 2006; Carmona et al., 2006b).



Figure 1. Saffron samples of different quality categories, which were used in the study (A. S-I, B. S-II, C. P-I, D. P-II and E. Bunch).

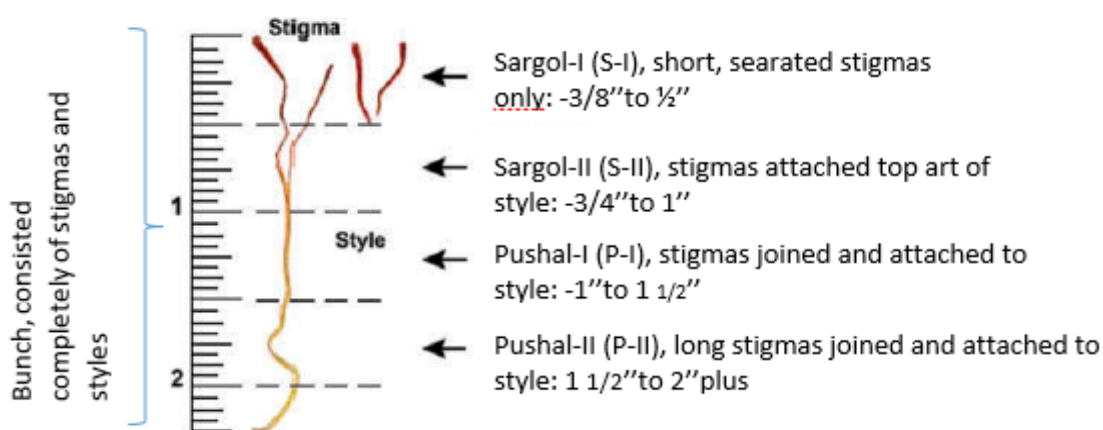


Figure 2. Saffron stigmas with yellow style (Heidarbeigi et al., 2015).

#### Determination of moisture content

Moisture content of the saffron samples was determined according to ISO-3632 (2011).

#### Extraction of crocins

The profile of the colour components of the samples was determined with HPLC by partial modification of the technique performed by Masi et al (2016) and Caballero-Ortega et al (2007). According to this techniques,  $0.050 \pm 0.001$  g ground saffron sample was weighed, and then 10 mL methanol:water mixture (50:50) was added and the solution was kept on a magnetic mixer at 4 °C in the dark for 24 h. After that, the acquired extract was transferred into a 15 mL centrifugal

tube and centrifuged at 20,000 g at 4 °C for 20 min. At the end of this process, after taking 2.5 mL from the obtained top phase, 2.5 mL internal standard (2-nitroaniline) was added, the mixture was transferred into a 25 mL volumetric flask which was then filled with a mixture of methanol:water (50:50).

#### Evaluation of crocin compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Evaluation of crocin compounds were analysed by a HPLC (Shimadzu UV-vis 160A) system with a Spherisorb RP ODS-3 (4.6 × 250 mm) column. A, linear gradient of methanol (100) and B, linear

acetonitrile: water (15:85) were used as the mobile phases with a flow rate of 1.0 mL/min for a maximum elution time of 60 min at room temperature and 20  $\mu$ L injection. The acquired extract was filtered through a 0.45  $\mu$ m filter, transferred to colourful vials and subjected to HPLC under the conditions described below. The injections were done in parallel. Picrocrocine, HTCC, internal standard and camphor oil were scanned at 257 nm, safranal was scanned at 330 nm and crocins were scanned at 440 nm. The acquired rates were transformed to mg/g safranal by the curve generated with the safranal standard.

#### **Extraction of volatiles by solid phase microextraction (SPME)**

A solid phase microextraction (SPME) technique, by fibers with different polarities, 85 $\mu$ m-polyacrylate (PA), 100 $\mu$ m-polydimethylsiloxane (PDMS) and 75 $\mu$ m-carboxenpolydimethylsiloxane (CAR/PDMS), were used to extract the volatile compounds of saffron according to the method reported by D'Auria et al (2006) and Urbani et al (2015). For this purpose, 0.1 g ground saffron sample was weighed into a 20 mL headspace vial, and a Teflon-lined septum was immediately sealed with an aluminium crimp seal. The fibre was maintained over the sample in a vial at 36 °C for 20 min.

#### **Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis**

The volatile constituents of saffron were performed with a GC-MS system (Shimadzu QP2010 Plus) equipped with a TRB-5MS (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m) column. Helium was used as carrier gas at 0.8 mL/min and the injection was splitless at 250 °C. The oven temperature was programmed as follows: held at 50 °C for 2 min; then the temperature was raised to 200 °C (3 °C/min, held for 10 min). The ion trap conditions were as follows: transfer line temperature 200 °C, trap temperature 250 °C, scan range 35–450 amu (3 microscans/scan).

#### **Identification of volatile compounds**

An alkane standard (C<sub>7</sub>–C<sub>40</sub>) was used to determine the retention index (RI) of each

compound. Identification of the volatile compounds was attempted using the mass spectral libraries of Wiley 7 and NIST 02 (2017). They were also confirmed by comparing RI and mass spectra with an online literature library (2017).

#### **Statistical analysis**

All assays were conducted on duplicate samples of homogenates (n=4). Analysis was conducted using the SAS software (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA). When main effects or interactions were significant, Duncan's multiple range test was used.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Determination of the quality category of saffron samples**

As a result of the analysis, it was found that the colouration ability of 1% aqueous solution of saffron at 440 nm for S-I sample was 244.32, S-II sample 137, P-I sample 126.75, P-II sample 123.50 and Bunch sample 103.75. The absorbance grade of the same solution at 257 nm for flavour strength of the S-I sample was 80, S-II sample 46.2, P-I sample, 43.6 P-II sample 42 and Bunch sample 39.3. As a result of these obtained data, the S-I sample was identified as Category I, S-II, P-I and P-II were Category III. On the other hand, the Bunch sample cannot be categorized due to its too low colouration ability and flavour strength. The lower colouration ability and flavour strength of Bunch sample may be related to both high style content of and excessive drying. The moisture and safranal results, presented below, also verifies excessive drying of this sample.

### **Moisture content of saffron samples**

The moisture content of S-I, S-II, P-I, P-II and Bunch samples were determined as 7.18%, 7.22%, 7.41%, 7.35% and 4.64%, respectively. The results showed that all samples of saffron, except for the Bunch sample, had a very similar moisture content of around 7%, with the Bunch sample at around 4%. According to the ISO 3632 (2011) saffron standard, the moisture content of saffron must be a maximum of 12%. In this regard, the saffron samples used in this research correspond

to the standard. According to the results, the moisture content of the Bunch sample differs from the other samples ( $p < 0.05$ ). This difference makes us think that the Bunch sample was exposed to a higher heat and/or longer drying process, although the supplying firm declared that all samples were exposed to equal drying processes.

### Profile of the crocin components of saffron samples

The component amounts of saffron samples determined by HPLC are given in Table 1; the chromatograms for the components are depicted

in Appendices 1–5. Each component was identified by comparing its retention period with that stated in the literature. When the results are examined, it can be seen that the components forming the total crocin that gives its colour to the saffron (picrocrocin, trans-crocin 3, trans-crocin 2, trans-crocin 2', cis-crocin 2 and cis-crocin 4) diminished at a significant level ( $p < 0.01$ ), except for trans-crocin 4. The highest crocin amount was found in the S-I sample (66.67 mg/g) and the lowest in the Bunch sample (51.66 mg/g). It can be seen in Table 1 that the most crucial crocin isomers are trans-crocin 3 and trans-crocin 4.

Table 1. Duncan's multiple range test results for the averages of identified components (HPLC)

Component	Class				
	S-I	S-II	P-I	P-II	Bunch
Picrocrocin	5.21 <sup>a</sup> ± 0.00	4.99 <sup>b</sup> ± 0.00	4.59 <sup>c</sup> ± 0.00	4.49 <sup>d</sup> ± 0.00	3.01 <sup>e</sup> ± 0.00
HTCC	0.13 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.00
3-Gentiobiosy-kaempferol	0.20 ± 0.04	0.24 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.20 ± 0.00	0.20 ± 0.00
Safranal	0.65 ± 0.00	0.70 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.80 ± 0.00	1.06 ± 0.00
Trans-crocin 4	35.93 <sup>a</sup> ± 0.02	34.56 <sup>b</sup> ± 0.01	32.54 <sup>c</sup> ± 0.12	30.08 <sup>d</sup> ± 0.02	29.50 <sup>e</sup> ± 2.21
Trans-crocin 3	23.66 <sup>a</sup> ± 0.01	23.06 <sup>a</sup> ± 0.41	21.50 <sup>ab</sup> ± 0.08	19.02 <sup>b</sup> ± 0.00	18.86 <sup>b</sup> ± 0.40
Trans-crocin 2'	1.10 <sup>a</sup> ± 0.00	1.07 <sup>b</sup> ± 0.00	0.88 <sup>c</sup> ± 0.00	0.72 <sup>d</sup> ± 0.00	0.46 <sup>d</sup> ± 0.00
Cis-crocin 4	4.64 <sup>a</sup> ± 0.00	4.08 <sup>b</sup> ± 0.00	3.30 <sup>c</sup> ± 0.00	2.70 <sup>d</sup> ± 0.00	1.52 <sup>e</sup> ± 0.00
Trans-crocin 2	1.20 <sup>a</sup> ± 0.00	1.19 <sup>b</sup> ± 0.00	1.19 <sup>b</sup> ± 0.00	1.170 <sup>c</sup> ± 0.00	1.15 <sup>d</sup> ± 0.00
Cis-crocin 2	0.14 <sup>b</sup> ± 0.01	0.16 <sup>ab</sup> ± 0.00	0.15 <sup>b</sup> ± 0.00	0.18 <sup>a</sup> ± 0.010	0.17 <sup>ab</sup> ± 0.00
Total	72.86 <sup>a</sup> ± 0.08	70.19 <sup>ab</sup> ± 0.44	65.26 <sup>ab</sup> ± 0.22	59.51 <sup>ab</sup> ± 0.12	57.18 <sup>c</sup> ± 2.61

Values within a line with different superscript letters are significantly ( $P < 0.01$ ) different.

When Table 1 is examined, the amount of picrocrocin, which gives the taste of bitterness to saffron, significantly diminishes ( $p < 0.01$ ) from the S-I sample (5.21 mg/g) to the Bunch sample (3.01 mg/g) depending upon the categorisation. As a matter of fact, not only the colour components (crocin), but also the amount of picrocrocin is one of the criteria assessed in categorisation (Velasco-Negueruela, 2001).

The broad range of values is reported by different researchers for saffron components such as crocin, picrocrocin and safranal from country to country. According to the some studies' results, crocins ranged between 0.85- 32.4 %, picrocrocin

ranged between 0.79- 12.94 % and the safranal values range between 1.07- 6.15 % on a dry weight basis. Different drying methods, storage and extraction conditions of saffron degrade these compounds and the degree of degradation depends on temperature, humidity, light irradiation and other compounds in the environment (Lage and Cantrell, 2009).

### Volatile compounds of saffron samples

To determine the best fiber properties, volatile compounds of S-I saffron sample determined with 3 different fibers with different polarities by GC-MS. Result shows that; 14, 34, 32 compounds were identified by PA, PDMS and CAR/PDMS,

respectively. The volatile compounds of S-I samples with 3 different fibers are shown in Table 2. It can be seen in that the acetic acid, 2(5H)-furanone, isophorone, 4-ketoisophorone, 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione, safranal, HTCC

were the main volatile compounds detected in all tested fibers (Figure 3). Since PDMS fiber yielded higher number of volatile compounds, it was also used in the analysis of other saffron samples.

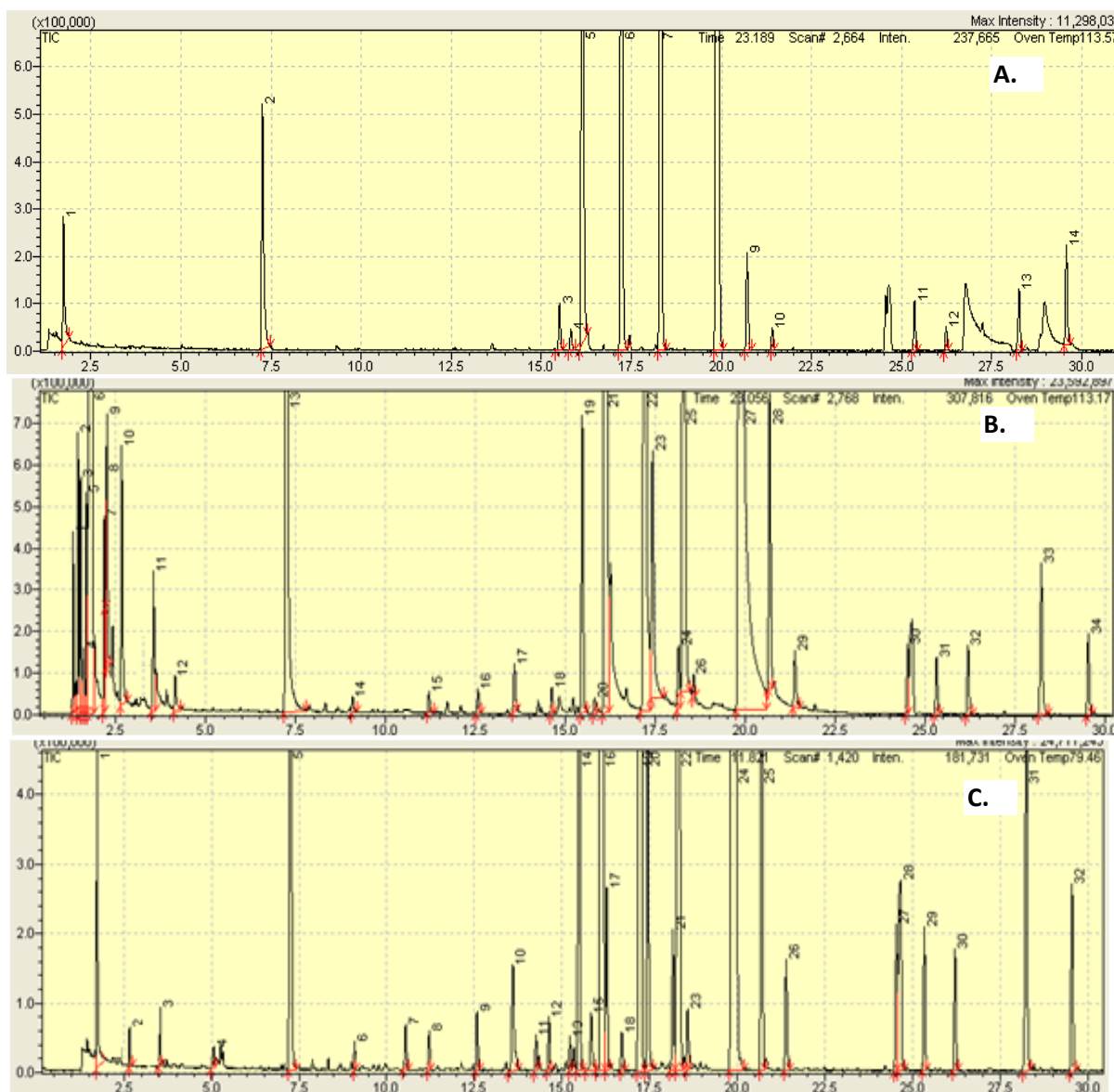


Figure 3. GC-MS fingerprint chromatograms of saffron samples (S-I) (A:PA, B:PDMS, C:CAR/PDMS).

Table 2. A solid phase microextraction (SPME) technique was used to extract the aroma components of S-I saffron sample with 3 different fibers (PA, PDMS and CAR/PDMS) by GC-MS ( $X \pm SE$ ).

No	RI	Chemical name	Fibers					
			PA		PDMS		CAR-PDMS	
			R <sub>T</sub>	Area (%)	R <sub>T</sub>	Area (%)	R <sub>T</sub>	Area (%)
1	629	Ethanol	-	-	1.443	0.44 ± 0.05	-	-
2	633	Undefined	-	-	1.513	0.48 ± 0.09	-	-
3	638	Undefined	-	-	1.591	0.15 ± 0.54	-	-
4	643	2-Methylpropanal	-	-	1.678	0.37 ± 0.58	-	-
5	653	Acetic acid	1.743	1.11 ± 0.06	1.84	9.49 ± 0.25	1.737	0.42 ± 0.06
6	674	3-Methylbutanal	-	-	2.172	0.34 ± 0.54	-	-
7	677	2-Methylbutanal	-	-	2.215	0.18 ± 0.09	-	-
8	678	3-Methyl-2-butanone	-	-	2.246	0.47 ± 0.10	-	-
9	704	Acetoin	-	-	2.657	0.52 ± 0.09	2.664	0.04 ± 0.01
10	760	1-Pentanol	-	-	3.542	0.34 ± 0.65	3.542	0.05 ± 0.01
11	797	Hexanal	-	-	4.144	0.11 ± 0.79	-	-
12	831	Isovaleric acid	-	-	-	-	5.066	0.04 ± 0.02
13	906	2(5H)-Furanone	7.265	2.73 ± 0.09	7.258	3.46 ± 0.25	7.259	1.84 ± 0.07
14	953	Octanal	-	-	9.08	0.04 ± 0.14	9.088	0.04 ± 0.03
15	990	Benzaldehyde	-	-	-	-	10.542	0.07 ± 0.01
16	1006	β-Phellandrene	-	-	11.199	0.06 ± 0.64	11.215	0.06 ± 0.01
17	1036	6-Methyl-5-hepten-2-one	-	-	12.56	0.07 ± 0.24	12.576	0.09 ± 0.01
18	1059	β-Phorone	-	-	13.581	0.15 ± 0.37	13.599	0.27 ± 0.07
19	1074	Undefined	-	-	-	-	14.258	0.06 ± 0.01
20	1082	Undefined	-	-	14.619	-	14.636	0.09 ± 0.00
21	1095	Isophorone isomer	-	-	-	-	15.231	10.05 ± 0.02
22	1101	Linalol	15.508	0.42 ± 0.53	15.466	0.87 ± 0.65	15.485	1.17 ± 0.02
23	1108	5-Methylfurfural	15.82	0.21 ± 0.07	15.811	0.06 ± 0.58	15.84	0.12 ± 0.54
24	1115	Isophorone	16.133	11.48 ± 0.67	16.118	8.20 ± 0.03	16.151	14.95 ± 0.03
25	1118	2-Hydroxy-isophorone	-	-	-	-	16.279	0.31 ± 0.05
26	1127	1,3,3-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane-2,5-dione	-	-	-	-	16.712	0.07 ± 0.09
27	1138	4-Ketoisophorone	17.255	10.66 ± 0.08	17.206	8.72 ± 0.03	17.241	10.52 ± 0.12
28	1142	2-hydroxy-4,4,6-trimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one	-	-	17.418	0.96 ± 0.68	17.445	0.68 ± 0.56
29	1158	Undefined	-	-	18.143	0.22 ± 0.17	18.166	0.26 ± 0.56
30	1161	2,6,6-Trimethyl-1,4-cyclohexanedione	18.311	8.35 ± 0.08	18.287	4.90 ± 0.24	18.328	7.51 ± 0.37
31	1167	2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	-	-	18.557	0.06 ± 0.64	18.583	0.12 ± 0.12
32	1196	Safranal	19.894	59.32 ± 0.07	19.914	49.64 ± 0.29	19.958	55.51 ± 0.07
33	1213	Eucarvone	20.714	0.93 ± 0.41	20.675	0.91 ± 0.03	20.701	1.00 ± 0.06
34	1228	3,5,5-Trimethyl-2-hydroxy-1,4-cyclohexadione-2-ene	21.411	0.2 ± 0.54	21.377	0.20 ± 0.43	21.401	0.21 ± 0.14
35	1297	Undefined	-	-	24.512	0.21 ± 0.06	24.538	0.27 ± 0.68
36	1301	Undefined	-	-	-	-	24.657	0.59 ± 0.45
37	1316	3,5,5-Trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene	25.357	0.44 ± 0.65	25.317	0.18 ± 0.71	25.339	0.26 ± 0.84
38	1336	Undefined	26.229	0.22 ± 0.06	26.187	0.21 ± 0.06	26.212	0.22 ± 0.24
39	1383	2,4,4-Trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one	28.26	0.63 ± 0.05	28.223	0.54 ± 0.08	28.25	0.76 ± 0.31
40	1414	HTCC	29.572	1.01 ± 0.07	29.532	0.25 ± 0.02	0.76	0.35 ± 0.60

RI: retention index; R<sub>T</sub>: retention time

According to the obtained results, 39 different volatile compounds were detected saffron samples (Table 3). Acetic acid, 2-(5H)-furanone, isophorone, 4-ketoisophorone, 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione and safranal were the main volatile compounds detected in all saffron categories. Similarly, safranal has been determined as the main volatile compound of saffron in previous studies (Urbani et al., 2015; Maggi et al., 2009; D'Auria et al., 2006; del Campo et al., 2009; Amanpour et al., 2015). The safranal amount in the Bunch sample was found as the highest and quite different from the other categories of saffron. This diversity and high amount is thought

to related to excessive drying of this sample. It was stated in a study by Carmona et al. (2006a) that the amount of safranal in saffron increases depending on the increase of drying temperature at practices higher than 90°C. They hypothesized that picrocrocin turns into safranal at high temperature. The same researchers also stated that the amounts isophorone and 2,6,6-trimethyl-1,4cyclohexanedione increased at high drying temperatures. In present study, it was determined that the Bunch sample also had large amounts of these compounds. Moreover, high content of 2(5H)-Furanone in Bunch sample shows the higher non-enzymatic browning of these sample.

Table 3. Composition of saffron sample aroma components (X ± SE)

No	RI	R <sub>T</sub>	Chemical name	Area (%)				
				S-I	S-II	P-I	P-II	Bunch
1	625	1.4	Undefined	-	0.07 ± 0.45	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.04	0.10 ± 0.01
2	629	1.443	Ethanol	0.44 ± 0.24	0.35 ± 0.24	0.27 ± 0.22	0.43 ± 0.27	0.12 ± 0.29
3	633	1.513	Undefined	0.48 ± 0.30	0.68 ± 0.35	0.74 ± 0.32	0.66 ± 0.30	0.66 ± 0.24
4	638	1.591	Undefined	0.15 ± 0.07	0.24 ± 0.07	0.25 ± 0.07	0.24 ± 0.06	0.14 ± 0.07
5	643	1.678	2-Methylpropanal	0.37 ± 0.01	0.42 ± 0.12	0.67 ± 0.17	0.41 ± 0.01	0.51 ± 0.03
6	653	1.840	Acetic acid	9.49 ± 0.25	7.05 ± 0.28	6.82 ± 0.27	7.70 ± 0.06	5.63 ± 0.20
7	659	1.925	Undefined	-	0.03 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.05 ± 0.01
8	674	2.172	3-Methylbutanal	0.34 ± 0.05	0.39 ± 0.31	0.46 ± 0.04	0.30 ± 0.05	0.44 ± 0.05
9	677	2.215	2-Methylbutanal	0.18 ± 0.01	0.81 ± 0.11	0.26 ± 0.12	0.23 ± 0.31	0.16 ± 0.12
10	678	2.246	3-Methyl-2-butanone	0.47 ± 0.19	0.64 ± 0.25	0.76 ± 0.18	0.58 ± 0.57	0.68 ± 0.16
11	690	2.425	Undefined	-	-	0.35 ± 0.17	-	0.17 ± 0.38
12	704	2.657	Acetoin	0.52 ± 0.32	1.15 ± 0.16	0.97 ± 0.24	0.69 ± 0.38	1.20 ± 0.04
13	760	3.542	1-Pentanol	0.34 ± 0.06	0.18 ± 0.05	0.45 ± 0.06	0.93 ± 0.06	0.26 ± 0.06
14	766	3.65	Undefined	-	-	0.23 ± 0.01	-	0.25 ± 0.01
15	783	3.913	Undefined	-	-	-	-	0.12 ± 0.01
16	797	4.144	Hexanal	0.11 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.20 ± 0.00	-	0.14 ± 0.00
17	906	7.258	2(5H)-Furanone	3.46 ± 0.02	3.76 ± 0.06	4.09 ± 0.09	4.34 ± 0.07	8.67 ± 0.07
18	953	9.080	Octanal	0.04 ± 0.00	-	-	-	-
19	1006	11.199	β-Phellandrene	0.06 ± 0.01	-	-	-	0.23 ± 0.02
20	1036	12.56	6-Methyl-5-hepten-2-one	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.03
21	1059	13.581	β-Phorone	0.15 ± 0.02	0.19 ± 0.07	0.23 ± 0.09	0.19 ± 0.06	-
22	1101	15.466	Linalol	0.87 ± 0.05	0.81 ± 0.03	0.86 ± 0.07	1.17 ± 0.04	1.18 ± 0.043
23	1108	15.811	5-Methylfurfural	0.06 ± 0.00	0.06 ± 0.00	-	-	-
24	1115	16.118	Isophorone	8.20 ± 0.03	10.22 ± 0.07	12.32 ± 0.07	12.51 ± 0.26	13.52 ± 0.07
25	1119	16.333	2-Hydroxy-isophorone	-	-	-	-	0.21 ± 0.02
26	1138	17.206	4-Ketoisophorone	8.72 ± 0.21	9.19 ± 0.41	10.39 ± 0.21	10.53 ± 0.34	15.98 ± 0.12



Table 3. Continued

No	RI	R <sub>T</sub>	Chemical name	Area (%)				
				S-I	S-II	P-I	P-II	Bunch
27	1142	17.418	2-hydroxy-4,4,6-trimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one	0.96 ± 0.06	1.02 ± 0.04	0.48 ± 0.19	0.82 ± 0.43	0.66 ± 0.54
28	1151	17.821	Undefined	-	-	-	-	0.19 ± 0.34
29	1158	18.143	Undefined	0.22 ± 0.21	0.32 ± 0.53	0.19 ± 0.67	0.19 ± 0.23	0.09 ± 0.76
30	1161	18.287	2,6,6-Trimethyl-1,4-cyclohexanedione	4.9 ± 0.04	4.92 ± 0.04	4.99 ± 0.23	5.19 ± 0.12	7.23 ± 0.02
31	1167	18.557	Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	0.06 ± 0.01	-	0.10 ± 0.01	-	0.07 ± 0.01
32	1196	19.914	Safranal	49.64 ± 0.29	50.29 ± 0.38	50.42 ± 0.26	57.02 ± 0.66	61.31 ± 0.25
33	1213	20.675	Eucarvone	0.91 ± 0.11	0.73 ± 0.15	0.51 ± 0.24	1.04 ± 0.25	0.53 ± 0.35
34	1228	21.377	3,5,5-Trimethyl-2-hydroxy-1,4-cyclohexadione-2-ene	0.20 ± 0.01	-	0.10 ± 0.01	0.16 ± 0.01	-
35	1297	24.512	Undefined	0.21 ± 0.11	-	-	-	-
36	1316	25.317	3,5,5-Trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene	0.18 ± 0.06	-	0.07 ± 0.04	0.14 ± 0.06	0.06 ± 0.01
37	1336	26.187	Undefined	0.21 ± 0.32	0.25 ± 0.34	0.12 ± 0.23	0.27 ± 0.34	0.07 ± 0.01
38	1383	28.223	2,4,4-Trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one	0.54 ± 0.34	0.79 ± 0.25	0.57 ± 0.05	0.62 ± 0.04	0.21 ± 0.01
39	1414	29.532	HTCC	0.25 ± 0.07	0.31 ± 0.13	0.29 ± 0.11	0.27 ± 0.01	0.5 ± 0.02

RI: retention index; R<sub>T</sub>: retention time

Amanpour et al. (2015) were determined 4-ketoisophorone, dihydroxophorone and isophorone (ketones) in the Iranian saffron samples. Isophorone is formation occurred by a mechanism involving the degradation of zeaxanthin and it important in saffron to provide odour (Culleré et al., 2011; Amanpour et al., 2015). Two glycosides ((1R)-3,5,5-trimethyl-3-cyclohexen-1-ol O-β-D-glucopyranoside and of 4-hydroxy-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-one O-β-D-glucopyranoside) are, respectively, the possible precursors of β-isophorone and α-isophorone (Condurso et al., 2017). When Table 3 is examined, isophorone, 4-ketoisophorone, 2-

hydroxy-isophorone and 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione were detected in saffron samples and Bunch sample also had large amounts of these compounds.

In a study by Karabagias et al. (2017) a divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber 50/30 μm was used to extract headspace volatiles from saffron. They were determined aldehydes (2-Methyl-butanal, 3-Methyl-butanal, Hexanal, Heptanal, Octanal, 2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal, 2,4-Dimethyl-benzaldehyde, 2,4,5-Trimethyl-benzaldehyde) and terpenoids (α-phellandrene,

dL-limonene, 2-Hydroxy-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-one, 2,2,6-Trimethyl-1,4-cyclohexandione, 5-Hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one-2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde (2,4,4-Trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one)) as volatile compounds in Morocco, Greece, Spain and Iranian saffron samples.

In another study (Carmona et al. (2006a) analysing the volatile compounds of saffron with TD-GC-MS, determined acetic acid, linalool, 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexene-1 carboxaldehyde, isophorone, safranal and 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione compounds. D'Auria et al. (2004) determined 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione, 2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one, 3,5,5-trimethyl-1,4-cyclohexadione, 3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone-1-one, safranal, acetic acid, hexanal, 2(5H)-furanone, 3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene and 5,5-dimethyl-1-ethyl-1,3-cyclopentadiene  $\alpha$ -isophorone in Iranian saffron, in parallel with our study. Also,  $\alpha$ -isophorone,  $\beta$ -isophorone, safranal, ketoisophorone, HTCC, 2,4,4-trimethyl-3-carboxaldehyde-5-hydroxy-2,5-cyclohexadien-1-one, 3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-1-cyclohexanone-2-ene and eucarvone are essential volatile compounds of saffron as well as HTCC, mint furanone and n-hexadecanoic acid compounds (Urbani et al., 2015; Jalali-Heravi, et al., 2009; Jalali-Heravi et al., 2010). Concurso et al. (2017) determined 6-methyl-5-heptene-2-one as component in Italian, Spanish, and Moroccan saffron. This compound is derived from the carotenoids degradation.

In the present study, suitability of commercial Iranian saffron to ISO standard and the volatile compounds and some chemical properties of the samples was determined. According to the results, the S-I sample was identified as Category I while S-II, P-I and P-II were Category III. The Bunch sample did not categorized in any category and could not be marketed in International trade. The moisture values of saffrons except for the Bunch sample were determined as 7% but the moisture

value of the Bunch sample was determined as 4.64% and it is thought to have been exposed excessive drying. The total amount of the crocin component which gives saffron its characteristic colour was identified with HPLC as highest in the S-I sample (66.67 mg/g) and lowest in the Bunch sample (51.66 mg/g). This rate decreased in parallel with the decrease in quality and the amount of picrocrocin, which gives saffron its bitterness; the larger amount of it, which shows the high quality of saffron, decreased dramatically due to the classification when going from the S-I sample to the Bunch sample.

As a result of the volatile compounds analysis performed by GC-MS using the SPME method, in all the saffron samples, acetic acid, 2-(5H)-furanone, isophorone, 4-ketoisophorone, 2,6,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione, eucarvone and safranal were found as significant compounds with regard to percentage. The study showed that percentage amount of safranal increased by decreasing of saffron colouring quality.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Scientific Research Fund of Akdeniz University for a grant (Project Number: 2010.02.0121.036).

#### REFERENCES

- Alonso, G.L., Salinas, M.R., Esteban-Infantes, F.J., & Sánchez-Fernández, M.A. (1996). Determination of safranal from saffron (*Crocus sativus* L.) by thermal desorption-gas chromatography. *J Agric Food Chem*, 44(1): 185-8, <https://doi.org/10.1021/jf940665i>
- Anastasaki, E., Kanakis, C., Pappas, C., Maggi, L., del Campo, C.P., Carmona, M., Alonso, G.L., & Polissiou, M. (2009). Geographical differentiation of saffron by GC-MS/FID and chemometrics. *Eur Food Res and Technol*, 229(6): 899-905, <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1125-x>
- Anastasaki, E., Kanakis, C., Pappas, C., Maggi, L., Del Campo, C., Carmona, M., Alonso, G., & Polissiou, M. (2010). Differentiation of saffron from four countries by mid-infrared spectroscopy and multiFvariate analysis. *Eur Food Res and Technol*, 230: 571-7, <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1197-7>

- Amanpour, A., Sonmezdag, S., Kelebek, H., & Selli, S. (2015). GC–MS–olfactometric characterization of the most aroma-active components in a representative aromatic extract from Iranian saffron (*Crocus sativus* L.). *Food Chem*, 182: 251–256, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.005>
- Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R., & Abdullaev, F.I. (2007). HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chem*, 100 (3): 1126-31, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.020>
- Carmona, M., Zalacain, A., Salinas, M.R., & Alonso, G.L. (2006a). Generation of saffron volatiles by thermal carotenoid degradation. *J Agric Food Chem*, 54(18): 6825-34, <https://doi.org/10.1021/jf0612326>
- Carmona, M., Zalacain, A., Sánchez, A.M., Novella, J.L., & Alonso, G.L. (2006b). Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in *Crocus sativus* stigmas and *Gardenia jasminoides* fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS. *J Agric Food Chem*, 54: 973-979, <https://doi.org/10.1021/jf052297w>
- Carmona, M., Sánchez, A.M., Ferreres, F., Zalacain, A., Tomás-Barberán, F., & Alonso, G.L. (2007). Identification of the flavonoid fraction in saffron spice by LC/DAD/MS/MS: Comparative study of samples from different geographical origins. *Food Chem*, 100(2): 445-50, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.065>
- Christodoulou, E., Kadoglou, N.P., Kostomitsopoulos, N., Valsami, G. (2015). Saffron: a natural product with potential pharmaceutical applications. *J Pharm Pharmacol*, 67(12): 1634-1649, doi: 10.1111/jphp.12456
- Condurso, C., Cincotta, F., Tripodi, G., & Verzera, A. (2017). Bioactive volatiles in Sicilian (South Italy) saffron: safranal and its related compounds. *J of Essent Oil Res*, 29(3): 221-227, <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2016.1244115>
- Culleré, L., San-Juan, F., & Cacho, J. (2011). Characterisation of aroma active compounds of Spanish saffron by gas chromatography–olfactometry: Quantitative evaluation of the most relevant aromatic compounds. *Food Chem*, 127: 1866–1871, doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.015
- D'Archivio, A.A., Giannitto, A., Maggi, M.A., & Ruggieri, F. (2016). Geographical classification of Italian saffron (*Crocus sativus* L.) based on chemical constituents determined by high-performance liquid-chromatography and by using linear discriminant analysis. *Food Chem*, 212: 110-6, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.149>
- D'Auria, M., Mauriello, G., & Rana, G.L. (2004). Volatile organic compounds from saffron. *Flavour Fragr*, 19(1): 17-23, <https://doi.org/10.1002/ffj.1266>
- D'Auria, M., Mauriello, G., Racioppi, R., & Rana, G.L. (2006). Use of SPME-GC-MS in the study of time evolution of the constituents of saffron aroma: modifications of the composition during storage. *J Chromatogr Sci*, 44: 18-21.
- del Campo, C.P., Garde-Cerdán, T., Sánchez, A.M., Maggi, L., Carmona, M., & Alonso, G.L. (2009). Determination of free amino acids and ammonium ion in saffron (*Crocus sativus* L.) from different geographical origins. *Food Chem*, 114(4): 1542-8, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.034>
- Gregory, M.J., & Menary, R.C. (2007). Development of an Internationally Competitive Australian Saffron Industry. RIRDC Publication No 07/141
- Gracia, L., Perez-Vidal, C., & Gracia-López, C. (2009). Automated cutting system to obtain the stigmas of the saffron flower. *Biosystems Engineering*, 104(1): 8-17. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.06.003>
- García-Rodríguez, M.V., López-Córcoles, H., Alonso, G.L., Pappas, C.S., Polissiou, M.G., & Tarantilis, P.A. (2017). Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chem*, 221: 838-43,

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.089>

Hadizadeh, F., Mahdavi, M., Emami, S., Khashayarmanesh, Z., Hassanzadeh, M., Asili, J., Seifi, M., Nassirli, H., Shariatimoghadam, A., & Noorbakhsh, R. (2006). Evaluation of ISO method in saffron qualification. II International Symposium on Saffron Biology and Technology. II *International Symposium on Saffron Biology and Technology* 739. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.739.53>

Hadizadeh, F., Mohajeri, S.A., & Seifi, M. (2010). Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pak. J. Biol. Sci.*, 13 (14): 691-698

Heidarbeigi, K., Mohtasebi, S.S., Foroughirad, A., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Rafiee, S., & Rezaei, K. (2015). Detection of adulteration in saffron samples using electronic nose. *Int J Food Prop.*, 1391-1401, <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.915850>

Husaini, A. M., Wani, S. A., Sofi, P., Rather, A. G., Parray, G. A., Shikari, A. B., et al. (2009). Bioinformatics for saffron (*Crocus sativus* L.) improvement. *Communications in Biometry and Crop Science*, 4(1): 3-8.

ISO (2011). Saffron (*Crocus sativus* L.). <https://www.iso.org/standard/44526.html>. (Accessed: October 2017).

Jalali-Heravi, M., Parastar, H., & Ebrahimi-Najafabadi, H. (2009). Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. *J Chromatogr A*, 1216(33): 6088-97, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.06.067>

Jalali-Heravi, M., Parastar, H., Ebrahimi-Najafabadi, H. (2010). Self-modeling curve resolution techniques applied to comparative analysis of volatile components of Iranian saffron from different regions. *Anal Chim Acta*, 662(2): 143-54, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.01.013>

Kanakis, C.D., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., & Polissiou, M.G. (2004). Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-hydroxy-2, 6, 6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron. *J Agric Food Chem*, 52(14): 4515-4521, <https://doi.org/10.1021/jf049808j>

Karabagias, I.K., Koutsoumpou, M., Liakou, V., Kontakos, S., & Kontominas, M.G. (2017). Characterization and geographical discrimination of saffron from Greece, Spain, Iran, and Morocco based on volatile and bioactivity markers, using chemometrics. *Eur Food Res Technol*, 243(9): 1577-1591, <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2866-6>

Kiani, S., Minaei, S., & Ghasemi-Varnamkhasti, M. (2018). Instrumental approaches and innovative systems for saffron quality assessment. *J Food Eng.* 216: 1-10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.022>

Lage, M., & Cantrell, C. L. (2009). Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. *Scientia Horticulturae*, 12: 366e373, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.02.017>

Maggi, L., Carmona, M., del Campo, C.P., Kanakis, C.D., Anastasaki, E., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., & Alonso, G.L. (2009). Worldwide market screening of saffron volatile composition. *J Sci Food Agric*, 89(11): 1950-1954, <https://doi.org/10.1002/jsfa.3679>

Maggi, L., Carmona, M., Zalacain, A., Kanakis, C.D., Anastasaki, E., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., & Alonso, G.L. (2010). Changes in saffron volatile profile according to its storage time. *Food Res Int*, 43(5): 1329-34, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.03.025>

Masi, E., Taiti, C., Heimler, D., Vignolini, P., Romani, A., & Mancuso, S. (2016). PTR-TOF-MS and HPLC analysis in the characterization of saffron (*Crocus sativus* L.) from Italy and Iran. *Food Chem*, 192: 75-81, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.090>

- Masuda, A., Mori, K., & Miyazawa, M. (2012). Comparative analysis of volatile compounds from corms of *Crocus sativus* and *C. vernus*. *Chem Nat Compd*, 48(2): 319-321, <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0236-y>
- Melnyk, J. P., Wang, S., & Marcone, M. F. (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Res Int*, 43(8): 1981-1989, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.033>
- Negbi, M. (1997). Saffron cultivation: past, present and future prospects. In: M. Negbi (ed.), *Saffron: Crocus sativus L.*, CRC Press, pp. 8-9.
- Nist (2017) [webbook.nist.gov](http://webbook.nist.gov). [webbook.nist.gov/chemistry/2017](http://webbook.nist.gov/chemistry/2017). (Accessed: October 2017).
- Shahi, T., Assadpour, E., & Jafari J.M. (2016). Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of 'red gold'; saffron. *Trends Food Sci & Tech*, 58: 69-78, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.010>
- Pitsikas, N. (2016). Constituents of Saffron (*Crocus sativus L.*) as Potential Candidates for the Treatment of Anxiety Disorders and Schizophrenia. *Molecules*, 21(3): 303, <https://doi.org/10.3390/molecules21030303>.
- Rabani-Foroutagheh, M., Hamidoghli, Y., & Mohajeri, S.A. (2014). Effect of split foliar fertilisation on the quality and quantity of active constituents in saffron (*Crocus sativus L.*). *J Sci Food Agric*, 94: 1872-8, <https://doi.org/10.1002/jsfa.6506>
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocoll*, 51: 327-37, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.033>
- Rödel, W., & Petrzika, M. (1991). Analysis of the volatile components of saffron. *J High Resolut Chromatogr*, 14(11): 771-774, <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240141118>
- Sarma, K., Sharada, K., Maesato, K., Hara, T., & Sonoda, Y. (1991). Chemical and sensory analysis of saffron produced through tissue cultures of *Crocus sativus*. *Plant cell tiss org*, 26(1): 11-6.
- Sereshti, H., Heidari, R., & Samadi, S. (2014). Determination of volatile components of saffron by optimised ultrasound-assisted extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chem*, 143: 499-505, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.024>
- Shahi, T., Assadpour, E., & Jafari, S.M. (2016). Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of 'red gold'; saffron. *Trends Food Sci Technol*, 58, 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.010>
- Tarantilis, P.A., Tsoupras, G., & Polissiou, M. (1995). Determination of saffron (*Crocus sativus L.*) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 699(1-2): 107-18, [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00044-N](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00044-N)
- Tarantilis, P.A., & Polissiou, M.G. (1997). Isolation and identification of the aroma components from saffron (*Crocus sativus*). *J Agric Food Chem*, 45(2): 459-62, <https://doi.org/10.1021/jf960105e>
- Urbani, E., Blasi, F., Chiesi, C., Maurizi, A., & Cossignani, L. (2015). Characterization of volatile fraction of saffron from central Italy (Cascia, Umbria). *Int J Food Prop*, 18: 2223-30, <https://doi.org/10.1080/10942912.2014.968787>
- Velasco-Negueruela, A. (2001). Saffron. In: K.V. Peter (Ed), *Handbook of herbs and spices*, Cambridge England: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, pp. 276-284.
- Zougagh, M., Ríos, A., & Valcárcel, M. (2006). Determination of total safranal by in situ acid hydrolysis in supercritical fluid media: Application to the quality control of commercial saffron. *Anal Chim Acta*, 578 (2): 117-21, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.064>

## **AZ YAĞLI KAŞAR PEYNİRİ ÜRETİMİNDE EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETEN KÜLTÜR KULLANIMI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA\***

**Ebru Şanlı<sup>1</sup>, Asuman Gürsel<sup>2</sup>, Tuba Şanlı<sup>\*\*2</sup>, Filiz Yıldız<sup>3</sup>, Mehlika Benli<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı, Referans Gıda Laboratuvarı, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

<sup>3</sup>Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Aydın

<sup>4</sup>Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

Geliş / Received: 19.01.2018; Kabul / Accepted: 25.03.2018; Online baskı / Published online: 18.05.2018

Şanlı, E., Gürsel, A., Şanlı, T., Yıldız, F., Benli, M. (2018). Az yağlı Kaşar peyniri üretiminde ekzopolisakkarit üreten kültür kullanımı üzerine bir araştırma. GIDA (2018) 43 (3): 490-500 doi: 10.15237/gida.GD18019

Şanlı, E., Gürsel, A., Şanlı, T., Yıldız, F., Benli, M. (2018). A study on using exopolysaccharide-producing culture in low fat Kasar cheese. GIDA (2018) 43 43 (3): 490-500 doi: 10.15237/gida.GD18019

### **ÖZ**

Bu çalışmada, ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip (EPS<sup>+</sup>) bakterileri içeren starter kültürün az yağlı Kaşar peynirinin bazı nitelikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, EPS<sup>+</sup> kültürün %0.5 ve 1.0 oranlarında kullanılarak üretildiği kurumaddede %20 yağ içeren EPS<sup>+</sup>0.5 ve EPS<sup>+</sup>1.0, kurumaddede %20 yağ içeren kontrol (K20) ve kurumaddede %40 yağ içeren kontrol (K40) olmak üzere toplam 4 peynir örneği üretilmiştir. Örnekler 4±1°C'de 90 gün süreyle olgunlaşmaya bırakılmış ve olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde kimyasal, fiziksel, duyu ve mikrosüktürel nitelikleri yönünden değerlendirilmiştir. Peynir örneklerinin SEM görüntüleri incelendiğinde, EPS<sup>+</sup> kültür kullanımı ile az yağlı peynir örneklerinin pıhtı yapısında iyileşme sağlanarak kurumadde %40 yağlı kontrol peynirinin tekstürüne yakın bir tekstür elde edilebileceği görülmüştür. Ancak, starter kültür kullanım oranındaki artışla birlikte artan nem içeriğine bağlı olarak peynir örneklerinde tat ve yapı kusurlarının ortaya çıktığı ve EPS<sup>+</sup> kültürün %1.0 oranında ilave edildiği az yağlı peynir örneğinin %0.5 EPS<sup>+</sup> kültür ilaveli örnekten daha az beğenildiği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Ekzopolisakkarit üreten starter kültür, Kaşar peyniri, Az yağlı peynir.

## **A STUDY ON USING EXOPOLYSACCHARIDE-PRODUCING CULTURE IN LOW FAT KASAR CHEESE**

### **ABSTRACT**

In this study, the impacts of an exopolysaccharide-producing (EPS<sup>+</sup>) starter culture on some quality characteristics of low fat Kasar cheese samples were investigated. For this purpose, four cheese samples were manufactured: cheeses containing 20% fat-in-dry matter with added 0.5% EPS<sup>+</sup> and 1.0% EPS<sup>+</sup> culture (EPS<sup>+</sup>0.5 and EPS<sup>+</sup>1.0), control cheese containing 20% fat-in dry matter (K20) and control cheese containing 40% fat-in-dry matter (K40). The samples were allowed to ripening for 90 days at 4 ± 1 °C and were evaluated for chemical, physical, sensory and microstructure qualities on the 1<sup>st</sup>, 15<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> days of ripening. SEM images showed that textural characteristics of low-fat cheese samples could be improved by using EPS<sup>+</sup> starter culture and of which had similar texture to the control cheese with 40% fat-in-dry matter. However, it was determined that defects in body and flavor became definite with an excessive increase in moisture level and the cheese with 1.0% EPS<sup>+</sup> culture preferred less than the cheese with 0.5% EPS<sup>+</sup> culture.

**Keywords:** Exopolysaccharide-producing starter culture, Kasar cheese, low fat cheese.

\* Bu çalışma Ebru Şanlı'nın doktora tezinden alınmıştır / This paper is a part of Ph. D. thesis of Ebru Şanlı

\*\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ tcetin@agri.ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 596 1527

☎ (+90) 312 318 2219

### GİRİŞ

Süt ürünlerinde, özellikle peynirde yağ içeriğinin azaltılması teknolojik bazı güçlükleri de beraberinde getirmektedir. Kabul edilebilir tat ve aroma ile düzgün bir tekstüre sahip az yağlı peynir üretiminde karşılaşılan güçlükler, peynirin duyuşal niteliklerinin genel olarak kazein, yağ ve sudan oluşan üç ana bileşene bağlı bulunmasından kaynaklanmaktadır (Jameson, 1990). Söz konusu bileşenlerden yağ peynirin tat, aroma ve tekstüründe anahtar rolü oynamaktadır (Banks vd., 1989; Jameson, 1990; Drake ve Swanson, 1995; Zhang vd., 2015). Peynirin yağ oranı azaldıkça protein matriksinin daha sıkı bir hal aldığı, genellikle kuru ve kumlu olarak tanımlanan daha sert bir yapı oluştuğu önceki araştırmacılar (Jameson, 1990; Mistry ve Anderson, 1993; Bryant vd., 1995) tarafından ortaya konulmuş, ayrıca tipik aroma yoğunluğunun azaldığı ve acı tat kusurları ile karşılaşılabildiği belirlenmiştir (Banks vd., 1993; El Soda, 2014).

Üretim yöntemlerinin modifiye edilmesi, belirli starter kültürlerin ya da yağ ikame maddelerinin kullanılması az yağlı peynirlerde karşılaşılan tat ve yapı kusurlarına karşı önerilen çözüm yolları arasında yer almaktadır (Drake ve Swanson, 1995; Mistry, 2000; Broadbent vd., 2001). Yağı azaltılan sert ya da yarı sert peynirlerin üretiminde sütün pastörizasyon sıcaklığının yükseltilmesi, teleminin daha düşük sıcaklıkta haşlanması, haşlama süresinin kısaltılması, pıhtının yıkanması ve çedarlama süresinin kısaltılması gibi uygulamalar yapılabilmektedir (Drake ve Swanson, 1995; El Soda, 2014). Bunların dışında, peynir sütünün homojenizasyonu, koyulaştırılması veya ultrafiltrasyonu da üretim yöntemlerinin modifikasyonu için önerilen işlemler arasında yer almaktadır (Mayes vd., 1994). Bu uygulamalarla peynirin toplam nem içeriğinin artırılması amaçlanmaktadır. Yağ içeriği azaltılan peynirin tam yağlı peynirinkine benzer tat ve yapı özelliklerine sahip olabilmesi için, nem içeriğinin normalden yüksek olması gerektiği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Banks vd., 1989; Bryant vd., 1995; Broadbent vd., 2001; Rogers vd., 2009; Zhang vd., 2015).

EPS üreten starter kültürler, yağ içeriği azaltılan peynirlerde nem içeriğini artıran bir işleve sahip bulunmaktadır (Perry vd., 1998; Broadbent vd., 2001; Duboc ve Mollet, 2001; El Soda, 2014). EPS birçok laktik asit bakterisi suşu tarafından üretilerek hücre dışına salgılanan ve monosakkaritlerden ibaret olan organik bir maddedir (Ayyash vd., 2018). Gıdalarda viskoziteyi artırma, stabilizasyonu sağlama ve su bağlama gibi fonksiyonel özellikleri yerine getirmesi nedeniyle bu polimerleri üreten bakteri suşlarının kullanımının bazı durumlarda ticari stabilizörlere ve yağ ikame maddelerine karşı bir seçenek olabileceği düşünülmektedir (Broadbent vd., 2001; Ruas-Madiedo vd., 2002; Amatayakul vd., 2006; Dabour vd., 2006; Costa vd., 2010).

Mevcut çalışmada, yağ içeriği azaltılan Kaşar peynirinde EPS üreten laktik asit bakterilerini içeren bir starter kültürün farklı oranlarda kullanımı ile ürünün bazı niteliklerindeki değişimlerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Kaşar peyniri örneklerinin üretiminde, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvancılık İşletmesi'nden temin edilen inek sütü hammadde olarak kullanılmıştır. Sütün pıhtılaştırılmasında Maysa Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den (İstanbul) sağlanan 1/6000 kuvvetindeki sıvı şirden mayasından (Ecoren 200) yararlanılmıştır. Az yağlı deneme örneklerinin üretiminde ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip (EPS+) (MYE 92) ticari yoğurt kültürü, az yağlı ve yağlı kontrol örneklerinin üretiminde ise ekzopolisakkarit üretmeyen (EPS-) (TM081) ticari yoğurt kültürü, *Lactobacillus helveticus* (LH 301) içeren ticari peynir kültürü ile birlikte kullanılmış olup, kültürler Rhodia (Fransa) firmasından temin edilmiştir.

#### Yöntem

##### Kaşar peyniri örneklerinin üretimi

Deneme örneklerinin üretimi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Eğitim Araştırma ve Uygulama İşletmesinde mevcut donanımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneme örneklerinin üretimi için 2 kısma ayrılan çiğ sütün bir kısmı yağlı kontrol peynirinin (K40), diğer

kısmı da az yağlı peynirlerin üretimi için kullanılmıştır. Çiğ sütlerin yağ oranları, az yağlı peynirlerde kurumaddede %20, yağlı peynirde kurumaddede %40 yağ bulunacak şekilde, sırasıyla %1.1 ve %3.0'e standardize edilmiştir. Standardizasyonu takiben, az yağlı peynir üretimine ayrılan süt, üç kısma ayrılarak; birinci kısım EPS- starter kültür ilaveli kontrol peynirinin (K20) üretimi için, ikinci ve üçüncü kısım sütler ise % 0.5 ve %1.0 oranlarında EPS+ starter kültür ilaveli peynirlerin (EPS+0.5 ve EPS+1.0) üretimi için kullanılmıştır. Standardize sütler, 63°C'de 30 dakika süreyle ısıtılma tabii tutulmuştur. Isıl işlemden sonra sütler soğutulup, 34°C'de önce CaCl<sub>2</sub> (% 0.01) katılarak 15 dakika süreyle bekletilmiş, ardından starter kültür ilave edilerek ön olgunlaşmaya bırakılmıştır. Ön olgunlaştırması tamamlanan sütlere, maya kuvvetine göre 45 dakikada pıhtı kesim olgunluğuna gelecek şekilde sıvı şirden mayası ilave edilmiştir. Pıhtılaştırma süresinin sonunda pıhtı kesilmiş ve peynir kazanı içerisindeki pıhtının sıcaklığı 15 dakika içerisinde yaklaşık 35±1°C'ye gelecek şekilde ısıtma işlemi uygulanmıştır. Pıhtı paslanmaz çelik kalıplara aktarıldıktan sonra haşlama asitliğine (yaklaşık pH 5.2) ulaşıncaya kadar 35 °C'de bekletilmiştir. Haşlama işlemi %1.5 (w/v) tuz içeren 40 litre haşlama suyu içerisinde, 55-60°C'de gerçekleştirilmiştir. Yoğurma işleminin ardından peynirler 500 gramlık kalıplara alınmıştır. Peynir örnekleri %85 nem altında ilk gün 15°C'de, ikinci gün 10°C'de bekletilmiş ve daha sonra vakum altında polietilen poşetlere ambalajlanmıştır. Tüm peynir örnekleri 4±1°C'de olgunlaşmaya bırakılarak depolamanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde analiz edilmiştir.

#### **Kimyasal ve fiziksel analizler**

Peynir örneklerinde toplam kurumadde içeriği gravimetrik yöntemle (Anonim, 1997), titrasyon asitliği ile yağ ve tuz içerikleri Hooi vd. (2004) tarafından bildirilen yöntemlere göre belirlenmiştir. Kurumaddede yağ ve kurumaddede tuz içerikleri hesaplama yoluyla bulunmuştur. Örneklerin pH değeri dijital pH-metre (MP 225, Mettler-Toledo GmbH, Giessen, Germany) kullanılarak saptanmıştır. Toplam azot (TA) ve suda çözünen azot (WSN) içerikleri Kjeldahl yöntemine göre tayin edilmiştir (IDF,

1993). Pıhtı sıklığı, penetrometre (Stanhope-Seta Surrey, England) yardımıyla, 125 g ağırlığındaki 45°'lik konik başlığın 10 saniyedeki batma derinliği esas alınarak belirlenmiştir.

#### **Mikrostrüktürel analiz**

Peynir örneklerinin mikrostrüktürel analizinde Hayat (2000) tarafından bildirilen yöntemin modifiye şekli uygulanmıştır. Analiz için, peynir kalıplarının orta kısımlarından yaklaşık 1 cm<sup>3</sup> büyüklüğünde olacak şekilde alınan örnekler ağzı kapaklı küçük şişelere konulmuştur. Örnekler, taze olarak hazırlanan % 3'lük (v/v) glüteraldehit ve % 1'lik (w/v) osmium tetroksit (OsO<sub>4</sub>) çözeltileri ile iki aşamalı fiksasyon işleminin ardından, glüteraldehitte 1 saat ön fiksasyona tabii tutulduktan sonra 4 kez 10'ar dakika süreyle 0.1 M sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH 7.2) ile yıkanmıştır. Örnek parçaları yeterli siyah renge ulaşıncaya kadar OsO<sub>4</sub> içinde 1-2 saat fikse edilmiş ve yine tampon çözelti ile 4 kez 10'ar dakika süreyle yıkanmıştır. Suyun uzaklaştırılması için, bir dizi alkol çözeltisi (%40-%100 alkol) ile dehidrasyon işlemine tabii tutulan örnekler, alkolün uçması için 4 gün süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından karbon kaplı bant yardımı ile staplara yapıştırılan örnekler saf altın ile kaplanmış ve taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) (Jeol JSM-840-A, Japan) ile görüntüleme işlemi yapılmıştır.

#### **Duyusal değerlendirme**

Peynir örneklerinin duyuusal değerlendirmesi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü öğretim üyeleri arasında, Kaşar peynirinin nitelikleri konusunda deneyimli 5 kişinin oluşturduğu panel grubu tarafından yürütülmüştür. Değerlendirme için, TS 3272 sayılı Kaşar peyniri standardında (Anonim, 1989) bildirilen duyuusal değerlendirme çizelgesinden yararlanılmıştır. Örnekler dış görünüş, iç görünüş, yapı, koku ve tat özellikleri bakımından 5'er puan üzerinden değerlendirilmiştir.

#### **İstatistiksel analizler**

Araştırma sonuçlarının istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde basit varyans analizi uygulanmıştır (Rosner, 2006). Değişkenler arası farklılıkları ortaya koymak için, ANOVA



testinden yararlanılmıştır. İstatistiksel açıdan önemli farklılıkların saptanmasında DUNCAN testi kullanılmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen araştırma bulgularının istatistiksel hesaplamalarında Minitab ver. 13 (Minitab INC., PA, USA) programı kullanılmıştır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

#### Kaşar peynirlerinin genel nitelikleri

Kaşar peyniri örneklerinin 90 günlük olgunlaşma döneminde genel niteliklerinde belirlenen değişimlere ilişkin ortalama değerler standart hataları ile birlikte Çizelge 1’de verilmiştir.

Az yağlı Kaşar peynirlerinin tümünde (K20, EPS+0.5 ve EPS+1.0) nem içeriği yağlı Kaşar peynirine (K40) göre daha yüksek bir düzey göstermiştir (Çizelge 1). Diğer taraftan, az yağlı peynir örneklerinden EPS+ kültür ilavesiyle üretilenlerin nem içeriğinde de, K20 kontrol örneğine kıyasla %1’lik bir artış meydana geldiği görülmüştür. Bu durum EPS+ kültürlerin stabilizer benzeri işleve sahip olmaları nedeniyle su bağlamaları ve peynirin nem içeriğinde artış sağlamalarından kaynaklanmaktadır (Broadbent vd., 2001; Atamayakul vd., 2006; Costa vd., 2010; Ayyash vd., 2018). İstatistiksel değerlendirme sonuçları, az yağlı Kaşar peyniri örnekleri arasında nem içeriği bakımından belirlenen farklılığın olgunlaşmanın 15. gününde önemli ( $P < 0.05$ ) olduğunu, olgunlaşmanın diğer dönemlerinde nem içeriğinde önemli bir farklılık bulunmadığını ( $P > 0.05$ ) ortaya koymuştur.

EPS+ kültürün farklı oranlarda kullanıldığı az yağlı Kaşar peyniri örneklerinde kurumaddede yağ oranı başlangıçta EPS- kültür ilaveli az yağlı kontrol örneğine göre daha düşük ( $P < 0.05$ ) düzeyde bulunmuş, sonraki dönemlerde örnekler arasında kurumaddede yağ oranı bakımından önemli bir farklılık gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ).

Örneklere ait pH değerleri incelendiğinde (Çizelge 1) az yağlı Kaşar peyniri örneklerinin (K20, EPS+0.5, EPS+1.0) bu nitelik yönünden benzerlik gösterdiği, fakat yağlı kontrol peynirine göre biraz daha düşük pH değerine sahip oldukları görülmüştür. İstatistiksel değerlendirme sonuçları

ise, peynir örnekleri arasında pH değeri bakımından belirlenen farklılığın önemli olmadığını ortaya koymuştur ( $P > 0.05$ ). Yağ oranı azaltılan peynirlerde önceki araştırmacılar (Rudan vd., 1999; Fenelon ve Guinee, 2000; Fenelon vd., 2000; Kahyaoğlu ve Kaya, 2003) tarafından da saptandığı gibi tam yağlı peynirlere kıyasla daha yüksek oranda protein bulunmaktadır. Artan protein düzeyi ise, ortamda asitliğin daha yüksek olmasına yol açabilmektedir.

Titrasyon asitliği bakımından az yağlı peynir örnekleri (K20, EPS+0.5, EPS+1.0) arasında olgunlaşmanın ilk gününden itibaren belirlenen farklılığın istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ) olduğu bulunmuştur. EPS+ kültür ilavesiyle üretilen peynir örnekleri (EPS+0.5 ve EPS+1.0) az yağlı kontrol örneğine göre biraz daha düşük ( $P < 0.05$ ) asitlik değerlerine sahip olmuştur. Olgunlaşma döneminin sonunda az yağlı peynir örneklerinin titrasyon asitliklerindeki değişimler benzer ( $P > 0.05$ ) bulunmuştur.

Kurumaddede tuz oranı yönünden az yağlı peynir örnekleri (K20, EPS+0.5, EPS+1.0) arasında olgunlaşma döneminin başlangıcında önemli bir farklılık gözlenmemiş ( $P > 0.05$ ), ancak sonraki günlerde EPS+ kültür ilaveli peynir örneklerinin az yağlı kontrol örneğine göre daha yüksek ( $P < 0.05$ ) kurumaddede tuz içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir.

Toplam protein içeriği, beklenildiği şekilde, az yağlı Kaşar peyniri örneklerinde (K20, EPS+0.5, EPS+1.0) yağlı peynir örneğine göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 1). Yağ oranındaki azalma ile birlikte peynirin protein içeriğindeki artış beklenen bir sonuçtur. Bu durum önceki araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi, sütün yağ oranı ile peynirin toplam protein içeriği arasındaki zıt yönlü ilişkiyle açıklanmaktadır (Banks vd., 1989; Bryant ve Ustunol, 1995; Rudan vd., 1999; Fenelon ve Guinee, 2000; Fenelon vd., 2000; Kahyaoğlu ve Kaya, 2003; Rogers vd., 2009). Az yağlı örneklerde ise, EPS+ kültürün farklı oranlarda kullanımı toplam protein içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Çizelge 1. Kaşar peyniri örneklerinin bazı niteliklerinde olgunlaşma dönemindeki değişimler<sup>1</sup>  
 Table 1. Changes in some qualities of Kasar cheese samples during ripening period<sup>1</sup>

Nitelik Parameter	Olgunlaşma süresi (gün) Ripening period (Day)	Örnekler <sup>2,3</sup> Samples			
		EPS+0.5	EPS+1.0	K20	K40
Nem, % Moisture, %	1	55.33±0.22 <sup>a</sup>	54.47±0.51 <sup>a</sup>	53.27±1.02 <sup>a</sup>	48.70±0.68 <sup>b</sup>
	15	54.55±0.51 <sup>a</sup>	52.88±0.11 <sup>a</sup>	50.71±1.36 <sup>a</sup>	46.61±1.39 <sup>b</sup>
	30	53.01±0.24 <sup>a</sup>	51.23±0.32 <sup>b</sup>	50.34±1.04 <sup>b</sup>	46.00±1.42 <sup>c</sup>
	60	52.86±0.69 <sup>a</sup>	52.30±0.40 <sup>a</sup>	51.09±0.97 <sup>a</sup>	45.37±1.44 <sup>b</sup>
	90	53.18±0.35 <sup>a</sup>	51.40±0.51 <sup>ab</sup>	51.07±1.08 <sup>ab</sup>	45.40±1.37 <sup>c</sup>
Kurumaddede yağ, % Fat- in dry matter, %	1	17.91±0.09 <sup>c</sup>	17.58±0.20 <sup>c</sup>	19.27±0.23 <sup>b</sup>	39.00±0.51 <sup>a</sup>
	15	17.95±0.45 <sup>b</sup>	17.69±0.37 <sup>b</sup>	18.63±0.57 <sup>b</sup>	40.02±1.30 <sup>a</sup>
	30	18.09±0.34 <sup>b</sup>	17.94±0.31 <sup>b</sup>	18.65±0.64 <sup>b</sup>	39.56±1.14 <sup>a</sup>
	60	18.56±0.27 <sup>b</sup>	18.34±0.15 <sup>b</sup>	18.93±0.57 <sup>b</sup>	40.34±1.50 <sup>a</sup>
	90	19.22±0.14 <sup>b</sup>	18.52±0.19 <sup>b</sup>	18.93±0.64 <sup>b</sup>	40.36±1.37 <sup>a</sup>
pH	1	5.17±0.01	5.18±0.01	4.96±0.21	5.23±0.05
	15	5.13±0.04	5.16±0.01	5.09±0.17	5.25±0.04
	30	5.07±0.04	5.12±0.05	5.17±0.06	5.22±0.06
	60	5.08±0.05	5.06±0.01	5.12±0.04	5.24±0.06
	90	5.01±0.14	4.97±0.01	5.02±0.01	5.13±0.06
Titrasyon asitliği, %LA Titratable acidity, %LA	1	1.05±0.04 <sup>b</sup>	1.00±0.04 <sup>b</sup>	1.50±0.12 <sup>a</sup>	0.95±0.09 <sup>c</sup>
	15	1.10±0.08 <sup>b</sup>	1.11±0.05 <sup>b</sup>	1.41±0.04 <sup>a</sup>	0.96±0.06 <sup>b</sup>
	30	1.16±0.05 <sup>b</sup>	1.17±0.08 <sup>b</sup>	1.50±0.05 <sup>b</sup>	1.00±0.03 <sup>b</sup>
	60	1.19±0.07 <sup>b</sup>	1.21±0.08 <sup>b</sup>	1.50±0.02 <sup>b</sup>	1.09±0.08 <sup>b</sup>
	90	1.47±0.17 <sup>b</sup>	1.57±0.18 <sup>b</sup>	1.56±0.06 <sup>b</sup>	1.20±0.07 <sup>b</sup>
Kurumaddede tuz, % Salt- in dry matter, %	1	1.30±0.12	1.23±0.14	0.77±0.14	1.15±0.07
	15	1.36±0.08	1.45±0.16	0.75±0.02	1.22±0.03
	30	1.51±0.06 <sup>a</sup>	1.58±0.11 <sup>a</sup>	0.89±0.08 <sup>c</sup>	1.25±0.01 <sup>b</sup>
	60	1.33±0.22 <sup>a</sup>	1.58±0.22 <sup>a</sup>	0.94±0.09 <sup>b</sup>	1.00±0.24 <sup>a</sup>
	90	1.69±0.07 <sup>a</sup>	1.72±0.12 <sup>a</sup>	0.97±0.06 <sup>c</sup>	1.12±0.15 <sup>b</sup>
Toplam protein <sup>4</sup> , % Total protein <sup>4</sup> , %	1	27.31±0.11	28.71±0.06	28.58±0.06	25.33±0.21
	15	30.94±0.08 <sup>a</sup>	31.20±0.09 <sup>a</sup>	31.20±0.22 <sup>a</sup>	26.67±0.28 <sup>b</sup>
	30	30.75±0.23 <sup>a</sup>	31.07±0.18 <sup>a</sup>	30.18±0.16 <sup>a</sup>	26.29±0.32 <sup>b</sup>
	60	31.90±0.53	31.07±0.22 <sup>a</sup>	30.11±0.09	28.84±0.31
	90	31.90±0.10 <sup>ab</sup>	32.22±0.13 <sup>a</sup>	29.86±0.04 <sup>c</sup>	26.54±0.27 <sup>d</sup>
Olgunlaşma İndeksi <sup>5</sup> , % Ripening Index <sup>5</sup> , %	1	6.18±0.48	5.85±0.46	7.78±1.98	5.90±0.84
	15	10.55±1.02	9.80±0.25	10.96±1.30	9.78±1.05
	30	15.13±1.09	15.11±3.62	13.29±1.22	11.68±0.75
	60	19.45±1.20	21.86±1.76	16.08±1.78	16.65±0.64
	90	24.29±1.87	24.78±3.37	18.23±1.05	23.46±1.55

<sup>1</sup> Çizelgedeki değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

<sup>2</sup> EPS+0.5: %0.5 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; EPS+1.0: %1.0 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; K20: EPS- kültür kullanılarak üretilen az yağlı kontrol peyniri; K40: Yağlı kontrol peyniri.

<sup>3</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

<sup>4</sup> Toplam azotx6.38.

<sup>5</sup> (Toplam azot/Suda çözünen azot)x100

<sup>1</sup>The values on the chart are the average of 3 replicates.

<sup>2</sup> EPS+0.5: Low-fat Kasar cheese manufactured by using 0.5% of EPS + culture; EPS+1.0: Low fat Kasar cheese manufactured by using 1.0% of EPS + culture; K20: low-fat control cheese manufactured by using EPS- culture; K40: Control cheese with 40% fat-in dry matter.

<sup>3</sup> Means ±standard deviations in the same row with different letters significantly differ ( $P < 0.05$ ).

<sup>4</sup> Total nitrogenx6.38

<sup>5</sup> (Total nitrogen/Water soluble nitrogen)x100

Peynirde olgunlaşma düzeyinin tahmininde bir gösterge olan olgunlaşma indeksi (Çizelge 1), tüm peynir örneklerinde ilk 15 günlük depolama sürecinde benzer bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde ise EPS+ kültür ilaveli az yağlı peynir örneklerinde (EPS+0.5 ve EPS+1.0) az yağlı kontrol örneğinden daha yüksek değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, EPS+ kültürün farklı oranlarda kullanıldığı örnekler arasında olgunlaşma indeksi

yönünden önemli bir farklılık gözlenmemiştir ( $P > 0.05$ ).

#### Kaşar peyniri örneklerinde pıhtı sıklığı

Peynir kitlesinin sertlik ya da sıklığını belirlemek amacıyla deneme örneklerinde penetrometre yardımıyla gerçekleştirilen ölçüm sonuçları Çizelge 2’de verilmiş, Şekil 1’de de grafik halinde gösterilmiştir.

Çizelge 2. Kaşar peyniri örneklerinin penetrometre değerlerinde olgunlaşma dönemindeki değişimler (mm/s)

Table 2. Changes in penetrometer values of Kasar cheese samples during ripening (mm / s)

Olgunlaşma süresi (gün) Ripening period (day)	Örnekler <sup>2,3</sup> Samples			
	EPS+0.5	EPS+1.0	K20	K40
1	72.0±5.99	62.8±5.76	73.6±3.76	73.3±10.28
15	77.0±5.49	73.0±2.12	67.9±4.30	71.3±6.63
30	90.7±9.23 <sup>a</sup>	94.7±5.22 <sup>a</sup>	64.3±3.92 <sup>c</sup>	92.1±13.44 <sup>ab</sup>
60	99.9±5.64 <sup>ab</sup>	100.8±7.04 <sup>ab</sup>	69.9±6.05 <sup>c</sup>	112.5±6.42 <sup>a</sup>
90	109.9±9.06 <sup>ab</sup>	113.3±9.06 <sup>ab</sup>	71.2±9.01 <sup>c</sup>	128.8±9.20 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Çizelgedeki değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

<sup>2</sup> EPS+0.5: %0.5 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; EPS+1.0: %1.0 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; K20: EPS- kültür kullanılarak üretilen az yağlı kontrol peyniri; K40: Yağlı kontrol peyniri.

<sup>3</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> The values on the chart are the average of 3 replicates.

<sup>2</sup> EPS+0.5: Low-fat Kasar cheese manufactured by using 0.5% of EPS + culture; EPS+1.0: Low fat Kasar cheese manufactured by using 1.0% of EPS + culture; K20: low-fat control cheese manufactured by using EPS- culture; K40: Control cheese with 40% fat-in dry matter.

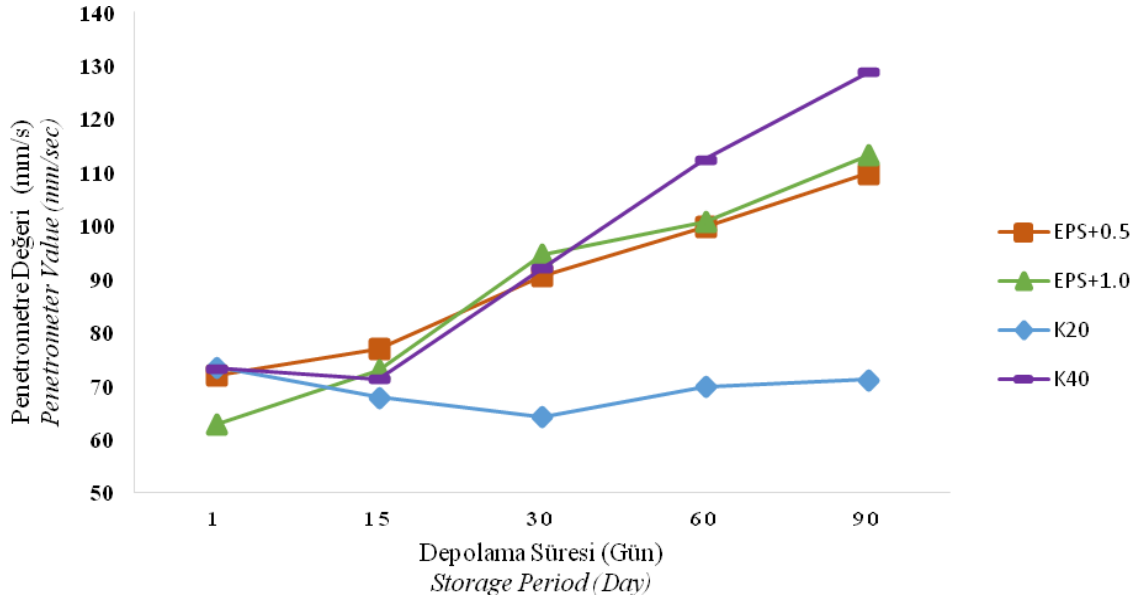
<sup>3</sup> Means ±standard deviations in the same row with different letters significantly differ ( $P < 0.05$ ).

Penetrometre değerleri az yağlı peynir örneklerinde (K20, EPS+0.5, EPS+1.0) 15. güne kadar benzer ( $P > 0.05$ ) değişimler gösterirken, 30. günden itibaren EPS+ kültür ilaveli peynirlerde az yağlı kontrol örneğine göre farklılık gösterdiği ( $P < 0.05$ ) ve yağlı kontrol örneğinde saptanan değerlere yaklaştığı belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 1). Bu sonuç olasılıkla peynir örneklerinin nem/protein oranları arasındaki farklılıklardan kaynaklanmıştır. Nitekim, deneme örneklerinin nem/protein oranları hesaplandığında, özellikle %0.5 oranında EPS+ kültür ilaveli az yağlı peynir örneğinin 1, 15, 30 ve 60. günlerde sırasıyla 2.03, 1.76, 1.72 ve 1.65 olan nem/protein oranları ile yağlı Kaşar peynirinin nem/protein oranına

benzer ya da yakın değerlere sahip olduğu görülmüştür. Yağlı Kaşar peyniri örneğinde söz konusu değerler sırasıyla 1.92, 1.75, 1.75 ve 1.57 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, EPS+ kültür kullanımı ile peynir kitlesinde tutulan su miktarında, Broadbent vd. (2001) tarafından da ileri sürüldüğü gibi, yapıyı iyileştirmeye yetecek düzeyde bir artış sağlandığını göstermektedir. Adı geçen araştırmacılara göre, az yağlı bir peynirin su içeriğinde tam yağlı peynirdekine yakın ya da daha yüksek nem/protein oranı elde etmeye yetecek düzeyde bir artış sağlanması suretiyle yapısal özellikler iyileştirilebilmektedir. EPS+ kültürün %1.0 oranında kullanıldığı az yağlı peynir örneğinde nem/protein oranlarının yağlı kontrol

örneği için belirlenen değerlerin (1, 15, 30, 60 ve 90. günler için sırasıyla 1.90, 1.69, 1.65, 1.68, 1.60) altında kaldığı saptanmıştır. Bu bulgulara göre, katılan kültür oranındaki artışla birlikte nem içeriğinde gereğinden fazla artışın, daha yüksek

proteolitik aktiviteye bağlı olarak, daha yumuşak bir yapı oluşumuna yol açtığı ve daha yüksek penetrometre değerlerinin elde edildiği (Çizelge 2) söylenebilir.



Şekil 1. Kaşar peyniri örneklerinin penetrometre değerlerinde depolama dönemindeki değişimler.

EPS+0.5: %0.5 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; EPS+1.0: %1.0 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; K20: EPS- kültür kullanılarak üretilen az yağlı kontrol peyniri; K40: Yağlı kontrol peyniri.

Figure 1. Changes in penetrometer values of Kasar cheese samples during ripening period.

EPS+0.5: Low-fat Kasar cheese manufactured by using 0.5% of EPS+ culture; EPS+1.0: Low fat Kasar cheese manufactured by using 1.0% of EPS + culture; K20: low-fat control cheese manufactured by using EPS- culture; K40: Control cheese with 40% fat-in dry matter

### Kaşar peyniri örneklerinin mikrostrüktürü

Süt yağı, peynirin belirli yapısal özelliklere sahip olması bakımından önemli bir süt bileşenidir. Peynir üretiminde, proteinlerin agregasyonu aşamasında protein matriksini çevreleyen süt yağ globül membranı için hidrofil karakterde bir yüzey oluşturmak suretiyle dolgu maddesi gibi işlev görmek ve proteinlerin tamamen kümeleşmesini engellemektedir. Bunun sonucunda protein matriksinde yağ globülleriyle dağıtılan serum havuzları oluşmaktadır. Peynirin yağ oranı azaldıkça, serum havuzlarının sayısı ve aynı zamanda nem/protein oranı da azalmaktadır

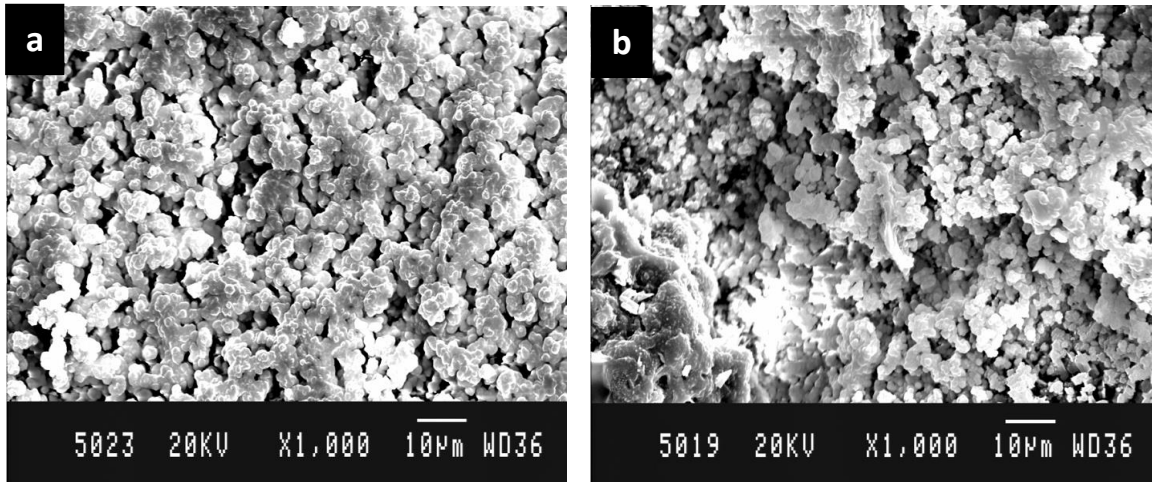
(Broadbent vd., 2001). Bu nedenle, az yağlı peynirlerde protein matriksi daha yoğun bir hal almakta, tam yağlı peynirdeki gibi açık bir tekstür sergilememektedir (Mistry ve Anderson, 1993). Az yağlı peynirlerin tam yağlı peynirdeki nem/protein oranına eşit bir nem içeriğe sahip olmalarını sağlayacak yöntemlerle üretilmeleri halinde tam yağlı peynirin tekstürüne benzer bir tekstüre sahip olabilecekleri bildirilmektedir (Broadbent vd., 2001; Ruas Madiedo vd., 2002).

Mevcut çalışmada, EPS+ kültür kullanımının mikrostrüktürel yapı üzerindeki etkisi az yağlı ve

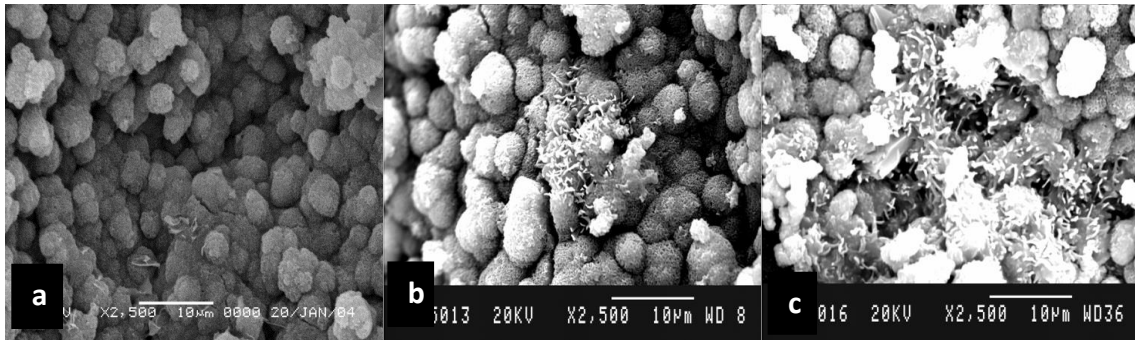
yağlı kontrol örneklerinin mikrostrüktürel yapısı ile karşılaştırmalı olarak olgunlaşmanın 60. gününde çekilen SEM görüntüleri yardımıyla ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde, EPS+ kültür kullanımı ile az yağlı peynir örneklerinde pıhtı yapısında bir iyileşme sağlanabileceği ve yağlı peynir tekstürüne yakın bir

tekstür elde edilebileceği anlaşılmaktadır (Şekil 2). EPS+ kültürün %0.5 oranında kullanıldığı az yağlı peynirde protein matrisinin (Şekil 3b) daha yoğun ve plastikimsi bir görünüm sergilediği, kültür oranının %1.0'e çıkarılması durumunda ise matrisin daha katmanlı bir hal aldığı ve daha fazla sayıda serum havuzları içerdiği görülmektedir (Şekil 3c).



Şekil 2. Kaşar peyniri örneklerinin 60. gün SEM görüntüleri (a) K40 (b) EPS+ 1.0  
Figure 2. SEM images of Kasar cheese samples on day 60 (a) K40 (b) EPS+ 1.0



Şekil 3. Kaşar peyniri örneklerinin 60. gün SEM görüntüleri (a) K20 (b) EPS+0.5 (c) EPS+1.0  
Figure 3. SEM images of Kasar cheese samples on day 60 (a) K20 (b) EPS+0.5 (c) EPS+1.0

**Kaşar peyniri örneklerinin duyuşal nitelikleri**  
Deneme örneklerinin duyuşal niteliklerinde olgunlaşma dönemi boyunca belirlenen değişimler Çizelge 3'te verilmiştir.

Duyuşal nitelikler arasında az yağlı peynirler açısından ayrı bir yeri olan yapı puanları incelendiğinde (Çizelge 3), genel olarak az yağlı

kontrol örneğinin EPS+ kültür katkı peynir örneklerine göre biraz daha yüksek yapı puanları ile değerlendirildiği dikkati çekmektedir. Bu durum, olasılıkla EPS+0.5 ve EPS+1.0 örneklerinde yapının giderek daha yumuşak algılanmasından kaynaklanmıştır. Az yağlı peynir örnekleri yapı açısından genel olarak yağlı peynir örneğine göre daha düşük puanlarla

değerlendirilmiştir. Tat açısından, en az beğenilen örnek az yağlı kontrol örneği (K20)'dir. EPS+ kültür katkılı örnekler (EPS+0.5 ve EPS+1.0) tat puanları açısından değerlendirildiğinde, az yağlı kontrol örneğine (K20) göre daha yüksek, fakat yağlı kontrol örneğine (K40) göre daha düşük puanlara sahip olmuştur. Olgunlaşma döneminde

peynir örneklerinin tümünde tat puanları giderek azalma göstermiştir. Az yağlı peynirlerin yağlı peynirlere kıyasla daha düşük tat puanlarına sahip olmaları olasılıkla acı tat gelişiminden kaynaklanmıştır. Az yağlı peynirlerde olgunlaşma döneminde acı tat gelişimi genel olarak karşılaşılan kusurlardandır.

Çizelge 3. Kaşar Peyniri Örneklerinin Duyusal Değerlendirme Sonuçları<sup>1</sup>

Table 3. Sensory Evaluation Results of Kasar Cheese Samples<sup>1</sup>

Nitelik Parameter	Olgunlaşma süresi (gün) Ripening period (day)	Örnekler <sup>2</sup> Samples <sup>2</sup>			
		EPS+0.5	EPS+1.0	K20	K40
Dış görünüş Outer appearance	1	4.43	4.48	4.27	4.39
	15	4.72	4.71	4.13	4.71
	30	4.61	4.67	3.80	4.72
	60	4.29	4.39	4.20	4.35
	90	3.88	3.87	4.62	3.94
İç görünüş Inner appearance	1	4.18	4.23	4.20	4.46
	15	4.52	4.29	4.13	4.59
	30	4.61	4.50	4.33	4.50
	60	4.36	4.46	4.20	4.42
	90	3.94	4.06	4.43	4.00
Yapı Body	1	4.18	4.09	4.20	4.44
	15	4.06	4.47	4.13	4.23
	30	3.84	3.78	4.13	4.11
	60	3.69	3.78	3.93	3.87
	90	3.64	3.53	4.06	3.31
Koku Odour	1	4.66	4.61	4.67	4.72
	15	4.58	4.63	4.67	4.94
	30	4.83	4.67	4.27	4.89
	60	4.29	4.42	4.33	4.42
	90	4.50	4.50	4.57	4.44
Tat Flavour	1	3.67	4.05	3.33	4.14
	15	3.46	3.76	3.67	4.47
	30	3.67	3.56	2.93	4.17
	60	2.91	2.78	2.33	3.55
	90	2.82	2.53	2.17	3.32
Toplam Overall score	1	21.12	21.46	20.67	22.15
	15	21.34	21.86	20.73	22.94
	30	21.56	21.18	19.46	22.39
	60	19.54	19.83	18.99	20.61
	90	18.78	18.49	19.85	19.01

<sup>1</sup> Çizelgedeki değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

<sup>2</sup> EPS+0.5: %0.5 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; EPS+1.0: %1.0 oranında EPS+ kültür kullanılarak üretilen az yağlı Kaşar peyniri; K20: EPS- kültür kullanılarak üretilen az yağlı kontrol peyniri; K40: Yağlı kontrol peyniri.

<sup>1</sup> The values on the chart are the average of 3 replicates.

<sup>2</sup> EPS+0.5: Low-fat Kasar cheese manufactured by using 0.5% of EPS+ culture; EPS+1.0: Low fat Kasar cheese manufactured by using 1.0% of EPS+ culture; K20: low-fat control cheese manufactured by using EPS- culture; K40: Control cheese with 40% fat-in dry matter.

Araştırma bulgularının genel bir değerlendirmesi yapıldığında, EPS üreten starter kültür kullanımı ile az yağlı Kaşar peynirinin tekstürel ve duyu niteliklerinde belirli bir dereceye kadar iyileştirme sağlanabileceği; ancak kültürden beklenen yararın kullanım oranına bağlı olarak değiştiği ve kültür oranındaki artışla birlikte peynirde tat kusurları ile karşılaşılacağı sonucuna varılabilir.

#### KAYNAKLAR

- Amatayakul, T., Sherkat, F., Shah, N.P. (2006). Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocoll*, 20, 314–324.
- Anonim (1989). Beyaz Peynir, TS 591, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (1997). Süt ve Süt Ürünleri Numune Alma, TS 2530, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Hamed, F., Shaker, R. (2018). Rheological, textural, microstructural and sensory impact of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk on low-fat akawi cheese. *LWT- Food Sci Technol*, 87:423-431.
- Banks, J.M., Hunter, E.A., Muir, D.D. (1993). Sensory properties of low fat Cheddar cheese: effect of salt content and adjunct culture. *J Soc Dairy Technol*, 46; 119-123.
- Banks, J.M., Brechany, E.Y., Christie, W.W. (1989). The production of low fat Cheddar type cheese. *J Soc Dairy Tech.*, 42(1):6-9.
- Broadbent, J.R., McMahon, D.J., Oberg, C.J., Welker, D.L. (2001). Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve functionality of low fat cheese. *In Dairy J*, 11:433-439.
- Bryant, A., Ustunol, Z. (1995). Consumer acceptance of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. *J Food Tech*, 30 (4):26-28.
- Bryant, A., Ustunol, Z., Steffe, J. (1995). Texture of Cheddar cheese as influenced by fat reduction. *J Food Sci*, 60(6):1216-1236.
- Costa, N.E, Hannon, J.A, Guinee, T.P, Auty, M.A.E, McSweeney, P.L.H, Berekford, T.P. (2010). Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese. *J Dairy Sci*, 93:3469–3486.
- Dabour, N., Kheadr, E.E, Benhamou, N., Fliss, I., LaPointe, G. (2006). Improvement of texture and structure of reduced-fat Cheddar cheese by exopolysaccharide-producing *Lactococci*. *J Dairy Sci*, 89:95–110.
- Drake, M.A., Swanson, B.G. (1995). Reduced and low fat cheese technology: A Review. *Trends Food Sci Technol*, 6:366-368.
- Duboc, P., Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *Int Dairy J*, 11:759-768.
- El Soda, M. (2014). Production of low fat Cheddar cheese made using exopolysaccharides-producing cultures and selected ripening cultures. *Advances in Microbiology*, 4:986-995.
- Fenelon, M.A., Guinee, T.P. (2000). Primary proteolysis and textural changes during ripening in Cheddar cheeses manufactured to different fat contents. *Int Dairy J*, 10:151-158.
- Fenelon, M.A., O'Connor, P., Guinee, T.P. (2000). Effect of fat content on the microbiology and proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *J Dairy Sci*, 83:2173-2183.
- Hayat, M.A. (2000). Principles and techniques of electron microscopy : biological applications. In: *Rinsing, Dehydration and Embedding*, Hayat, M.A. (chief ed.), Cambridge, Cambridge University, pp. 85–93.
- Hooi, R., Barbano, D.M., Bradley, R.L., Budde, D., Bulthaus, M., Chettiar, M. (2004). Chemical and physical methods. In: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Wehr, H.M., Frank, J.F., Washington, DC. (chief ed.), American Public Health Association, pp. 363-532.
- IDF (1993). Milk Determination of Nitrogen Content. Standard No: 20B, Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Jameson, G.W. (1990). Cheese with less fat. *Aust. J. Dairy Tech.*, November:93-98.
- Kahyaoglu, T., Kaya, S. (2003). Effects of heat treatment and fat reduction on the rheological

- and functional properties of Gaziantep cheese. *Int Dairy J*, 13:867-875.
- Mayes, J.J., Urbach, G., Sutherland, B.J. (1994). Does addition of buttermilk affect the organoleptic properties of low-fat Cheddar cheese. *Aust J Dairy Technol*, 49:39-41.
- Mistry, V. (2000). Low fat cheese technology. In: *Cheese Ripening and Technology*, Abstracts of IDF Symposium Held in Baff, Canada, March 2000, Publ. by International Dairy Federation, Belgium, 60 p.
- Mistry, V.V., Anderson, D.L. (1993). Composition and microstructure of commercial full-fat and low-fat cheese. *Food Structure*, 12:259-266.
- Perry, D.B., McMahon, D.J., Oberg, C.J. (1998). Manufacture of low fat Mozzarella cheese using exopolysaccharide-producing cultures. *J Dairy Sci*, 81:563-566.
- Rogers, N.R., Drake, M.A., Daubert, C.R., McMahon, D.J., Bletsch, T.K., Foegeding, E.A. (2009). The effects of aging on low-fat, reduced-fat, and full-fat Cheddar cheese texture. *J Dairy Sci*, 92, 4756-4772.
- Rosner, B. (2006). *Fundamentals of Biostatistics*. 6<sup>th</sup> Edition, Thomson Higher Education, USA, 888 p.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int Dairy J*, 12:163-171.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Yun, J.J., Kindstedt, P.S. (1999). Effect of fat reduction on chemical composition, proteolysis, functionality, and yield of Mozzarella cheese. *J Dairy Sci*, 82:661-672.
- Zhang, L., Li, X., Ren, H., Liu, L., Ma, L., Li, M., Bi, W. (2015). Impact of using exopolysaccharides (EPS)-producing strain on qualities of half-fat Cheddar cheese. *Int J Food Prop*, 18:1546-1559.





## FARKLI TURUNÇGİLLERDEN ELDE EDİLEN ALBEDOLARIN BİSKÜVİ ÜRETİMİNDE KULLANIMI

**Halil Demirel, Mustafa Kürşat Demir\***

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Meram, Konya, Türkiye

Geliş / Received: 05.02.2018; Kabul / Accepted: 27.04.2018; Online baskı / Published online: 18.05.2018

Demirel, H., Demir, M. K. (2018). Farklı turunçgillerden elde edilen albedoların bisküvi üretiminde kullanımı. *GIDA* (2018) 43 (3): 501-511 doi: 10.15237/gida.GD18021

Demirel, H., Demir, M. K. (2018). Using albedos obtained from different citrus in cookie production. *GIDA* (2018) 43 (3): 501-511 doi: 10.15237/gida.GD18021

### ÖZ

Turunçgil kabuğu, fonksiyonel özelliği olan gıda endüstrisi yan ürünüdür. Bu kabuğun bir katmanı olan albedo, ihtiva ettiği diyet liflerinin insan sağlığı üzerine olumlu etkileri ortaya çıkmasıyla birlikte birçok gıdada kullanılmaya başlamıştır. Bu çalışmada portakal, mandalina, limon ve greyfurttan elde edilen dört farklı turunçgil albedosu kullanılmıştır. Turunçgil albedosu bisküvilik una dört farklı oranda (% 2.5, 5, 7.5 ve 10) ikame edilerek bisküvinin bazı kalitatif özelliklerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bisküvi formülasyonunda albedo ikamesinin artmasına bağlı olarak, tüm örneklerde çap ve kalınlık değerlerinin azaldığı ve sertlik değerinin ise arttığı tespit edilmiştir. Albedo oranının artmasına bağlı olarak tüm örneklerin  $L^*$  değerlerinin azaldığı,  $a^*$  değerlerinin ise arttığı görülmüştür. Ayrıca, kül, ham lif ve toplam fenolik madde arttığı görülmüştür. Sonuç olarak; bisküvilerin teknolojik özelliklerin geliştirilmesi açısından % 5 oranına kadar turunçgil albedosu ikamesinin yapılması uygun bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Albedo, bisküvi, diyet lifi, turunçgil.

## USING ALBEDOS OBTAINED FROM DIFFERENT CITRUS IN COOKIE PRODUCTION

### ABSTRACT

The citrus peels are by-product of food industry that have functional properties. Dietary fibers are a layer of this shell that is used in most products with the emergence of positive effects on human health. In this study, four different citrus albedos (orange, mandarin, lemon and grapefruit) were used. The qualitative properties of the cookie have been increased by four different types of albedos with different ratios (2.5, 5, 7.5 and 10%) replacing with cookie flour. Diameter and thickness decreased and the hardness increased in all samples due to the increase of albedo substitution. Also,  $L^*$  values decreased and  $a^*$  values increased depending on the increase in albedo ratio. Ash, crude fiber and total phenolic content increased due to the increase in albedo of cookies. In conclusion, it has been found that, to improve technological properties of cookies more than 5% of cookie flour should be substituted by citrus albedos.

**Keywords:** Albedo, cookie, dietary fiber, citrus.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mkdemir@konya.edu.tr,

☎ (+90) 332 325 2024,

☎ (+90) 332 223 7911

## GİRİŞ

Bisküvi, unun içine kabarmayı sağlayıcı maddeler, şeker, tuz, yağ ve gıda maddeleri ile ilgili tüzükte izin verilen diğer maddelerden biri veya birkaçı eklendikten sonra su ile yoğrularak tekniğine uygun bir biçimde işlenmesi, şekil verilmesi ve pişirilmesi sonucunda elde edilen bir unlu mamuldür (Anonim, 2010). Bisküvinin unlu mamuller içinde yoğun olarak tüketilen bir ürün olmasının temel nedenleri; hazır gıda maddesi olması, besinsel kalitesinin iyi olması, ucuz ve doyurucu olmasıdır (Sudha vd., 2007). Bisküvi, bozulmadan uzun süre dayanabilmesi, tüketicinin damak zevkine hitap etmesi ve değişik lezzetlerde sunulabilmesi nedenleriyle, ara öğün beslenmesinde önemli yer tutmaktadır (Ünal, 1991). Gıda endüstrisi ele alındığında bisküvi üretimi, ekonomik açıdan önemli sektörlerden biridir. Tüm tüketicilerin damak zevkine uygun onlarca çeşidinin üretilmesi, bisküvinin sevilmesinde önemli bir nedendir. Ülkemizde ise son yıllarda günlük olarak bolca tüketilen gıda maddeleri arasına girmiştir. Bu açıdan bisküvi yüksek tüketim potansiyeline sahip bir gıdadır (Doğan ve Uğur, 2005).

Gelişen gıda teknolojisi ve tüketici bilinçlenmesi, günümüzde ürün kalitesini iyileştirme gayretlerini de arttırmaktadır. Tüketicilerin yaşamları için temel gereksinimleri olan gıdaların, güncel teknolojik gerekler doğrultusunda üretilmesi, sağlıklı beslenmenin sağlanması yolunda önemli bir hizmettir (Halaç, 2002). Günümüzde diyet lifi ve ham liflerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin anlaşılması ile gerek bu bileşiklere, gerekse bu bileşiklerce zengin gıdalara olan ilgi de artmıştır. Birçok gıdaya olduğu gibi; makarna ve bisküvi ürünlerinde de lifçe zengin hammaddelerin “fonksiyonel katkı” olarak katılması gündeme gelmiş ve bu amaçla da daha çok buğday, yulaf, arpa ve pirinç gibi tahılların kepekli fraksiyonları kullanılmıştır. Ancak buğday kepeği başta olmak üzere, tahıl kepeklerinde fazla miktarda bulunan fitik asidin bazı mineraller ve proteinler ile olan interaksyonu ve ayrıca kepeğin ürün kalitesi ve duyuşal özelliklerindeki olası olumsuz etkileri nedeniyle, başka doğal lif kaynaklarının kullanım olanaklarının araştırılmasını da gündeme getirmiştir (Garcia-Estepa vd., 1999; Türksoy,

2011). Örneğin; sebze lif konsantrelerinin diyet lif içeriği bakımından daha zengin oldukları ve katıldıkları oranlara bağlı olarak tahıl ürünlerini önemli derecede zenginleştirdikleri görülmüştür (Türksoy, 2011).

Turunçgil kabukları; albedo ve flavedo adı verilen iki tabakadan oluşur. Flavedo, en dıştaki, renkli olan sarıdan turuncuya kadar değişen dış tabakadır. Bu katmanda karotenoid pigmentleri ile içerisinde uçucu yağ maddelerini üreten bezelerin bulunduğu lipit/yağ hücreleri bulunmaktadır. Flavedonun alt kısmında ise, bir devam tabakası olarak, beyaz/krem renkte, daha kalın keçeye benzeyen bir katman olan albedo bulunmakta olup, gevşek bir yapıda iri hücrelerden oluşmaktadır. Bu kısımda, meyveye su ve besin maddelerini ileten damarlar yer almaktadır (Çoksever, 2009). Albedo, diğer adıyla mezokarp, meyvenin beyaz kısmı olup, büyük hücreler arası boşluklardan oluşan gevşek dokuları içerir ve çoğunlukla pektin ile hisperidinden oluşan bir yapıyı teşkil eder. Turunçgil kabuğunda % 30-35 oranında bulunan pektinin, % 73'ü albedo tabakasında mevcuttur (Sinclair, 1984; Schröder vd., 2004; Çoksever, 2009). Albedo, ticari pektin üretiminde en yaygın olarak kullanılan hammaddelerden biridir. Ayrıca, albedo diğer bitkisel lif kaynaklarından daha yüksek kaliteye sahiptir. Bunun sebebi, antioksidan özellikteki biyoaktif bileşenlerinin (flavonoidler ve C vitamini) sağlık açısından düzenleyici etkilerinin bulunmasıdır (Koubala vd., 2008; Çoksever, 2009). Türkiye’de 2015 yılında 1.816.798 ton portakal üretilmiş olup, portakal suyu üretim tesislerinde yaklaşık 760 bin ton atık portakal kabuğu olduğu tahmin edilmektedir. Oluşan atık portakal kabuklarının bir bölümünün hayvan yemi olarak kullanıldığı, bir kısmının kurutulup değerlendirildiği ve geri kalan kısmının ise kentsel katı atık depolama tesislerine götürüldüğü saptanmıştır. Bu durum özellikle narenciye üretimi yapılan yerleşim yerlerindeki belediyeler için önemli bir sorun oluşturmaktadır (Günkaya vd., 2016). Bu açıdan yan ürün niteliğindeki turunçgil ürünlerin gıda sektöründe kullanılması ve değerlendirilmesi de ülkemiz için önemli olacaktır.

Bu çalışmada; turunçgil sanayinin önemli yan ürünlerinden olan albedoların, bisküvi üretiminde kullanım imkanlarının araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmamızın amacı ise; buğday unlarına belirli oranlarda ikame edilen farklı turunçgil albedolarının bisküvi üretimi için uygunluğunun belirlenmesi ve değerlendirilmesidir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Bisküvi üretimde kullanılan bisküvilik un, Golda Bisküvi ve Gıda San. A.Ş. (Karaman, Türkiye)'den temin edilmiştir. Bisküvi formülasyonunda yer alan diğer bileşenler (pudra şekeri, yağsız süt tozu, tuz, sodyum bikarbonat, amonyum bikarbonat, şortening) Konya piyasasından satın alınmıştır. Bisküvi bileşimine ilave edilen turunçgil albedoları ise, Konya piyasasından temin edilen turunçgillerden elde edilmiştir.

#### Yöntem

##### Deneme Planı

Denemede dört farklı turunçgilden (portakal, limon, mandalina ve greyfurt) elde edilen albedolar, bisküvi üretiminde buğday ununa ile 4 farklı oranda (% 2.5, 5.0, 7.5 ve 10), 100 g un esasına göre ikame edilmiştir. Elde edilen tüm veriler kontrol grubu bisküviler (% 0) ile kıyaslanmış olup, denemeler (4 x 4) x 2 faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüştür.

##### Albedoların Üretimi

Denemelerde kullanılan greyfurt, limon, portakal ve mandalinalardaki meyve kabukları (flavedo tabakası) bıçak yardımıyla ayrılmış ve albedo tabakası alınmıştır. Daha sonra bu albedo tabakaları, kurumanın kolaylaştırılması için bıçak yardımıyla küçük parçalara ayrılarak, 80°C'de bir kurutma kabininde (Nüve KD-200, Ankara, Türkiye) 18 saat süreyle kurutulmuştur. Kuruyan bu albedo tabakaları, laboratuvar tipi bir öğütücü (Trisa Coffee Mill, Tokyo, Japonya) yardımıyla, 500 µ elekten geçecek şekilde öğütülmüş ve hazır hale getirilmiştir.

##### Bisküvi Üretimi

Bisküvi üretiminde AACC Standart No:10-54 üretim metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Formülasyonda 100 g un esasına göre, 42 g toz

şeker, 41 g şortening, 1.25 g tuz, 1 g yağsız süttozu, 0.5 g sodyum bikarbonat, 0.5 g amonyum bikarbonat ve düzgün hamur yapısı elde edilebilmek için 13-17 mL arasında değişen miktarlarda su kullanılmıştır. Bisküvi ingredientleri mikserde (Kenwood KMX, Kenwood Ltd., UK) 8 dk süre ile yoğrulmuştur. Yoğurma sonrası elde edilen hamur 5.0 mm kalınlığında açılarak, 55.0 mm çaplı kesme kalıbı ile şekil verilmiş ve ardından bu hamur parçaları alüminyum tepsilere yerleştirilerek 160±2°C'de 15 dk süre ile fırında (LG MP-9485S, Seul, Kore) pişirilmiştir.

##### Fiziksel Analizler

Bisküvilik un ve albedo örneklerinin renk okumaları  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri cinsinden Hunter Lab Color Quest II Minolta CR-400 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) cihazı kullanılarak  $L^*$  değeri [(0) siyah-(100) beyaz],  $a^*$  değeri [(+) kırmızı- (-) yeşil] ve  $b^*$  değeri [(+) sarı- (-) mavi] cinsinden ölçülmüştür. Bisküvilerin renk okumaları, fırın çıkışından 1 saat sonra ve her pişirmeye ait bisküvilerin üst yüzeyinde 5 farklı noktadan (merkez ve kenar bölgeleri) olacak şekilde yapılmıştır. Ayrıca, bisküvi örneklerinin çapları ve kalınlıkları dijital kumpas (0.001 mm Mitutoyo, Minoto-Ku, Tokyo, Japan) kullanılarak ölçülmüştür. Bisküvinin yayılma oranı ise, çap değerinin kalınlığa bölünmesi ile hesaplanmıştır (AACC, 1990). Bisküvi örneklerinin kırılma kuvveti değerleri, ürünler fırından çıkarıldıktan 2 s sonra ölçülmüştür. Kırılma kuvveti değerlerinin belirlenmesinde tekstür analiz cihazı (TA-XT plus, Stable Microsystems, UK) kullanılmış olup, 3 nokta kırılma testi (three point bend rig) tekniğine göre kırılma kuvveti değerleri (g) tespit edilmiştir (AACC, 1990). Tekstür cihazında kullanılan parametreler ise, şu şekildedir: Load cell: 30 kg, ön-test hızı: 1.0 mm/s, test hızı: 3.0 mm/s, son-test hızı: 10.0 mm/s, uzaklık: 5 mm, trigger kuvveti: 50 g.

##### Kimyasal Analizler

Denemelerde kullanılan bisküvilik un ve albedo örneklerinin su miktarı tayini AACC 44-19'ye, ham protein tayini AACC 46-12'ye, kül tayini AACC 08-01'ye, ham lif miktarı ise AACC 32-10'ye göre belirlenmiştir (AACC, 1990). Toplam

mineral madde içeriği belirlenirken, 0.5 g örnekler, 10 mL HNO<sub>3</sub>+H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kullanılarak mikrodalga (Mars 5, CEM Corporation, USA) yaş yakma metoduyla yakılarak elde edilen süzüklerde mineral madde içerikleri ICP-AES (Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry) cihazında (Vista Series, Varian International, AG, İsviçre) tayin edilmiştir (Skujins, 1998). Toplam fenolik madde içeriği, Folin-Ciocalteu Metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir. Tüm örnekler (200 mg), asitlendirilmiş metanol (HCl/metanol/su, 1:80:10, h/h) içerisinde (4 mL), 2 s süre ile bir çalkalamalı su banyosunda (24 ± 1°C) çalkalanarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra bu karışım, 3000 rpm'de 10 dk süre ile santrifüj edilmiş ve elde edilen supernatant kullanılarak toplam fenolik madde içeriği tespit edilmiştir. Analizde 0.1 mL supernatant örnek, 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (% 10'luk, h/h, suda) ve 1.5 mL sodyum karbonat çözeltisi (% 20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılmış, 2 s oda sıcaklığında (24±1°C) inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda da çözeltilerin absorbanans değerleri 760 nm'de spektrofotometrede (Libra S60, Biochrom Ltd., Cambridge, England) okunmuş ve toplam fenolik madde miktarı gram ekstrede µg gallik aside (µg GAE/g) eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır (Gamez-Meza vd., 1999).

### İstatistiksel analizler

Araştırma sonunda elde edilen veriler varyans analizine tabi tutularak, farklılıkları istatistiksel olarak önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise, Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ( $P < 0.05$ ) karşılaştırılmıştır (Düzgüneş vd., 1987).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Hammadde Özellikleri

Bisküvi üretiminde kullanılan buğday unu ve turuncgil albedolarının analitik analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1'de verilen bilgilere paralel olarak, Doğan ve Uğur (2005)'da bisküvi yapımında, % 0.53 kül, % 10.3 protein ve % 14.0 nem içeriğine sahip bisküvilik un kullandığını bildirmiştir. Bisküvilik un ve turuncgil albedoları karşılıklı incelendiğinde; ham lif ve kül miktarları bakımından, buğday ununa göre albedoların daha yüksek olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, albedoların bisküviye ikame edildiği

miktara bağlı olarak bisküvinin kül ve ham lif miktarını artırması beklenmektedir. Renk değerleri incelendiğinde turuncgil albedolarının  $L^*$  (parlaklık) değeri, bisküvilik una göre düşüktür.  $a^*$  değeri incelendiğinde ise; limon albedosu hariç, diğer tüm albedoların  $a^*$  değerinin bisküvilik una göre daha yüksek kırmızılık değerleri verdiği belirlenmiştir. Ayrıca tüm turuncgil albedolarının renk  $b^*$  değerinin, bisküvilik undan daha yüksek olduğu yani daha sarı renkli oldukları belirlenmiştir. Genel olarakta, buğday ununa göre, albedoların daha koyu-sarı renkli hammaddeler olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, turuncgil albedolarının, fosfor miktarı hariç diğer tüm mineral madde miktarlarının, bisküvilik una göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (Çizelge 1).

### Bisküvi Fiziksel Özellikleri

Çap, kalınlık ve yayılma oranı değerleri bisküvinin teknolojik kalitesinin belirlenmesi açısından önemli değerler olup, çapı geniş, yayılması yüksek ve kalınlığı düşük bisküviler tercih edilmektedir. Ancak aşırı yayılma da, pratikte çok istenen bir durum değildir. Ayrıca, bisküvinin deformasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanan sertlik ve dayanıklılık gibi tekstürel özellikler fırın ürünlerinde oldukça önemlidir. Çünkü tüketicinin tazelik algısıyla bisküvinin tekstürel özellikleri arasında kuvvetli bir ilişki vardır (Ahlborn vd., 2005; Demir, 2014). Bisküvilerin çap değerleri 54.07-57.30 mm, kalınlık değerleri 7.85-9.07 mm, yayılma oranı 6.10-7.14 ve sertlik değerleri ise 2315.48-4362.92 g-kuvvet arasında değişim göstermiştir. Taş (2011) bisküvi üretiminde çap değerlerini 62.60-69.13 mm, kalınlık değerlerini 8.51-9.67 mm, yayılma oranlarını 6.52-8.10 ve sertlik değerlerini ise 1797.70-2498.77 g-kuvvet olduğunu tespit etmiştir. Beğen (2012) yapmış olduğu lüpen kepeği ilaveli bisküvi çalışmasında; çap değerleri 61.32-70.70 mm, kalınlık değerleri 8.29- 10.67 mm, yayılma oranı değerleri 6.03-8.28 ve sertlik değerleri ise 2700-7526 g-kuvvet olduğunu bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla, bu literatür bilgileri örtüşmektedir. Üretimi gerçekleştirilen bisküvi örneklerinin çap, kalınlık, yayılma oranı ve sertlik değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2'ye göre; istatistiksel olarak ( $P < 0.05$ ) en büyük bisküvi çap değerleri limon albedosu ikamelilerde, en küçük çap değeri ise

portakal albedosu ikameli örneklerde elde edilmiştir. Albedo çeşitlerinin; bisküvi kalınlık, yayılma oranı ve sertlik değerleri üzerine istatistiki olarak etkisi bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Albedo oranının artmasına bağlı olarak; bisküvi sertlik değerinin arttığı, çap ve kalınlık değerlerinin

azaldığı, yayılma oranı üzerine ise istatistiki olarak etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Can (2015) yaptığı çalışmada, portakal kabuğu tozu oranının artmasıyla, bisküvilerin çap, kalınlık, esneklik ve parlaklığının azaldığı, bisküvilerin giderek koyulaştığı ve sertleştiğini tespit etmiştir.

Çizelge 1. Hammaddelerin kimyasal kompozisyonu<sup>1</sup> (ortalama±standart sapma)

Table 1. Chemical composition of raw materials<sup>1</sup> (mean values±standard deviation)

Özellikler Properties	Bisküvilik un Cookie flour	Portakal albedo Orange albedo	Mandalina albedo Mandarin albedo	Limon albedo Lemon albedo	Greyfurt albedo Grapefruit albedo	
Su (%) Moisture (%)	11.79±0.06	7.39±0.23	7.97±0.26	7.98±0.32	5.81±0.25	
Protein (%) <sup>2</sup> Protein (%) <sup>2</sup>	9.94±0.12	3.96±0.09	3.81±0.06	3.65±0.06	3.67±0.16	
Kül (%) Ash (%)	0.59±0.01	2.70±0.05	2.87±0.16	3.00±0.02	3.35±0.13	
Ham lif (%) Crude Fiber (%)	0.49±0.01	23.23±0.31	23.14±0.71	24.76±0.35	25.81±0.47	
Renk Color	L*	93.45± 0.06	85.00±4.07	81.72±0.17	92.17±0.27	93.39±0.04
	a*	-0.85±0.05	-0.58±0.11	-0.71±0.02	-1.72±0.03	-0.75±0.05
	b*	8.94±0.07	28.39±0.39	30.52±0.11	22.09±0.11	27.47±0.23
Mineral madde (mg/100g) Minerals (mg/100g)	Ca	34.42 ±1.71	287.13±21.37	248.66±10.09	241.30±42.19	126.91±2.89
	K	154.31±2.72	653.24±31.41	634.12±15.56	605.53±9.67	572.61±24.23
	Mg	42.67±0.44	74.92±3.58	68.47±2.69	91.07±1.82	63.28±0.40
	P	183.09±3.68	44.33±2.04	43.05±0.93	64.96±0.52	53.94±1.70
	Fe	1.78±0.06	8.55±0.27	7.57±0.17	10.34±0.15	9.09±0.56
	Zn	0.87±0.16	3.44±0.04	2.59±0.28	5.98±0.33	1.55±0.26

<sup>1</sup>Sonuçlar kuru madde esasına göre verilmiştir, iki tekerrürün ortalamasıdır ve standart sapmaları ile verilmiştir.

<sup>2</sup>Protein çevirim faktörü; bisküvilik un=N×5.70, Albedo=N×6.25.

<sup>1</sup>Values are dry weight basis. Results are the average of two trials ± standard deviation. <sup>2</sup>Protein conversion factors; N × 5.7 for wheat flour; N × 6.25 for albedos.

Üretilen bisküvilerin L\* değerleri 62.63-73.98, a\* değerleri 1.90-8.19 ve b\* değerleri ise 25.45-28.52 arasında değişim göstermiştir. Doğan ve Uğur (2005) yaptıkları bir çalışmada; bisküvilerin L\* değerinin 64-71, a\* değerinin 2-7.5 ve b\* değerinin ise 20-25.5 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde edilen verilere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları ise Çizelge 3'te özetlenmiştir. Çizelge 3'e göre; en yüksek L\* değeri greyfurt albedosu ikameli örneklerde iken, en yüksek a\* ve b\* değerleri portakal albedosu ikameli bisküvi örneklerinde tespit edilmiştir. Ayrıca en düşük L\* değeri limon albedosu ikameli, en düşük a\* ve b\* değerleri ise mandalina

albedosu ikameli bisküvilerde tespit edilmiştir. Albedo ikame oranında artışa gidildikçe de; istatistiki olarak ( $P < 0.05$ ) parlaklık değerinin azaldığı, daha kırmızı renkli son ürünlerin elde edildiği belirlenmiştir. Can (2015) yaptığı bir çalışmada bisküviye katılan liflerin β-karoten gibi renk verici bileşenler içerdikleri için parlaklığın azalması ve bisküvinin koyulaşmasına neden olduğunu bildirmiştir. Bu durumun olası nedeni ise, albedo tabakasının alınması işleminde meyvenin flavedo tabakasından gelen bazı bioaktif bileşikler ve albedoların yüksek miktarda lif içeriğine sahip olması düşünülmektedir.

Çizelge 2. Bisküvilerin fiziksel özellikleri üzerine turunçgil albedoların etkisi<sup>1</sup>  
 Table 2. Effect of citrus albedos on the physical properties of cookies<sup>1</sup>

Faktör	Albedo çeşit/oran	Çap (mm)	Kalınlık (mm)	Yayıma Oranı	Sertlik (g)
Factor	Albedo type/ratio	Diameter (mm)	Thickness (mm)	Spread ratio	Hardness (g)
Turunçgil çeşidi	Portakal Orange	55.53 <sup>c</sup>	8.49 <sup>a</sup>	6.55 <sup>a</sup>	3105.59 <sup>a</sup>
	Mandalina Mandarin	55.88 <sup>ab</sup>	8.58 <sup>a</sup>	6.52 <sup>a</sup>	3402.12 <sup>a</sup>
Citrus type	Limon Lemon	56.31 <sup>a</sup>	8.47 <sup>a</sup>	6.67 <sup>a</sup>	3308.26 <sup>a</sup>
	Greyfurt Grapefruit	55.75 <sup>bc</sup>	8.51 <sup>a</sup>	6.55 <sup>a</sup>	3385.40 <sup>a</sup>
Oran (%)	0	56.93 <sup>a</sup>	8.79 <sup>a</sup>	6.48 <sup>a</sup>	2726.45 <sup>b</sup>
	2.5	56.42 <sup>a</sup>	8.46 <sup>abc</sup>	6.68 <sup>a</sup>	3082.69 <sup>b</sup>
	5.0	55.82 <sup>b</sup>	8.64 <sup>ab</sup>	6.46 <sup>a</sup>	3503.75 <sup>a</sup>
Ratio (%)	7.5	55.24 <sup>c</sup>	8.40 <sup>bc</sup>	6.58 <sup>a</sup>	3480.67 <sup>a</sup>
	10.0	54.92 <sup>c</sup>	8.27 <sup>c</sup>	6.67 <sup>a</sup>	3708.17 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ), averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ ).

Çizelge 3. Bisküvilerin renk özellikleri üzerine turunçgil albedoların etkisi<sup>1</sup>  
 Table 3. Effect of citrus albedos on the color properties of cookies<sup>1</sup>

Faktör	Albedo çeşit/oran	L*	a*	b*
Factor	Albedo type/ratio			
Turunçgil Çeşidi	Portakal Orange	68.04 <sup>ab</sup>	5.70 <sup>a</sup>	27.48 <sup>a</sup>
	Mandalina Mandarin	67.99 <sup>b</sup>	4.78 <sup>b</sup>	26.35 <sup>b</sup>
Citrus type	Limon Lemon	66.96 <sup>b</sup>	5.55 <sup>ab</sup>	26.62 <sup>ab</sup>
	Greyfurt Grapefruit	69.69 <sup>a</sup>	4.79 <sup>b</sup>	27.31 <sup>a</sup>
Oran (%)	0	73.30 <sup>a</sup>	2.50 <sup>d</sup>	26.74 <sup>a</sup>
	2.5	69.37 <sup>b</sup>	4.51 <sup>c</sup>	26.57 <sup>a</sup>
	5.0	67.46 <sup>c</sup>	5.59 <sup>b</sup>	27.05 <sup>a</sup>
Ratio (%)	7.5	65.70 <sup>d</sup>	6.64 <sup>a</sup>	27.17 <sup>a</sup>
	10.0	65.01 <sup>d</sup>	6.80 <sup>a</sup>	27.17 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ), averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ ).

**Bisküvi Örneklerinin Kimyasal Değerleri**

**Kül:** Üretilen bisküvilerin kül değerleri % 1.22-1.70 arasında değişim göstermiştir. Yıldız (2012) bir çalışmada bisküvilerin kül değerleri dağılımını % 1.35-1.71 olduğunu tespit etmiştir. Uysal (2005) besinsel liflerin bisküvi kalitesi üzerine etkilerini incelediği çalışmada; bisküvilerin kül değerleri dağılımını % 1.26-1.79 arasında bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla literatür bilgileri örtüşmektedir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 4); istatistiksel olarak en yüksek kül miktarı ortalaması greyfurt ve limon albedosu ikameli bisküvi örneklerinde tespit edilmiştir. Ayrıca albedo ikamesinin arttıkça, kül miktarı da

artmıştır. Bunun muhtemel sebebi, turunçgil albedoları bisküvilik una kıyasla daha yüksek organik ve inorganik içeriğine sahip olmasıdır. Bilgiçli vd. (2014)'de, albedoların kül içeriğinin buğday ununa göre daha üstün olduğunu bildirmiştir. Bu durum son ürün olan bisküvi örneklerinin kül miktarının artmasındaki en önemli nedenlerden biridir. Dilek ve Bilgiçli (2016) yaptıkları bir çalışmada, bisküvide göleveze oranı arttırıldıkça kül değerlerinde artış olduğunu bildirmiştir. Srivastava (2010)'da hindistan cevizi küspesini bisküviye ikame ettiği çalışmada bisküvi örneklerinin kontrol grubuna göre, daha yüksek miktarda kül içerdiğini bildirmiştir.

Çizelge 4. Bisküvilerin kimyasal özellikleri üzerine turunçgil albedoların etkisi<sup>1</sup>Table 4. Effect of citrus albedos on the chemical properties of cookies<sup>1</sup>

Faktör	Albedo çeşit/oran	Kül (%)	Ham Protein (%)	Ham Lif (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g)
Factor	Albedo type/ratio	Ash (%)	Crude Protein (%)	Crude Fiber (%)	Total phenolic content (µg GAE/g)
Turunçgil Çeşidi	Portakal Orange	1.36 <sup>b</sup>	4.76 <sup>a</sup>	1.81 <sup>b</sup>	1156 <sup>bc</sup>
	Mandalina Mandarin	1.39 <sup>b</sup>	4.72 <sup>ab</sup>	1.84 <sup>b</sup>	1179 <sup>ab</sup>
Citrus type	Limon Lemon	1.42 <sup>a</sup>	4.64 <sup>b</sup>	1.91 <sup>a</sup>	1121 <sup>c</sup>
	Greyfurt Grapefruit	1.44 <sup>a</sup>	4.69 <sup>ab</sup>	1.97 <sup>a</sup>	1232 <sup>a</sup>
Oran (%)	0	1.25 <sup>e</sup>	5.26 <sup>a</sup>	0.54 <sup>e</sup>	735 <sup>e</sup>
	2.5	1.31 <sup>d</sup>	4.95 <sup>b</sup>	1.21 <sup>d</sup>	902 <sup>d</sup>
	5.0	1.37 <sup>c</sup>	4.71 <sup>c</sup>	1.83 <sup>c</sup>	1245 <sup>c</sup>
Ratio (%)	7.5	1.47 <sup>b</sup>	4.40 <sup>d</sup>	2.65 <sup>b</sup>	1396 <sup>b</sup>
	10.0	1.61 <sup>a</sup>	4.19 <sup>e</sup>	3.18 <sup>a</sup>	1580 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ), averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ ).

**Ham protein:** Bisküvilerin ham protein değerleri % 4.01-5.36 arasında değişim göstermiştir. Uysal (2005) yaptığı bir çalışmada, bisküvilerin ham protein değerleri dağılımını % 3.33-5.96 arasında olduğunu bildirmiştir. Özkaya vd. (1984) yaptıkları bir çalışmada, bisküvilerin ortalama protein miktarını % 6.9 olarak tespit etmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlarla, bu literatür bilgileri

örtüşmektedir. Çizelge 4'te sunulan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına bakıldığında; mandalina ve greyfurt albedosu ikameli bisküvilerin, ham protein değeri ortalamaları açısından istatistiki olarak birbirine ( $P > 0.05$ ) benzer değerler verdiği, portakal albedosu ikameli bisküvilerin ise en yüksek ham protein değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Albedo ikame oranı

arttıkça da, bisküvi örneklerinin ham protein miktarının bariz bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bunun muhtemel sebebi de; bisküvilik unların protein miktarının albedolara kıyasla daha yüksek olmasıdır (Çizelge 1). Bu durum albedo ikamesiyle birlikte bisküvi örneklerinin ham protein miktarının düşmesine sebep olmaktadır. Agama vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada bisküvide ham muz unu kullanıldığında bisküvinin diyet lifi içeriği artarken, protein miktarının azaldığını bildirmiştir.

**Ham lif:** Bisküvilerin ham lif değerleri % 0.52-3.37 arasında değişim göstermiştir. Baljeet vd. (2010) karabuğdayın bisküvi üretiminde kullanımını inceledikleri çalışmalarında, bisküvilerin ham lif miktarını % 0.62-2.11 arasında tespit etmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla, bu literatür bilgileri örtüşmektedir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 4); portakal ve mandalina albedosu ikameli bisküviler, ham lif değeri açısından istatistiki olarak ( $P >0.05$ ) birbirine benzer değerler vermişken, greyfurt ve limon albedolu bisküviler de bu değer açısından istatistiki olarak birbirine benzerlik göstermiştir. En yüksek ham lif miktarı ortalaması, greyfurt albedosu ikameli bisküvi örnekleri vermiştir. Üretilen bisküvilerin albedo ikamesinin artmasına bağlı olarak, ham lif miktarının da arttığı tespit edilmiştir. Albedolar bisküvilik una kıyasla daha yüksek ham lif içeriğine sahiptir. Çünkü turungil albedoları özellikle de selüloz, diyet lifi ve pektin içeriği ile dikkat çeken yan ürünlerdir (Bilgiçli vd., 2014). Bu durum bisküvi örneklerinin ham lif miktarının artmasındaki en önemli nedenlerden biridir. Srivastava (2010) hindistan cevizi küspesini bisküviye ikame ettiği çalışmada, kontrol grubuna göre daha yüksek miktarda ham lif elde etmiştir.

**Toplam fenolik madde:** Bisküvilerin toplam fenolik madde miktarı 689-1677  $\mu\text{g}$  GAE/g arasında değişim göstermiştir. Demir (2014) yaptığı bir çalışmada, tam buğday unu ilaveli bisküvilerin toplam fenolik içeriklerinin ortalama değerlerini 713.68-1333.01  $\mu\text{g}$  GAE/g arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Çizelge 4'e göre; istatistiksel olarak ( $P <0.05$ ) en yüksek toplam

fenolik madde miktarları, greyfurt albedosu ikameli bisküvi örneklerinde (1232  $\mu\text{g}$  GAE/g) elde edilmiştir. Bunu ise sırasıyla mandalina, portakal ve limon albedosu ikameli bisküvi örneklerinin değerleri takip etmiştir. Üretilen bisküvilerin albedo ikamesinin artmasına bağlı olarak toplam fenolik madde miktarının da arttığı tespit edilmiştir. Magda (2008), mandalina ve yafa portakalını bisküvi üretiminde kullandığı çalışmada, ilave miktarının artmasına bağlı olarak bisküvinin fenolik madde miktarının arttığını bildirmiştir. Bilgiçli vd. (2014), toplam fenolik madde içeriği bakımından, turuncgil albedolarının (6352.2-7110.4 mg/kg) buğday ununa (720.2 mg/kg) kıyasla oldukça üstün olduğu bildirmiştir.

**Mineral madde içeriği:** Üretilen bisküvilerin; Ca, K, Mg, P, Fe ve Zn miktarları sırasıyla 28.77-52.36 mg/100g, 130.45-175.89 mg/100g, 31.25-39.84 mg/100g, 143.22-174.45 mg/100g, 1.52-2.22 mg/100g, 0.56-0.82 mg/100g arasında bulunmuştur. Gamal vd. (2012) yaptıkları bisküvinin zenginleştirilmesi çalışmada, kontrol grubu bisküviler için kalsiyum 18.20 mg/100g, sodyum 3.15 mg/100g, potasyum 104.58 mg/100g, demir 1.50 mg/100g, çinko 0.84 mg/100g ve magnezyum 26.54 mg/100g olarak tespit etmişlerdir. % 40 oranında tahıl ve sebze unu ikamesini yapıldığında ise bu bisküvilerin aynı mineral madde miktarlarının sırasıyla; 46.87 mg/100g, 4.21 mg/100g, 470.2 mg/100g, 348.0 mg/100g, 2.54 mg/100g ve 160.0 mg/100g'a arttığını bildirmiştir. İstatistiksel ( $P <0.05$ ) bir değerlendirme yapıldığında (Çizelge 5); kalsiyum, potasyum, magnezyum ve fosfor içeriği bakımından portakal albedosu ikameli bisküviler, demir ve çinko içeriği bakımından ise limon albedosu ikameli olanlar daha zengin son ürünler vermiştir. Bisküvi üretimdeki albedo ikamesinin artmasına bağlı olarak, fosfor hariç incelenen tüm mineral madde içeriklerinin arttığı görülmüştür. Bilgiçli vd. (2014), turuncgil albedoların mineral madde bakımında da buğday ununa göre daha üstün olduğunu bildirmiştir.



Çizelge 5. Bisküvilerin mineral madde içerikleri (mg/100 g) üzerine turunçgil albedoların etkisi<sup>1</sup>  
 Table 5. Effect of citrus albedos on the mineral content (mg/100 g) of cookies<sup>1</sup>

Faktör	Albedo çeşit/oran	Ca	K	Mg	P	Fe	Zn
Factor	Albedo type/ratio						
Turunçgil Çeşidi	Portakal Orange	41.20 <sup>a</sup>	152.60 <sup>a</sup>	35.92 <sup>a</sup>	160.05 <sup>ab</sup>	1.74 <sup>c</sup>	0.66 <sup>b</sup>
	Mandalina Mandarin	39.96 <sup>a</sup>	150.81 <sup>a</sup>	34.35 <sup>b</sup>	158.97 <sup>bc</sup>	1.75 <sup>bc</sup>	0.58 <sup>c</sup>
Citrus type	Limon Lemon	38.49 <sup>b</sup>	149.00 <sup>b</sup>	35.65 <sup>a</sup>	158.55 <sup>c</sup>	1.88 <sup>a</sup>	0.73 <sup>a</sup>
	Greyfurt Grapefruit	35.81 <sup>c</sup>	145.94 <sup>b</sup>	35.30 <sup>a</sup>	160.96 <sup>a</sup>	1.80 <sup>b</sup>	0.66 <sup>b</sup>
Oran (%)	0	30.47 <sup>e</sup>	131.76 <sup>e</sup>	33.05 <sup>e</sup>	172.34 <sup>a</sup>	1.54 <sup>e</sup>	0.61 <sup>d</sup>
	2.5	34.25 <sup>d</sup>	138.45 <sup>d</sup>	34.06 <sup>d</sup>	165.60 <sup>b</sup>	1.65 <sup>d</sup>	0.62 <sup>cd</sup>
	5.0	38.63 <sup>c</sup>	148.63 <sup>c</sup>	35.14 <sup>c</sup>	159.90 <sup>c</sup>	1.75 <sup>c</sup>	0.65 <sup>bc</sup>
Ratio (%)	7.5	43.45 <sup>b</sup>	158.73 <sup>b</sup>	36.52 <sup>b</sup>	153.92 <sup>d</sup>	1.91 <sup>b</sup>	0.68 <sup>ab</sup>
	10.0	47.51 <sup>a</sup>	170.37 <sup>a</sup>	37.77 <sup>a</sup>	146.41 <sup>e</sup>	2.10 <sup>a</sup>	0.72 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ), averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ ).

## SONUÇ

Bu çalışmada fonksiyonel özelliğinin yanı sıra mineral ve fenolik maddelerce zenginliği ispatlanan portakal, mandalina, limon ve greyfurttan albedoları farklı oranlarda bisküvi üretiminde kullanılmış olup, son ürünlerinde fiziksel ve kimyasal özelliklerinin artırılması hedeflenmiştir.

Sonuç olarak; (1) bisküvilere portakal, mandalina, limon, greyfurt albedosu ikamesi ve oran artışları, örneklerinin çap ve kalınlık değerlerini düşürürken, sertlik değerlerini arttırmıştır. (2) Daha koyu kırmızı renkli ve albenisi yüksek son ürünler elde edilmiştir. (3) Kimyasal özellikleri bakımından da; albedo ikamesiyle örneklerde kül, ham lif, toplam fenolik madde, Ca, K, Mg, Fe ve Zn mineral içeriklerinin arttığı, kimyasal özelliklerinin geliştiği belirlenmiştir. Dolayısıyla; kimyasal özellikleri geliştirilmesi bakımından %10, fiziksel özelliklerinin korunması açısından ise % 5 oranında albedoların kullanımının, uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Teknolojik özelliklerle itibariyle de; gerek kimyasal özelliklerinin

geliştirilmesi, gerekse fiziksel özelliklerinin kontrol grubuna göre kıyaslanabilir nitelikte olması açısından, maksimum % 5 oranına turunçgil albedosunun kullanımı önerilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma; Halil DEMİREL'in yüksek lisans tez çalışması olup, Necmettin Erbakan Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından 161319016 proje numarası ile maddi olarak desteklenmiştir. İlgili birime katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

AACC (1990). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC. 8<sup>th</sup> Edition, Saint Paul, Minnesota, USA.

Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J.J., Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L.A. (2012). Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. *Lwt-Food Sci Technol*, 46 (1): 177-182. doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.010.

- Ahlborn, G.J., Pike, O.A., Hendrix, S.B., Hess, W.M., Huber, C.S. (2005). Sensory, mechanical and microscopic evaluation of staling in low-protein and glutenfree breads. *Cereal Chem*, 82(3): 328-335. doi.org/10.1094/CC-82-0328.
- Anonim (2010). Türk Standartları Enstitüsü, Bisküvi standardı (TS 2383), Ankara.
- Baljeet, S.Y., Ritika, B.Y., Roshan, L.Y. (2010). Studies on functional properties and incorporation of buckwheat flour for biscuit making. *Inter Food Res J*, 17(4): 1067-1076.
- Beğen, F. (2012). Yüksek lif içerikli bisküvi üretiminde lüpen (*Lupinus albus L.*) kepeği kullanımı üzerine bir araştırma. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 101 s.
- Bilgiçli, N., Aktaş, K., Levent, H. (2014). Utilization of citrus albedo in tarhana production. *J Food Nutr Res*, 53(2) 162-170.
- Can, F. (2015). Portakal kabuğu tozunun bisküvi hamuru ve bisküvi kalitesi üzerine etkilerinin incelenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye, 73 s.
- Çoksever, E. (2009). Farklı oranlarda turunc albedosu ilavesinin sucuk kalitesi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 99 s.
- Demir, M.K. (2014). Tam buğday ununun bisküvi üretiminde kullanım imkanları. Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü Proje No: 131219005, Konya, Türkiye, 47 s.
- Dilek, N.M., Bilgiçli, N. (2016). Gölevez ununun bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Türkiye 12. Gıda Kongresi, 05-07 Ekim 2016, Edirne, Türkiye, 482 s.
- Doğan, İ.S., Uğur, T. (2005). Van ve çevresinde yetiştirilen bazı buğdayların bisküvilik kalitesi üzerine bir araştırma. *Yüzüncü Yıl Üni Tarm Bilimleri Dergisi*, 15(2): 139-148.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve Deneme Metodları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1021, Ankara, 381 s.
- Galla, N.R., Pamidighantam, P.R., Karakala, B., Gurusiddaiah, M.R., Akula S. (2017). Nutritional, textural and sensory quality of biscuits supplemented with spinach (*Spinacia oleracea L.*). *International J Gastro Food Sci*, 7: 20-26. doi.org/10.1016/j.ijgfs.2016.12.003.
- Gamal, S., Aleid, S.M., Al-Otaibi, M. (2012). Nutritional quality of biscuit supplemented with wheat bran and date palm fruits. *Food and Nutr Sci*, 3: 322-328. doi.org/10.4236/fns.2012.33047.
- Gamez-Meza, N., Noriega-Rodriguez, J.A., Medina-Juarez, L.A., Ortega Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Angulo-Guerrero, O. (1999). Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grape bagasse. *J Am Oil Chem Soc*, 76: 1445-1447. doi.org/10.1007/s11746-999-0182-4
- Garcia-Estapa, R.M., Guerra-Hernandez, E., Garcia-Villanova, B. (1999). Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food Res Int*, 32(3): 217-221. doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00092-7.
- Günkaya, Z., Demirel, R., Banar, M. (2016). Portakal kabuğu atıklarından üretilen biyokompozit ambalaj filminin aflatoksinlere karşı etkisinin incelenmesi. *Pamukkale Üni Müh Bilim Derg*, 22 (6): 513-519.
- Halaç, E. (2002). Gıda kalitesi ve gıda mevzuatı ile ilgili temel kavramlar ışığında Türk ve AB gıda mevzuatının karşılaştırılması. *Akdeniz İİ BF Dergisi*, 4: 107-131.
- Koubala, B.B., Mbome L.I., Kansci, G., Mbiapo, F.T., Crepeau, M.J., Thibault, J.F., Ralet, M.C. (2008). Physicochemical properties of pectins from ambarella peels obtained using different extraction conditions. *Food Chem*, 106(3): 1202-1207. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.065.
- Magda, R.A., Awad, A.M., Selim K.A. (2008). Evaluation of mandarin and navel orange peels as natural sources of antioxidant in biscuits. *Alex J Fd Sci Technol*, Special volume: 75-82.

- Özkaya, H., Seçkin, R., Ercan, R. (1984). Bazı bisküvi çeşitlerinin kimyasal özellikleri ile mineral ve vitamin içerikleri üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 9(5): 245- 251.
- Schröder, R., Clark C.J., Sharrock, K., Hallett I.C., MacRae, E. A. (2004). Pectins from the albedo of immature lemon fruitlets have high water binding capacity. *J Plant Physiol*, 161(4): 371-379. doi.org/10.1078/0176-1617-01275.
- Sinclair, W.B. (1984). *The Biochemistry and Physiology of the Lemon and Other Citrus Fruits, Division of Agriculture and Natural Resources, University of California Publication*, California, USA, 946 p.
- Skujins, S. (1998). *Handbook for ICP – AES (Vartian-Vista)*. A short guide to vista series ICP – AES operation, Variant International, version 1.0, Switzerland.
- Srivastava, Y., Semwal, A.D., Sharma G.K., Bawa, A.S. (2010). Effect of virgin coconut meal (VCM) on the textural, thermal and physico chemical properties of biscuits. *Food and Nutr Sci*, 2: 38-44. doi:10.4236/fns.2010.12007.
- Sudha, M.L.R., Vetrimani, K., Leevathi, K. (2007). Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. *Food Chem*, 100(4): 1365-1370. doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.013.
- Şeker, T., Gökbulut, İ., Öztürk, S., Özbaş, Ö.Ö., Köksel, H. (2006). Enzime dirençli nişastanın bisküvi üretiminde kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 22-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye, 157s.
- Taş, E. (2011). Bisküvi üretiminde bazı kabartıcı kombinasyonlarının bisküvinin kalitatif özelliklerine etkisi üzerine bir araştırma. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 79 s.
- Türksoy, S. (2011). Meyve ve sebze lif konsantreleri ilavesinin hamurun reolojik özellikleri ve bisküvi kalitesine etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Konya, Türkiye, 118 s.
- Uysal, L.H. (2005). Farklı kaynaklardan elde edilen besinsel liflerin bisküvi kalitesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 80 s.
- Ünal, S.S. (1991). *Hububat teknolojisi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, yayın no:29, İzmir, 216 s.
- Yıldız, M. (2012). Karabuğday (*Fagopyrum esculentum Moench*) ve lüpen (*Lupinus albus L.*) unlarının glutensiz bisküvi üretiminde kullanımı üzerine bir araştırma. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye, 97 s.

## SU AKTİVİTESİNİN VE FARKLI KURUTMA SİSTEMLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN STABİLİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Aslı Yıldırım, Mustafa Duran, Mehmet Koç\***

Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09010, Aydın, Türkiye

Geliş / *Received*: 30.01.2018; Kabul / *Accepted*: 12.04.2018; Online baskı / *Published online*: 18.05.2018

Yıldırım, A., Duran, M., Koç, M.. (2018). Su aktivitesinin ve farklı kurutma sistemlerinin biyoaktif bileşenlerin stabiliteeleri üzerine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (3): 512-522 doi: 10.15237/gida.GD18023

### ÖZ

Gıdaların yapısında bulunan temel bileşenlerden biri olan su, gıdanın kalite özellikleri ve genel kabul edilebilirliği üzerinde son derece etkilidir. Ancak gıdanın yapısını ve depolama stabilitesini etkileyen fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve enzimatik reaksiyonlar göz önüne alındığında gıdanın yapısında yer alan su miktarından çok su aktivitesi ( $a_w$ ) ifadesi önem kazanmaktadır. Pek çok gıdanın yapısında yer alan fenolik bileşikler başta olmak üzere, terpen ve terpenoidler ile alkaloidler gibi biyoaktif bileşenler su aktivitesinden etkilenmektedirler. Kurutma ve dondurma gibi prosesler ile ortama şeker veya tuz ilavesi gibi uygulamalarla suyun moleküler mobilitesi azaltılarak raf ömrü artırılmaktadır. Su aktivitesinin yüksek olması özellikle fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşenlerin depolama stabiliteelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Enkapsülasyon teknolojisi ile gıda maddesi bir kaplama materyali ile immobilize edilmekte ve su aktivitesi düşürülerek biyoaktif bileşenlerin depolama stabiliteeleri artırılmaktadır. Bu derlemede gıdaların yapısında yer alan bazı biyoaktif bileşenler üzerine  $a_w$ 'nin etkileri ile ilgili bilgi verilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biyoaktif bileşenler, enkapsülasyon, su aktivitesi

## THE EFFECT OF WATER ACTIVITY AND DIFFERENT DRYING SYSTEMS ON THE STABILITY OF BIOACTIVE COMPOUNDS

### ABSTRACT

Water, attributed as a major component of many foodstuffs, is considerably influential on quality characteristics and overall acceptability of foodstuffs. However, considering the physical, chemical, microbiological and enzymatic reactions that affect the structure and storage stability of a food, the term water activity ( $a_w$ ) becomes crucial instead of water content of the foodstuff. Many phenolic compounds, including terpenes and terpenoids and alkaloids are mainly affected by  $a_w$ . Different approaches, including freezing and drying processes and the addition of sugar or salt, are applied to reduce the molecular mobility and thus to increase shelf life. High  $a_w$  lead to a poor storage stability of bioactive compounds such as phenolics. Using encapsulation technology, the foodstuff is immobilized within a coating material and the storage stability of the bioactive components is increased by reducing  $a_w$ . In this review, general information is provided about the effects of  $a_w$  on food bioactive components stability.

**Keywords:** Bioactive compounds, encapsulation, water activity

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ mehmetkoc@adu.edu.tr

☎ (+90) 256 213 7503

☎ (+90) 256 213 6686

### GİRİŞ

Su, gıdaların güvenilirliğini, stabilitesini, kalitesini ve fiziksel özelliklerini etkileyen temel bileşenlerden biri durumundadır (Lewicki, 2004). Gıdaların yapısında yer alan suyun miktarı oldukça geniş bir aralıkta yer almakta olup, %98'lerin üzerine çıkabilmektedir. 1950'li yıllardan önce su içeren gıdaların pek çok özelliği "su içeriği" üzerinden ifade edilmiştir. Ancak su içeriğinden ziyade "su aktivitesi" ( $a_w$ ) ifadesinin fizyolojik işleyiş, teknolojik performans ve kalite üzerine daha doğru bir ölçüm sağladığı ifade edilmektedir (Slade vd., 1991). Gıdanın nem içeriğinden ziyade su aktivitesinin ( $a_w$ ) referans parametre olarak alınmasının başlıca nedenleri; su aktivitesinin mikroorganizmaların gelişimi üzerine belirleyici faktör olması, su aktivitesinin fiziksel, kimyasal ve enzimatik pek çok degradasyon reaksiyonu üzerine etkili olması, karmaşık gıda sistemlerinde nem migrasyonunun nem miktarından çok su aktivitesi ile ilişkili olması, nem sorpsiyon izotermelerinden elde edilen tek tabakanın kurutulmuş gıdaların nem içeriği ile ilgili bir gösterge olması ve su aktivitesi ölçümünün nem miktarı ölçümünden daha kolay olması ile birlikte ölçümün gıdaya herhangi bir zarar vermemesi olarak belirtilmektedir (Maltini vd., 2003).

Son yıllarda gıda endüstrisi daha sağlıklı ve daha besleyici gıdaların araştırılması ve geliştirilmesine odaklanmış durumdadır (Madureira vd., 2014). Sağlık üzerine olan olumlu etkileri çeşitli çalışmalarda bildirilmiş olan biyoaktif bileşenler, fizyolojik ve hücrel aktiviteleri etkileyerek fonksiyonel özellik gösteren ikincil metabolitlerdir. Fitokimyasallar olarak da adlandırılan biyoaktif bileşenler bitki ekstraktlarından elde edilmekte olup üç ana kategoride sınıflandırılmaktadırlar. Bunlar; terpen ve terpenoidler, alkaloidler ve fenolik bileşiklerdir (Lagos vd., 2015). Bu derlemede fenolik bileşikler başta olmak üzere, gıda maddelerinin yapılarında yer alan biyoaktif bileşiklerin stabiliteyi üzerine su aktivitesinin etkisine ve stabiliteyi arttırmaya yönelik çalışmalara ilişkin bilgi sunulmuştur.

### Su aktivitesinin fenolik bileşikler üzerine etkisi

Fenolik bileşikler sekonder bitkisel metabolitler olup; meyve, sebze ve diğer gıdaların hem duyuşal

hem de besleyicilik özelliklerini önemli düzeyde etkilemektedirler. Meyve, sebze, kahve, çay, bira, şarap ve çikolata gibi pek çok gıdada bulunan fenolik bileşikler yapılarına göre dört temel gruba ayrılmaktadırlar. Bunlar fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlardır (Maqsood vd., 2014; Zhao vd., 2016).

Fenolik bileşiklerin sağlık açısından kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve nörodejeneratif rahatsızlıklar gibi dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği literatürde bildirilmiştir (Xiao vd., 2013). Fenolik bileşiklerin bu özellikleri antioksidatif özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (Zhao vd., 2016).

Polifenollerin sağlığa yararlı özelliklerini muhafaza etmek amacıyla yaygın olarak uygulanan yöntemlerden bir tanesi, bir matriks veya membran içerisine katı partiküller şeklinde enkapsüle edilmeleridir (Rijo vd., 2014). Enkapsülasyon işlemi genel olarak işleme ve depolama sırasında biyoaktif bileşenlerin stabiliteyi korumak amacıyla gerçekleştirilmektedir. Enkapsülasyon prosesi aynı zamanda, gıda matrisleri ile istenmeyen reaksiyonları önlemekte, bu sayede stabiliteyi arttırmakta ve enkapsüle edilmiş bileşiğin kontrollü salınımına imkan sağlamaktadır (Nedovic vd., 2011). Ek olarak enkapsülasyon işlemi ile birlikte arzu edilmeyen tat ve aromaya neden olan bileşikler maskelenebilmekte ve aktif bileşiklerin biyoaktif formlarda gastrointestinal sistemde salınımlarının gerçekleşmesi sağlanmaktadır (Stojanovic vd., 2012; McClements, 2015). Gıdaların yapısında bulunan biyoaktif bileşenler de fenolik bileşikler başta olmak üzere depolama esnasında stabilitenin maksimum düzeyde korunabilmesi amacıyla sıklıkla enkapsüle edilmektedirler.

Çam vd. (2014) nar kabuğunda bulunan fenolik bileşikler enkapsüle edilmiş ve yapıda bulunan fenolik bileşiklerin depolama stabiliteyi artırılmış örneklerdeki fenolik bileşiklerin, enkapsüle edilmemiş olanlara göre depolama stabiliteyi artırılmış olarak bulgulanmıştır. Benzeri bir çalışma Aizpurua-Olaizola vd. (2016) tarafından yapılmış, çalışmada polifenollerce zengin olduğu

bildirilen şarap üretimi sırasında ortaya çıkan atıkların ekstraktları enkapsüle edilmiş ve depolama sırasında polifenollerin stabiliteyi araştırmıştır. Enkapsülasyon yönteminden ve uygulanan depolama koşullarından bağımsız olarak, enkapsüle edilmiş polifenollerin depolama süresince enkapsüle edilmemiş olanlara kıyasla daha stabil olduğu bulgulanmıştır. Pérez-Ramírez vd. (2015) yaptıkları çalışmada, bamya çiçeğinden (*Hibiscus sabdariffa* L.) yapılan bir içecekte bulunan fenolik maddelerin stabiliteyi üzerine stevia ve sitrik asit ilavesinin etkisini araştırmışlardır. Stevia ilavesinin depolama esnasında, ürün kalitesini olumsuz yönde etkileyen kahverengi renkli kalkonların oluşumunu azalttığı tespit edilmiş, bunun nedeninin ise su aktivitesinde meydana gelen azalma olabileceği bildirilmiştir.

Kaplama materyalinin su aktivitesine olan etkisi Laine vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada incelenmiştir. Bu çalışmada *Rubus chamaemorus*'tan elde edilen fenolik bileşikler farklı molekül ağırlığına sahip maltodekstrinler içerisine enkapsüle edilmiş ve depolama stabiliteyi incelenmiştir. Sonuç olarak maltodekstrinler arasında, molekül ağırlığının artmasıyla birlikte veya dekstroz eşdeğerliği değerinin azalmasıyla camsı geçiş sıcaklığının yükseldiği ve enkapsüle edilen meyvede bulunan tüm fenolik bileşenlerin yüksek buhar basıncına sahip ortamda depolandıklarında olumsuz etkilendikleri tespit edilmiştir. Mikroenkapsülasyon işleminin ise depolama stabilitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Mishra vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada ise bir tür erik (*Spondia pinnata*) suyu püskürtmeli kurutma yöntemi ile kurutulmuş ve depolama stabilitesi incelenmiştir. Çalışmada üretilen meyve suyu tozlarının su aktiviteyi 0.20-0.32 aralığında değişim göstermiştir. Maltodekstrin ilavesi ortamdaki serbest su miktarını azaltmış, bu durum ise üretilen toz ürünün su aktivitesinin azalmasına neden olmuştur.

Su aktivitesi özellikle camsı geçiş sıcaklığını ( $T_g$ ) doğrudan etkilemektedir.  $T_g$ , camsı faz ile plastik fazı ayıran önemli bir ifadedir. Ürünün sıcaklığı camsı geçiş sıcaklığından fazla olduğu durumlarda üründe plastikleşme meydana gelmekte ve ürünün yapısı bozulmaktadır. Depolama esnasında uçucu

bileşen kaybı yaşanmaması için matrisin camsı fazda tutulması gerekmektedir. Camsı faz ise depolama koşullarına bağlı olarak değişmekte olup, depolama esnasında nem ve sıcaklık artışı  $T_g$ 'nin düşmesine neden olmaktadır. Sagis (2015) yüksek molekül ağırlığına sahip kaplama maddelerinin kullanımının ve düşük nemin yapıda bulunan bileşenlerin moleküler difüzyonunu azalttığını ve bununla birlikte camsı geçiş sıcaklığının arttığını bildirmiştir. Mosquera vd. (2012) yaptıkları çalışmada su içeriğinin  $T_g$  ile olan ilişkisini incelemişlerdir. Deneyde çilek posası kullanılmış ve  $T_g$ 'nin 20°C olduğu kritik  $a_w$  değerini arttırmak için gam arabik veya maltodekstrin kullanılmıştır. Sonuç olarak sadece çilek posası kullanıldığında kritik  $a_w$  değeri 0.094 iken, çilek posası maltodekstrin ile birlikte kullanıldığında 0.237, gam arabik ile birlikte kullanıldığında ise 0.341 olduğu gözlenmiş ve gam arabik ilave edilen örneklerin stabilitesinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Galmarini vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada kırmızı şarap tozunun depolama esnasında fenolik bileşenlerinde meydana gelen değişim incelenmiştir. Kırmızı şarap (*Cabernet Sauvignon*) örneğine maltodextrin (DE 10) ilave edildikten sonra şarap dondurularak kurutulmuştur. Üretilen kırmızı şarap tozu 0.053 ve 0.330 su aktivitesine ( $a_w$ ) sahip ortamlarda muhafaza edilmiştir. Çalışma sonunda hem yüksek hem de düşük su aktivitesi değerlerinde şarap tozunda bulunan fenoliklerden gallik asit, kaftarik asit, kuersetin 3-G, kafeik asit ve resveratrol miktarlarının sabit kaldığı tespit edilmiştir. Benzer bir sonuç şarap tozunda bulunan kateşinler için Galmarini vd. (2013) tarafından bildirilmiş ve su aktivitesinin 0.33 olduğu durumda epigallokateşin için maksimum degradasyon (% 61) gözlenmiştir. Li vd. (2011) ise kateşin degradasyonu üzerine su aktivitesi ve sıcaklığın etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sıcaklığın degradasyon üzerine su aktivitesine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca  $a_w$  değerinin 0.41 olduğu durumda epigallokateşinin, epikateşin ve epikateşin gallata kıyasla en yüksek degradasyon oranına sahip olduğu belirlenmiştir.

Li vd. (2016) gerçekleştirdikleri bir çalışmada, etil bütirat, laktoz/peynir altı suyu protein izolatu karışımının kaplama materyali olarak kullanıldığı ortamda püskürtmeli kurutucu ile enkapsülasyon işlemi gerçekleştirerek aroma maddesi salınımının su aktivitesi ile ilişkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak  $a_w$  0.33 olduğu durumda, toz üründe herhangi bir aroma salınımı söz konusu olmazken, su aktivitesi 0.54 ve 0.65 değerlerine ulaştığında laktoz kristallenmesinden dolayı aroma toz partiküle tutunamamış ve aroma kaybı meydana gelmiştir.

Gıdanın kendisinin yanı sıra ambalaj materyali de su aktivitesi üzerine etki eden önemli bir faktördür. Maisuthisakul ve Gordon (2014) tarafından yapılan çalışmada thai mangosu çekirdeği içinden elde edilen ekstraktlar depolama süresince alüminyum folyo veya polietilen ambalajlarda muhafaza edilmiş ve depolama süresince su aktivitesi değerleri analiz edilmiştir. Çalışma sonunda polietilen ambalajda muhafaza edilen örneklerin fenolik bileşenlerinde daha yüksek oranda azalma görülmüştür. Bu durumun ise yüksek su aktivitesinden ve ortamda oksijen bulunmasından kaynaklandığı bildirilmiştir. Kayacan vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada arı poleni sıcak havada veya vakum altında kurutulmuş biyoaktif bileşenlerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Çalışmada en düşük su aktivitesi 50°C'de sıcak hava uygulanarak gerçekleştirilen kurutma işlemi sonucu elde edilmiştir, ancak yapıda bulunan fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif bileşenlerin stabilitesinin korunması açısından en uygun işlemin 45°C'de vakum altında kurutma işlemi olduğu belirtilmiştir. Wang vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada ise, farklı kurutma koşullarının fındıkta bulunan fenolik bileşikler, farklı biyoaktif bileşenler ve fındığın kalite özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen nem içeriği ve su aktivitesi değerleri uygulanan işlem koşullarına göre değişiklik göstermekle birlikte, ürün kalitesinin maksimum düzeyde muhafaza edilebilmesi için kurutma sıcaklığının ortalama düzeyde (43°C veya 49°C), bağıl nemin ise % 40 olması gerektiği vurgulanmıştır.

Literatürde yapılan çalışmalarda fenolik bileşikler üzerine depolama sırasında su aktivitesinin

etkisine ilişkin yapılan çalışmaların önemli bir kısmı antosiyaninlerin enkapsülasyonu ve depolama sırasında stabilitesini arttırmaya yoğunlaşmış durumdadır.

### **Su aktivitesinin antosiyaninler üzerine etkisi**

Antosiyaninler, doğal yapıdaki pigmentler olup flavonoidler grubuna ait olan biyoaktif bileşenlerdir. Genel olarak meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Antosiyaninler, izole edildiklerinde yapıları kararsız hale gelmekte ve kolaylıkla bozulabilmektedir (Reque vd. 2014). Literatürde yer alan farklı çalışmalarda antosiyanin stabilitesini etkileyen başlıca faktörlerin proses ve depolama sıcaklıkları, su aktivitesi ve gıda matriksi gibi etmenler olduğu bildirilmiştir (Bruijn vd. 2016).

Antosiyaninlerin ve diğer fenolik maddelerin stabilitesinin artırılması amacıyla Rocha-Parla vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada kırmızı şarap (*C. sauvignon*), dondurularak kurutulmuş ve enkapsüle edilmiştir. Ardından depolama koşullarının stabilize üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucu  $a_w$  değerinin 0.11'den 0.58'e artmasıyla birlikte fenolik bileşenlerin kayıp oranlarının önemli düzeyde arttığını göstermiştir. Bruijn vd. (2015) çileklerin depolama stabilitesini arttırmak amacıyla vakum destekli mikrodalga kurutma işlemi uygulamışlardır. Kurutma işlemi ile taze çileklerin su aktivitesi 0.99'dan 0.64'e düşürülerek depolama stabilitesinin sağlandığı görülmüştür. Ancak mikrodalga ısıtma ve depolama işlemleri esnasında en dayanıksız bileşiklerin antosiyaninler olduğu, bu durumun ise dehidrate edilmiş çileklerin kalite parametresini belirlemede kritik bir faktör olduğu vurgulanmıştır.

Khazaei vd. (2014) safran taç yaprağında bulunan antosiyaninleri ekstrakte ederek, maltodekstrin ve gam arabik ile enkapsüle etmişler ve antosiyaninlerin depolama stabilitesini incelemişlerdir. Enkapsülasyon işlemi ile  $a_w$  azaltılmış ve depolama süresince antosiyaninlerin stabilitesinin arttığı gözlemlenmiş, bu durum ise moleküler mobilitenin azalması ve camsı formdaki matriksin viskozitesinin artması ile ilişkilendirilmiştir.

Tonon vd. (2010), püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş açai (*Euterpe oleracea* Mart.) suyunun antosiyanin stabilitesine olan etkisini incelemişlerdir. Antosiyanin stabilitesinin hem sıcaklık hem de su aktivitesi ile ters orantılı olduğu, sıcaklık ve su aktivitesindeki artışın antosiyanin stabilitesini olumsuz yönde etkilediğini gözlemlemişlerdir. Bu olayı yüksek su aktivitesinin su mobilitesini arttırması ile gerçekleşen oksijen transferi hızının artması, bu durumun da antosiyanin degradasyonunu hızlandırdığı şeklinde açıklamışlardır. Castagnini vd. (2015) elmaya, yaban mersini suyundan elde ettikleri antosiyanini vakum emdirme tekniği ile emdirmişler ve örnekleri hem püskürtmeli kurutucuda hem de dondurarak kurutma yöntemi ile kurutarak bu iki ürünün antosiyanin stabilitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak dondurarak kurutulan ürünlerindeki antosiyanin stabilitesinin daha fazla olduğu gözlenmiş bunun nedeni ise dondurarak kurutulan örneklerin  $a_w$  değerlerinin püskürtmeli kurutucuda kurutulan örneklerle kıyasla daha düşük olması ile ilişkilendirilmiştir.

Kamiloğlu vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada hem tatlandırıcı ile hem de şeker kullanılarak 2 farklı tür reçel üretilmiş ve reçellerin antosiyanin miktarlarının depolama süresince nasıl değiştiği incelenmiştir. Çalışma sonunda şekerle yapılan reçellerin çok daha yüksek antosiyanini muhafaza edebildiği gözlenmiştir. Bu durumun nedeninin ise şekerle yapılan reçelin daha düşük su aktivitesine sahip olması ve düşük su aktivitesinin oksijen transfer katsayısını düşürmesi olduğu belirtilmiştir. Hernández-Herrero ve Frutos (2015), marmelatlar ile yaptıkları çalışmada, yüksek antosiyanin stabilitesi için sistemdeki su aktivitesinin düşük olması gerektiğini bildirmişlerdir. Samoticha vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise farklı kurutma metodlarının (dondurarak kurutma, vakum altında kurutma, geleneksel kurutma, mikrodalga kurutma, kombine metot ile kurutma) bir tür kirazın kimyasal kompozisyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada en düşük su aktivitesinin dondurularak kurutulan örneklerde tespit edildiği belirtilmiş olup, en yüksek antosiyanin miktarı yine aynı örneklerde tespit edilmiştir.

Degradasyon reaksiyonlarının su varlığında gerçekleştiği literatürde bildirilmektedir (Agrawal, 2013), ancak Jiménez vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada karadut suyunda bulunan antosiyaninlerin 100-140°C deki degradasyon hızlarına su aktivitesinin etkisi incelenmiş ve çalışma sonunda genel kanının aksine, yüksek sıcaklıklarda su aktivitesindeki azalışın antosiyanin degradasyonunu hızlandırdığı tespit edilmiştir. Bu durumunun nedeninin ise antosiyanin degradasyonunun, HMF ile antosiyanin molekülünün polimerizasyon reaksiyonundan kaynaklanması ve düşük su aktivitesinin HMF oluşum ve polimerizasyon reaksiyonlarını olumlu yönde etkilemesinden dolayı su aktivitesindeki azalışın antosiyanin degradasyon hızını arttırması olduğunu belirtmişlerdir. Fenolik yapıda olan ve gıda renk maddesi olarak kullanılan bir başka biyoaktif bileşik ise betalainlerdir. Kumar ve Giridhar (2016), malabar ıspanağından ekstrakte edilen betalaini maltodekstrin ile püskürtmeli kurutucuda enkapsüle ederek depolama stabilitesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda betalainin düşük su aktivitesinde yüksek stabiliteye sahip olduğunu ve su aktivitesindeki azalışın, betalain degradasyon hızını azalttığını bildirmişlerdir.

#### **Su aktivitesinin fenolik yapıda olmayan biyoaktif bileşenler üzerine etkisi**

Fenolik bileşenlerin dışında biyoaktif bileşenler içerisinde terpen ve terpenoidler ile alkaloidler yer almaktadır (Lagos vd, 2015). Terpenler, doğada en yaygın bulunan biyoaktif bileşenlerdir. Terpenler sınıfında, D-limonen, lakton, retinol,  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten gibi bileşikler yer almaktadır (Singh ve Sharma, 2015).

Soottitawat vd. (2004), D-limoneni kaplama materyalleri ile püskürtmeli kurutucuda kurutarak enkapsülasyonunu gerçekleştirmişler ve D-limonenin mikrokapsül içerisinde salınım ve oksidasyon hızlarının bağl nem ile değişimini incelemişlerdir. Çalışmada su aktivitesi bir noktaya kadar ( $\sim 0.75$ ) arttıkça salınım hızı ve oksidasyon hızı artan D-limonenin, camsı geçiş fazında su aktivitesi artışı ile birlikte oksidasyon ve salınım hızlarının keskin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir.



Bu olayın nedeni ise depolama esnasında cam kapsül matriksin plastik faza geçişine atfedilmiştir.

Bir başka önemli terpen molekülü karotenoidlerdir. Karotenoidler A vitamininin prekürsörleri olup, bitki ve meyvelerde bol miktarda bulunmaktadır. Karotenoidler sağlık üzerine olan olumlu etkilerinin yanı sıra gıdalarda renk verici madde olarak da kullanılmaktadır (Leong vd., 2017).

Rascón vd. (2011) farklı kaplama materyalleri ile enkapsülasyonunu gerçekleştirdikten sonra toz üründeki karotenoidin farklı su aktivitelerindeki depolama stabilitesini araştırmışlardır. Denemede, gam arabik ile yapılan enkapsülasyon işlemi en yüksek stabilite  $a_w$  değerinin 0.274 olduğunda gözlenmiş, soya protein izolatu ile yapılan enkapsülasyon işlemi ise en yüksek stabilite değeri  $a_w$  0.710 olduğunda tespit edilmiştir. Aynı zamanda 0.743  $a_w$  değerinden daha yüksek  $a_w$  değerlerinde mikrokapsüllerin yapısal bütünlüklerini koruyamadıkları gözlenmiş ve toz partiküllerde yapışkanlık artışı ile birlikte aglomerasyon gözlenmiştir. Su aktivitesinin 0.743 olduğu durumda daha az karotenoid degradasyonu gözlemlenmiştir. Bu durumun nedeninin ise mikrokapsüllerin hamur benzeri bir yapı kazanmaları ile oksijen transferini engellemeleri bu sayede karotenoid degradasyonunu yavaşlatmaları olduğu belirtilmiştir.

Lavelli ve Scarafoni (2012) domates kabuklarından elde ettikleri likopeni yeşil çay ekstraktlarında bulunan flavanol ile karıştırarak likopen ve flavonoidlerce zengin karışımı kuruttuktan sonra elde ettikleri ürünün depolama stabilitesini incelemek amacı ile farklı su aktivitelerinde (0.17-0.75) depolamışlardır. Maksimum likopen degradasyonu su aktivitesi 0.17 olduğunda gözlenmiş ve su aktivitesi arttıkça likopen degradasyon hızının azaldığı tespit edilmiştir. Flavonoid degradasyonunun ise  $a_w$  değeri arttıkça arttığı saptanmıştır. Çalışmada ayrıca  $a_w$  değerinin kritik değerin (0.56) üzerine çıkmasıyla birlikte antioksidan aktivitenin azalmaya başladığı gözlenmiştir. Ng vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada ise bir tür yeşil bitki (*Clinacanthus nutans* Lindau) farklı kurutma

teknikleri (güneşte kurutma ve ısıtıcı pompa destekli güneşte kurutma) ile kurutulmuş ve bu işlemlerin flavonoid miktarları ve su aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda ısıtıcı pompa destekli güneşte kurutma işlemi ile daha düşük su aktivitesi ile birlikte daha yüksek flavonoid tespit edildiği bildirilmiştir.

Fitosteroller çok çeşitli biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir. Bu nedenle diyetle ve/veya gıda zenginleştirilmesinde kullanılabilecek önemli bir sterol grubudurlar. Ancak fitosterollerin yüksek erime noktasına sahip olmaları, kireç benzeri tatları ve sudaki düşük çözünürlükleri gıdaların bu bileşikler yönünden zenginleştirilmelerini güçleştirmektedir (Tolve vd., 2017). Bu nedenle, Tolve vd. (2017) yaptıkları çalışmada fitosterollerin olumsuz özelliklerini önlemek veya azaltabilmek için bu molekülleri; peynir altı suyu protein izolatları, inülin ve kitosan ile püskürtmeli kurutucu vasıtası ile enkapsüle etmişlerdir. Çalışmada, 0.2-0.4 su aktivitesi değerlerinde enkapsüle fitosteroller elde edilmiştir. Mikrobiyal büyüme için kritik su aktivitesi (0.6) değerinden daha düşük su aktiviteleri elde edilerek mikrobiyal bozunma önlenirken, fitosterollerin oksidatif stabiliteyi arttırılamamıştır.

Sawalha vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada su aktivitesinin beta-sitosterol ve gama- oryzanol karışımının silindirik yapıda bir organojel oluşturabilme kapasitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu iki molekülün emilimi için silindirik yapının oluşumu gerekmektedir. Yağlı bir ortamda rahatlıkla silindirik yapı oluşturabilen bu iki biyoaktif bileşen emülsiyon ortamında su moleküllerinin  $\beta$ -sitosterol ile bağlanması ile  $\beta$ -sitosterol hidratlarını oluşturmakta ve hidratlanmış molekül ise silindirik yapı oluşturamadığı için emilimi azalmaktadır. % 0-25 aralığında 9 farklı tuz çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilen denemede sitosterol monohidrat oluşumunun su aktivitesi arttıkça azaldığı gözlenmiştir. Yapılan denemelerde % 25 tuz çözeltisi kullanıldığında, su aktivitesinin düşük olmasından dolayı beta sitosterollerden sitosterol monohidrat oluşumunun bir yıllık depolama süresince baskılandığı gözlenmiştir.

Su aktivitesi bazı durumlarda biyoaktif bileşiklerin oluşumunu dolaylı yoldan etkilemektedir. Örneğin lahanada bulunan bir glukosinolat olan sinigrinin, lahanada bulunan myrosinaz enzimi tarafından hidrolizi sonucu allil izotiyosiyanat açığa çıkmaktadır. Bu enzimatik reaksiyon ise su aktivitesinden doğrudan etkilenmektedir. Oliviero vd. (2012, 2014) gerçekleştirdikleri farklı çalışmalarda izotiyosiyonatin enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucu oluşumunun su aktivitesi ile değişimini incelemişlerdir. Bu çalışmalardan birincisinde, Oliviero vd. (2012) dondurarak kuruttukları, dondurulmuş brokolilerin myrosinaz aktivitesini inhibe ederek farklı su aktiviteyi (0.32-0.99) ve farklı sıcaklıklarda glukozitlerin enzimatik olmayan termal degradasyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, 60-100°C arasında su aktivitesi 0.32 olan örneklerde en düşük degradasyon hızının gerçekleştiğini, su içeriğinin artması ile de degradasyon hız sabitinin arttığını tespit etmişlerdir. 120°C deki termal degradasyonda ise termal degradasyon hızı en yüksek olan örneğin en düşük su içeriğine sahip olan örnek olduğu gözlenmiştir. Yapılan diğer çalışmada (Oliviero vd., 2014) ise brokolide bulunan myrosinaz enziminin aktivitesi üzerine su aktivitesinin ve sıcaklığın etkisi incelenmiştir. Dondurarak kurutma işlemi ile dondurulan ürün, su aktivitesi 0.10-0.96 arasında değişen 4 farklı ortamda depolanmıştır. Deney sonucunda düşük su aktivitesi olan örneğin en yüksek enzim stabilitesi gösterdiği görülmüştür.

#### **Su aktivitesinin vitaminler üzerine etkisi**

Gıdaların raf ömrünü etkileyen faktörlerden biri vitaminlerin degradasyonudur. Depolama sırasında degrade olabilen başlıca vitaminler askorbik asit, tiamin ve riboflavindir (Bell, 2007). Guiamba vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada kızılotesi destekli haşlama işleminin kurutulmuş mangonun C vitamini ve  $\beta$ -karoten miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır. Mango örneklerinin su aktivitesi kurutma işlemi ile 0.6'ya düşürülmüştür. Kurutma işlemi öncesinde kızılotesi ışınım destekli haşlama işlemi ile daha fazla C vitamininin korunabildiği ancak karotenoidlerin bu işlemde olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir. Maqsood vd. (2015) tarafından

yapılan çalışmada farklı kurutma işlemlerinin domatesin (*Lycopersicon esculentum* L.) fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Güneş altında kurutulan domatesler ile güneş enerjili kurutucuda kurutulan domateslere ait camsı geçiş sıcaklıklarının aynı olup, -12°C olduğu bulunmuştur. Ayrıca su aktivitesinin artmasıyla birlikte camsı geçiş sıcaklığının azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak, kurutma işlemi sırasında C vitamini kaybının meydana geldiği, bunun nedeninin ise C vitaminin suda çözünen bir vitamin olması ve kurutma işlemi sırasında suyun büyük ölçüde uzaklaşması olduğu belirtilmiştir. Lee ve Labuza (1975) tarafından yapılan çalışmada askorbik asit degradasyonunun su aktivitesinin bir fonksiyonu olduğu ve test edilen farklı su aktivitesi değerleri arasında (0.32-0.84) en yüksek degradasyon miktarının su aktivitesi 0.84 olduğu durumda tespit edildiği belirtilmiştir. Benzer şekilde Hiatt vd. (2010) hem sıcaklığın hem de su aktivitesinin C vitamini degradasyonu üzerine etkili olduğunu tespit etmiş ve kritik su aktivitesi değeri aşıldığında C vitamini stabilitesinin kayda değer düzeyde düştüğünü bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, bu durumun nedeninin, reaksiyon ortamının viskozitesinin düşmesiyle birlikte oksijenin ve metal iyonlarının askorbik asite daha kolay difüze olabilmesi olduğu belirtilmiştir (Bell, 2007).

Benzer şekilde, yapılan araştırmalar riboflavin ve tiamin stabilitesinin su aktivitesinden etkilendiğini ve su aktivitesinin artmasıyla birlikte degradasyon oranının arttığını göstermiştir (Bell, 2007). Rockland ve Stewart (2013), tiaminin (vitamin B<sub>1</sub>) işletme ve depolama stabilitesi üzerine yaptıkları çalışmada, tiamin molekülünün stabilitesini su aktivitesinden ziyade T<sub>g</sub>'nin belirlediğini tespit etmişler ve düşük nem içerikli gıdaların olabildiğince yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip olmalarını sağlayacak formülasyonlar kullanılarak üretilmeleri durumunda, tiaminin depolama stabilitesinin artabileceğini belirtmişlerdir. Bir başka B grubu vitamin olan riboflavinin (vitamin B<sub>2</sub>) ise düşük su aktiviteyi tamamen bozunmadan kalabildiği, su aktivitesindeki artışın ise degradasyonu hızlandırarak stabilizeyi olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (Golbach vd., 2014).

### SONUÇ

Biyoaktif bileşenler, sahip oldukları fonksiyonel özellikler nedeniyle insan diyetinde önemli bir role sahiptirler. Ancak biyoaktif bileşenlerin düşük miktarda oluşu, fiziksel, kimyasal ve enzimatik süreçlerden kolaylıkla etkilenmelerine ve gıda katkı maddesi olarak kullanımlarının kısıtlanmasına yol açmaktadır. Bu nedenle biyoaktif bileşenlerin stabiliteilerinin özellikle depolama süresince maksimum düzeyde korunabilmesi amacıyla farklı kurutma teknikleri (güneşte kurutma, dondurarak kurutma, mikrodalga veya vakum destekli kurutma, farklı kombine yöntemlerle kurutma vb.) uygulanmaktadır. Bu işlemlerin temel amacını su aktivitesinin düşürülmesi ve raf ömrünün uzatılması oluşturmaktadır. Kurutma prosesi ile su yapıdan uzaklaştırılarak camsı geçiş sıcaklığı arttırılmakta bu sayede moleküler mobilite azaltılarak ürünün dayanıklılığı arttırılmaktadır. Ayrıca biyoaktif bileşenlerin stabiliteilerinin arttırılması amacı ile veya bazı özelliklerinin modifiye edilmesi amacıyla biyoaktif bileşenlerin genellikle bir duvar matriksi ile kaplanarak enkapsüle edilmeleri de yaygın kullanılan yöntemlerdendir. Enkapsüle edilen biyoaktif bileşenin su aktivitesi düşürülmekte, duvar materyalinin oksijen bariyeri oluşturması ile oksijen ile teması kesilmekte, bu sayede ürün mikrobiyolojik ve kimyasal bozunmalara karşı daha stabil hale gelmektedir. Konu ile ilgili yapılacak yeni çalışmaların ürün kaybını minimum düzeyde tutacak şekilde raf ömrünü arttırmaya yönelik araştırmalara odaklanması gerekmektedir.

### KAYNAKLAR

Agrawal, A. (2013). Scope of betalains as a food colorant. *Int J Adv Sci Tech Res*, 3(3): 22-36.

Aizpurua-Olaizola, O., Navarro, P., Vallejo, A., Olivares, M., Etxebarria, N., Usobiaga, A. (2016). Microencapsulation and storage stability of polyphenols from *Vitis vinifera* grape wastes. *Food Chem*, 190: 614-621, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.117.

Bell, L.N. (2007). Moisture effects on food's chemical stability. *Water activity in foods. Fundamentals and applications*, Blackwell Publishing

and the Institute of Food Technologists, Iowa, USA, ISBN: 978-0-813-82408-6.

Bruijn, J., Rivas, F., Rodriguez, Y., Loyola, C., Flores, A., Melin, P., Borquez, R. (2016). Effect of vacuum microwave drying on the quality and storage stability of strawberries. *J Food Process Pres*, 40(5): 1104-1115, doi: 10.1111/jfpp.12691.

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 Sci Technol*, 64(2): 1289-1296, doi: 10.1016/j.lwt.2015.06.044.

Çam, M., İçyer, N.C., Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Sci Technol*, 55(1): 117-123, doi: 10.1016/j.lwt.2013.09.011.

Galmarini, M.V., Maury, C., Mehinagic, E., Sanchez, V., Baeza, R.I., Mignot, S., Zamora, V.C., Chirife, J. (2013). Stability of individual phenolic compounds and antioxidant activity during storage of a red wine powder. *Food Bioprocess Tech*, 6(12): 3585-3595, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.081.

Golbach, J.L., Ricke, S.C., O'Bryan, C.A., Crandall, P.G. (2014). Riboflavin in Nutrition, Food Processing, and Analysis-A Review. *J Food Res*, 3(6), 23-35, doi:10.5539/jfr.v3n6p23.

Guiamba, I. R., Svanberg, U., Ahrné, L. (2015). Effect of infrared blanching on enzyme activity and retention of  $\beta$ -carotene and vitamin C in dried mango. *J Food Sci*, 80(6): 1235-1242, doi: 10.1111/1750-3841.12866.

Hernández-Herrero, J.A., Frutos, M.J. (2015). Influence of rutin and ascorbic acid in colour, plum anthocyanins and antioxidant capacity stability in model juices. *Food Chem*, 173: 495-500, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.059.

Hiatt, A.N., Taylor, L.S., Mauer, L.J. (2010). Influence of simultaneous variations in temperature and relative humidity on chemical stability of two vitamin C forms and implications

- for shelf life models. *J Agr Food Chem* 58(6): 3532-3540, doi: 10.1021/jf903342f.
- Jiménez, N., Bohuon, P., Dornier, M., Bonazzi, C., Pérez, A.M., Vaillant, F. (2012). Effect of water activity on anthocyanin degradation and browning kinetics at high temperatures (100-140°C). *Food Res Int*, 47(1): 106-115, doi: 10.1016/j.foodres.2012.02.004.
- Kamiloğlu, S., Paslı, A.A., Özcelik, B., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2015). Colour retention, anthocyanin stability and antioxidant capacity in black carrot (*Daucus carota*) jams and marmalades: Effect of processing, storage conditions and in vitro gastrointestinal digestion. *J Funct Foods*, 13: 1-10, doi: 10.1016/j.jff.2014.12.021.
- Kayacan, S., Sağdıç, O., Doymaz, İ. (2018). Effects of hot-air and vacuum drying on drying kinetics, bioactive compounds and color of bee pollen. *J Food Meas Charact*, 1-10, doi: 10.1007/s11694-018-9741-4.
- Khazaei, K.M., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Kakhki, A.H. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydr polym*, 105: 57-62, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.042.
- Kumar, S.S., Giridhar, P. (2016). Stabilization of bioactive betalain pigment from fruits of *Basella rubra* L. through maltodextrin encapsulation. *Madridge J Food Tech*, 1(1): 66-70, doi: 10.18689/mjft.2016-111.
- Lagos, J.B., Vargas, F.C., de Oliveira, T.G., da Aparecida Makishi, G.L., do Amaral Sobral, P.J. (2015). Recent patents on the application of bioactive compounds in food: a short review. *Curr Opin Food Sci*, 5: 1-7, doi.org/10.1016/j.cofs.2015.05.012.
- Laine, P., Kylli, P., Heinonen, M., Jouppila, K. (2008). Storage stability of microencapsulated cloudberry (*Rubus chamaemorus*) phenolics. *J Agr Food Chem*, 56(23): 11251-11261, doi: 10.1021/jf801868h.
- Lavelli, V., Scarafoni, A. (2012). Effect of water activity on lycopene and flavonoid degradation in dehydrated tomato skins fortified with green tea extract. *J Food Eng*, 110(2): 225-231, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.05.025.
- Lee, S.H., Labuza, T.P. (1975). Destruction of ascorbic acid as a function of water activity. *J Food Sci*, 40(2): 370-373, doi: 10.1111/j.1365-2621.1975.tb02204.x.
- Leong, H.Y., Show, P.L., Lim, M.H., Ooi, C.W., Ling, T.C. (2017). Natural red pigments from plants and their health benefits: A review. *Food Rev Int*, 1-20, doi: 10.1080/87559129.2017.1326935.
- Lewicki, P.P. (2004). Water as the determinant of food engineering properties. A review. *J Food Eng*, 61(4): 483-495, doi: 10.1016/S0260-8774(03)00219-X.
- Li, N., Taylor, L.S., Mauer, L.J. (2011). Degradation kinetics of catechins in green tea powder: effects of temperature and relative humidity. *J Agr Food Chem*, 59(11): 6082-6090, doi: 10.1021/jf200203n.
- Li, R., Roos, Y.H., Miao, S. (2016). Flavor release from spray-dried amorphous matrix: Effect of lactose content and water plasticization. *Food Res Int*, 86: 147-155, doi: 10.1016/j.foodres.2016.06.003.
- Maqsood, S., Benjakul, S., Abushelaibi, A., Alam, A. (2014). Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: A detailed review. *Compr Rev Food Sci F*, 13(6): 1125-1140, doi: 10.1111/1541-4337.12106.
- Maqsood, S., Omer, I., Eldin, A.K. (2015). Quality attributes, moisture sorption isotherm, phenolic content and antioxidative activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as influenced by method of drying. *J Food Sci Technol*, 52(11): 7059-7069, doi: 10.1007/s13197-015-1827-y.
- Madureira, A.R., Gomes, A., Pintado, M. (2014). Functional Dairy Ingredients. In: *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*, Ozer B., Akdemir- Evrendilek G. (eds.), CRC Press, UK, pp. 288-322, ISBN: 9781482235029.
- Maisuthisakul, P., Gordon, M.H. (2014). Characterization and storage stability of the extract of Thai mango (*Mangifera indica* Linn.

- Cultivar Chok-Anan) seed kernels. *J Food Sci Technol*, 51(8): 1453-1462, doi: 10.1007/s13197-011-0604-9.
- Maltini, E., Torreggiani, D., Venir, E., Bertolo, G. (2003). Water activity and the preservation of plant foods. *Food Chem*, 82(1): 79-86, doi: 10.1016/S0308-8146(02)00581-2.
- McClements, D.J. (2015). Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems. *Adv Colloid Interfac*, 219: 27-53, doi: 10.1016/j.cis.2015.02.002.
- Mishra, P., Brahma, A., Seth, D. (2017). Physicochemical, functionality and storage stability of hog plum (*Spondia pinnata*) juice powder produced by spray drying. *J Food Sci Technol*, 54(5): 1052-1061, doi: 10.1007/s13197-017-2531-x.
- Mosquera, L.H., Moraga, G., Martínez-Navarrete, N. (2012). Critical water activity and critical water content of freeze-dried strawberry powder as affected by maltodextrin and arabic gum. *Food Res Int*, 47(2), 201-206, doi: 10.1016/j.foodres.2011.05.019.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Proc Food Sci*, 1: 1806-1815, doi: 10.1016/j.profoo.2011.09.265.
- Ng, M.X., Tham, T.C., Gan, S.H., Chua, L.S., Aziz, L., Baba, M.R., Abdullah, L.C., Chin, N.L., Oliviero, T., Verkerk, R., Dekker, M. (2012). Effect of water content and temperature on glucosinolate degradation kinetics in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Food Chem*, 132(4): 2037-2045, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.099.
- Oliviero, T., Verkerk, R., Van Boekel, M.A.J.S., Dekker, M. (2014). Effect of water content and temperature on inactivation kinetics of myrosinase in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Food Chem*, 163: 197-201, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.12.045.
- Ong, S.P., Law, C.L. (2017). *Clinacanthus nutans* Lindau: Effects of drying methods on the bioactive compounds, colour characteristics and water activity. *Dry Technol*, 36(2):146-159, doi: 10.1080/07373937.2017.1304410.
- Pérez-Ramírez, I.F., Castaño-Tostado, E., Ramírez-de León, J.A., Rocha-Guzmán, N.E., Reynoso-Camacho, R. (2015). Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and in vitro antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. *Food Chem*, 172: 885-892, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.126.
- Rascón, M.P., Beristain, C.I., García, H.S., Salgado, M.A. (2011). Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and soy protein isolate as wall materials. *LWT-Food Sci Technol*, 44(2): 549-557, doi: 10.1016/j.lwt.2010.08.021.
- Reque, P.M., Steffens, R.S., Jablonski, A., Flóres, S.H., Rios, A.D.O., de Jong, E.V. (2014). Cold storage of blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and juice: Anthocyanin stability and antioxidant activity. *J Food Compos Anal*, 33(1): 111-116, doi: 10.1016/j.jfca.2013.11.007.
- Rijo, P., Falé, P.L., Serralheiro, M.L., Simões, M.F., Gomes, A., Reis, C. (2014). Optimization of medicinal plant extraction methods and their encapsulation through extrusion technology. *Measurement*, 58: 249-255, doi: 10.1016/j.measurement.2014.08.045.
- Rocha-Parla, D.F., Lanari, M.C., Zamora, M.C., Chirife, J. (2016). Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine. *LWT-Food Sci Technol*, 70: 162-170, doi: 10.1016/j.lwt.2016.02.038.
- Rockland, L.B., Stewart, G.F. (Eds.). (2013). *Water activity: influences on food quality*. Academic Press, London, UK, 950 p ISBN: 9781483219851.
- Sagis, L.M.C. (ed) (2015). *Microencapsulation and microspheres for food applications*. Academic Press, Netherlands, 434 p. ISBN: 978-0-12-800350-3.
- Samoticha, J., Wojdyło, A., Lech, K. (2016). The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in

- chokeberries. *LWT-Food Sci Technol*, 66: 484-489, doi: 10.1016/j.lwt.2015.10.073.
- Sawalha, H., den Adel, R., Venema, P., Bot, A., Flöter, E., van der Linden, E. (2012). Organogel-emulsions with mixtures of  $\beta$ -sitosterol and  $\gamma$ -oryzanol: influence of water activity and type of oil phase on gelling capability. *J Agr Food Chem*, 60(13): 3462-3470, doi:10.1021/jf300313f.
- Singh, B., Sharma, R.A. (2015). Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *Biotech*, 5(2): 129-151, doi: 10.1007/s13205-014-0220-2, doi: 10.1007/s13205-014-0220-2.
- Slade, L., Levine, H., Reid, D.S. (1991). Beyond water activity: recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit Rev Food Sci*, 30(2-3): 115-360, doi: 10.1080/10408399109527543.
- Sootitiantawat, A., Yoshii, H., Furuta, T., Ohgawara, M., Forssell, P., Partanen, R., Linko, P. (2004). Effect of water activity on the release characteristics and oxidative stability of D-limonene encapsulated by spray drying. *J Agr Food Chem*, 52(5): 1269-1276, doi: 10.1021/jf035226a.
- Stojanovic, R., Belscak-Cvitanovic, A., Manojlovic, V., Komes, D., Nedovic, V., Bugarski, B. (2012). Encapsulation of thyme (*Thymus serpyllum* L.) aqueous extract in calcium alginate beads. *J Sci Food Agr*, 92: 685-696, doi:10.1002/jsfa.4632.
- Tolve, R., Condelli, N., Can, A., Tchuenbou-Magaia, F.L. (2017). Development and characterization of phytosterol-enriched oil microcapsules for foodstuff application. *Food Bioprocess Tech*, 1-12, doi: 10.1007/s11947-017-1990-4.
- Tonon, R.V., Brabet, C., Hubinger, M.D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Res Int*, 43(3): 907-914, doi: 10.1016/j.foodres.2009.12.013.
- Wang, W., Jung, J., McGorin, R.J., Traber, M.G., Leonard, S.W., Cherian, G., Zhao, Y. (2018). Investigation of drying conditions on bioactive compounds, lipid oxidation, and enzyme activity of Oregon hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *LWT-Food Sci Technol*, 90: 526-534, doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.002.
- Xiao, J., Kai, G., Yamamoto, K., Chen, X. (2013). Advance in dietary polyphenols as  $\alpha$ -glucosidases inhibitors: a review on structure-activity relationship aspect. *Crit Rev Food Sci*, 53(8): 818-836, doi: 10.1080/10408398.2011.561379.
- Zhao, G., Zhang, R., Zhang, M. (2016). Effects of high hydrostatic pressure processing and subsequent storage on phenolic contents and antioxidant activity in fruit and vegetable products. *Int J Food Sci Tech*, 52(1): 3-12, doi: 10.1111/ijfs.13203.

## PROPOLİS EKSTRAKTI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BALIK YAĞINDA LİPİT OKSİDASYONU DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

İlknur Uçak\*

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Niğde, Türkiye

Geliş / *Received*: 28.02.2018; Kabul / *Accepted*: 01.04.2018; Online baskı / *Published online*: 18.05.2018

Uçak, İ. (2018). Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi. *GIDA* (2018) 43 (3): 523-532 doi: 10.15237/gida.GD18031

Uçak, İ. (2018). *Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract. GIDA (2018) 43 (3): 523-532 doi: 10.15237/gida.GD18031*

### ÖZ

Bu çalışma, propolis ekstraktının balık yağında doğal antioksidan olarak kullanımını üzerine odaklanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (100, 500, 1.000 mg/kg) propolis ekstraktı ve sentetik antioksidan olarak bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT, 100 mg/kg) balık yağına eklenerek hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında lipit oksidasyonu düzeyi belirlenmiştir. Depolama süresince peroksit değeri, UV-spektrum değerleri (UV<sub>232</sub> ve UV<sub>270</sub>), tiyobarbitürik asit (TBARS) değeri ve para-anisidin değeri incelenmiştir. Depolama boyunca propolis ekstraktı ilaveli gruplarda peroksit değeri, UV<sub>232</sub> ve UV<sub>270</sub> değeri, TBARS değeri ve para-anisidin değeri kontrol grubu ve BHT ilaveli gruptan daha düşük düzeylerde bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, 500 ve 1.000 mg/kg konsantrasyonlarında propolis ekstraktı ilave edilmiş balık yağı örneklerinde oksidasyon düzeyinin daha düşük olduğunu ve en etkili konsantrasyonun 1.000 mg/kg olduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile, propolis ekstraktının balık yağında oksidatif stabiliteyi sağlamada doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanılabilmesi gösterilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Balık yağı, propolis ekstraktı, lipit oksidasyonu, doğal antioksidan, oksidatif bozulma

### DETERMINATION OF THE LIPID OXIDATION LEVEL IN FISH OIL ENRICHED WITH PROPOLIS EXTRACT

#### ABSTRACT

This study focused on the utilization of propolis extract as a natural antioxidant in fish oil. Propolis extract at different concentrations (100, 500, 1,000 mg/kg) and butylated hydroxytoluene (BHT, 100 mg/kg) as synthetic antioxidant were added to fish oil in order to determine the lipid oxidation level under accelerated oxidation conditions. Peroxide value, UV-spectrum values (UV<sub>232</sub> and UV<sub>270</sub>), thiobarbituric acid (TBARS) value and para-anisidine value were investigated during the storage. Peroxide value, UV<sub>232</sub> and UV<sub>270</sub> value, TBARS value and para-anisidine value of groups which supplemented with the propolis extract was found lower than the control group and BHT added group throughout the storage period. The results show that the oxidation level in fish oil samples supplemented with 500 and 1.000 mg/kg propolis extract lower, and the most effective concentration is 1.000 mg/kg propolis extract. This study indicated that the propolis extract might be used as a natural source in order to provide oxidative stability in fish oil.

**Keywords:** Fish oil, propolis extract, lipid oxidation, natural antioxidant, oxidative deterioration

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ilknurucak@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 225 3044,

☎ (+90) 388 225 4440

### GİRİŞ

Balık yağı; insan sağlığına olan yararlı etkileri ve büyüme ve gelişme için gerekli olan besin maddelerinden olan uzun zincirli omega-3 çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) içermesi nedeni ile son yıllarda gittikçe artan bir önem kazanmıştır. Bu uzun zincirli yağ asitlerinden özellikle eikosapentaenoik (EPA, C20:5n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n-3) kardiyovasküler hastalıkları ve bazı kanser türleri riskini azaltma, sinir sistemi fonksiyonlarına ve vücut gelişimine katkı sağlama gibi insan sağlığına pek çok faydalı etkiden sorumlu olarak kabul edilmiştir (Shahidi, 2015). Balık yağının, insan sağlığına olan yararlı etkileri ve besleyici değerinin yüksek olması nedeni ile kalitesi ve stabilitesi de önem kazanmaktadır. Yağ asitlerinin oksidasyona karşı hassasiyeti doymamışlık derecesi ile artmaktadır. Yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren balık yağı da istenmeyen koku, aroma ve renkle sonuçlanan oksidatif bozulmalara karşı oldukça hassastır.

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu başlangıç, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Başlangıç fazında moleküler oksijen çoklu doymamış yağ asitleri ile birleşerek peroksit ve serbest radikalleri oluşturmaktadır. Başlangıç aşamasının reaktif ürünleri diğer lipit molekülleri ile bir araya gelerek başka reaktif bileşikler meydana getirmektedir. Aktif metilen grupları varlığında peroksitler de stabil olamamakta, dihidroperoksitlere ve ikincil oksidasyon ürünlerine dönüşmektedir. Doymamış aldehitler ve ketonlar ileri otooksidasyona maruz kalmakta ve kabul edilmeyen kötü kokulara yol açan uçucu bileşikler meydana gelmektedir (Hsieh ve Kinsella, 1989; Kanner ve Rosenthal, 1992; Yanishlieva ve Marinova, 2001; Kolanowski vd., 2007). Yağların hava, ışık, sıcaklık gibi çevresel faktörlere maruz kalmasıyla birlikte istenmeyen tat, ransid koku ve renk hatta toksik bileşikler ortaya çıkmaktadır (Kanner ve Rosenthal, 1992; Shaidi ve Wanasundara, 2002; Alonso vd., 2007). Oksidatif bozulmanın diğer olumsuz etkisi de, toksik olabilecek oksidasyon ürünlerinden dolayı sağlık risklerinin ortaya çıkmasıdır. Oksidasyonun önlenmesi amacı ile butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), butillendirilmiş hidroksianisol

(BHA) ve propil gallat (PG) gibi çeşitli sentetik koruyucular kullanılırken, doğal kaynaklardan elde edilen farklı antioksidanların kullanımına yönelik eğilimler artmaktadır (Kindleysides vd., 2012).

Propolis; bal arılarının ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından toplayarak arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde biriktirdiği reçinemi maddeleri ve bitki öz sularını, baş kısımlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan birtakım enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak balmumu ile karıştırarak kovan içerisinde oluşturdukları reçinemi yapışkan, keskin ve güzel kokulu organik bir üründür (Bozkurt, 2010). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle %45-50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik bileşiklerden oluşmaktadır (Karaman, 2009). Bu organik bileşikler arasında fenolik bileşikler ve esterleri, flavonoidlerin bütün formları (flavonollar, flavonlar, flavononlar, dihidroflavonollar ve kalkonlar), terpenler,  $\beta$ -steroidler, aromatik aldehitler ve alkoller bulunur (Viuda-Martos, 2008). Propolis üzerinde yapılan çalışmalar antiinflamatuvar, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antitümör, anestetik, sitostatik etki, immünomodülatör, hepatokuruyucu, antitümör ve antibiyotik vb. özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Bozkurt, 2010). Propolis ham halde kullanılamaz. Bu nedenle çözücülerle yapılan ekstraksiyon ile saflaştırılmalıdır. Bu ekstraksiyon sürecinde inert maddeler uzaklaştırılmalı, yararlı etkileri propolisin diğer bileşenlerinden çok daha fazla olan polifenolik kısımlar ise korunmalıdır (Pietta, 2002). Farklı çözücüler, farklı bileşenleri çözüp ekstrakte ettiği için ekstraksiyon metodları, propolisin aktivitesini etkileyebilmektedir. Ekstraksiyonda en yaygın kullanılan çözücüler, farklı konsantrasyonlardaki etanol, metanol ve sudur (Nakajima vd., 2007). Propolisin içeriğinde bulunan bileşiklerin çoğu lipofilik özelliktedir. Bu bileşikleri etanol kullanarak ekstrakte etmek kolay olduğu için propolisin etanollü ekstraktı iyi bilinmektedir ve bu nedenle daha cazip hale gelmiştir (Nakajima vd., 2007).



Bu çalışmada, propolisin güçlü antioksidan özelliğinden dolayı balık yağında oksidatif bozulmayı önlemek amacıyla sentetik antioksidanlara alternatif olarak kullanımı hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, balık yağına farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı eklenmiş ve hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında oksidasyon düzeyinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Çalışmada kullanılan propolis 2017 yılı yaz mevsiminde Adana yöresinden toplanmıştır. Balık (hamsi) yağı, Samsun ilinde bulunan ticari bir firmadan (Sürsan Su Ürünleri San. Tic. A.Ş) temin edilmiştir.

#### Yöntem

##### Propolis ekstraktının hazırlanması ve balık yağına eklenmesi

Propolis laboratuvara getirilerek serin ve karanlık bir ortamda ekstraksiyon işlemine kadar bekletilmiştir. Ham propolis laboratuvar tipi parçalayıcı ile parçalandıktan sonra 3 mm çaplı elekten geçirilerek standardize edilmiştir. Propolis parçaları uygun hacimdeki erlenlere aktarıldıktan sonra Tabaraki vd. (2012) tarafından belirlenen yöntemle göre ultrasonik su banyosu (Kudos-HP series, China) yardımı ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik banyo frekansı 250 W ve 40 kHz olarak ayarlanmış, hazırlanan etanol (%70) ve propolis çözeltisi (1/10, g/ml) oda sıcaklığında bulunan ultrasonik su banyosunda 60 dk boyunca bekletilmiştir. Etanol ile ekstrakte edilmiş propolis

ekstraktları kaba filtre kâğıdı ile süzülükten sonra 0.22 µm çaplı (Merck millipore) filtrelerden geçirilmiştir. Etanolik propolis ekstraktları rotary evaporatöre (IKA, HB-10 digital, Germany) aktararak ve ekstraktlarda bulunan etanol 45°C'de uçurularak propolis ekstraktları elde edilmiştir. Propolis ekstraktları, kullanılıncaya kadar -80°C'ye ayarlanmış ultra derin dondurucuda (Symphony, VWR DW) muhafaza edilmiştir. Balık yağı, 5 gruba ayrılmış ve örnekler kontrol (propolis ekstraktı ve BHT ilavesiz), BHT (100 mg/kg BHT ilaveli), PE1 (100 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli), PE5 (500 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli) ve PE10 (1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli) şeklinde adlandırılarak 2 ml'lik ışık geçirmeyen koyu renkli eppendorf tüplere alınarak sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış inkübatörde (Binder ED 53) 21 gün süre ile depolanmışlardır. Depolama sırasında meydana gelen oksidatif değişimlerin belirlenmesi amacıyla üç günlük periyotlarla analizler yapılmıştır.

#### Peroksit analizi

Balık yağı örneklerinde peroksit analizi AOAC (1990)'nın belirttiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. 30 ml kloroform-glasiel asetik asit çözeltisi (kloroform/glasiel asetik asit, 3/2) içerisinde yaklaşık 2 g yağ karıştırılarak üzerine 1 ml doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisinden eklenmiştir. Çözelti karıştırıldıktan sonra 5 dakika karanlıkta bekletilmiş ve üzerine 75 ml saf su ve birkaç damla nişasta çözeltisi eklenerek 0.1 M sodyum tiosulfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) çözeltisi ile titre edilmiştir. Örneklerin peroksit değerleri Eşitlik 1'de verilen formüle göre hesaplanıp meq/kg cinsinden ifade edilmiştir.

$$PV \text{ (meq/ kg)} = K \times (V - V_0) \times 12.69 \times 78.8 / w \quad (\text{Eşitlik 1})$$

K titrasyonda harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'ün konsantrasyonu (mol/l), V titrasyonda harcanan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'ün miktarı (ml), w balık yağının ağırlığı (g)

#### Tiyobarbitürikasit (TBARS) sayısı

Yağ örneklerinde bulunan malondialdehitin TBA reaktifi ile renk vermesi prensibine dayanarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır (AOCS, 1998). n-bütanol içerisinde çözülen yağ örneğinden 5 ml alınmış ve aynı miktarda TBA reaktifi ile karıştırılmıştır. Reaksiyona girmesi

amacıyla 120 dakika 95°C su banyosunda tutulmuştur. Hızla soğutulan örnekler, 530 nm dalga boyunda spektrofotometrik (Evolution 160 UV-vis, Thermo Scientific) olarak ölçülerek Eşitlik 2'de verilen formülle hesaplanan sonuçlar mg malondialdehit/kg örnek olarak ifade edilmiştir.

$$TBA = 50 \times (\text{Yağ örneğinin absorbansı} - \text{Blank absorbansı}) / \text{örnek ağırlığı (mg)} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

### Para-anisidin değeri (p-Av)

Yağ örneklerinden 0.5 g alınarak 25 ml n-hekzan içerisinde çözülmüştür (A1). Çözültiden alınan 5 ml üzerine 1 ml para-anisidin standardı eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika süreyle karanlıkta bekletilmiştir (A2). Örneklerle ait para-anisidin

$$p-Av = 25 (1.2 \times (A2 - A1)) / \text{örnek ağırlığı}$$

(Eşitlik 3)

A1= Para-anisidin eklenmeden önce 350 nm'deki absorbands

A2= Para-anisidin eklendikten sonra 350 nm'deki absorbands

### UV spektrum analizi

Balık yağlarının depolanması sırasında meydana gelen oksidasyon ürünlerinin tespiti amacıyla UV spektrum analizi gerçekleştirilmiştir. İzo-oktan içerisinde her seferinde aynı miktar yağ tartılarak tekrarlanan UV spektrum ölçümünde 232 nm (UV232-konjuge dien) ile 270 nm (UV270-konjuge trien) dalga boyları arasında spektrum çizilmiştir. Balık yağında gerçekleşen oksidasyona bağlı olarak grafikte ortaya çıkan UV emilimindeki değişimler gözlemlenmiştir (IUPAC, 1987b).

### İstatistiksel analiz ve değerlendirmeler

Çalışma iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlara varyans analizi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulup, %5 önem düzeyinde karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler için SAS yazılımı (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) kullanılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

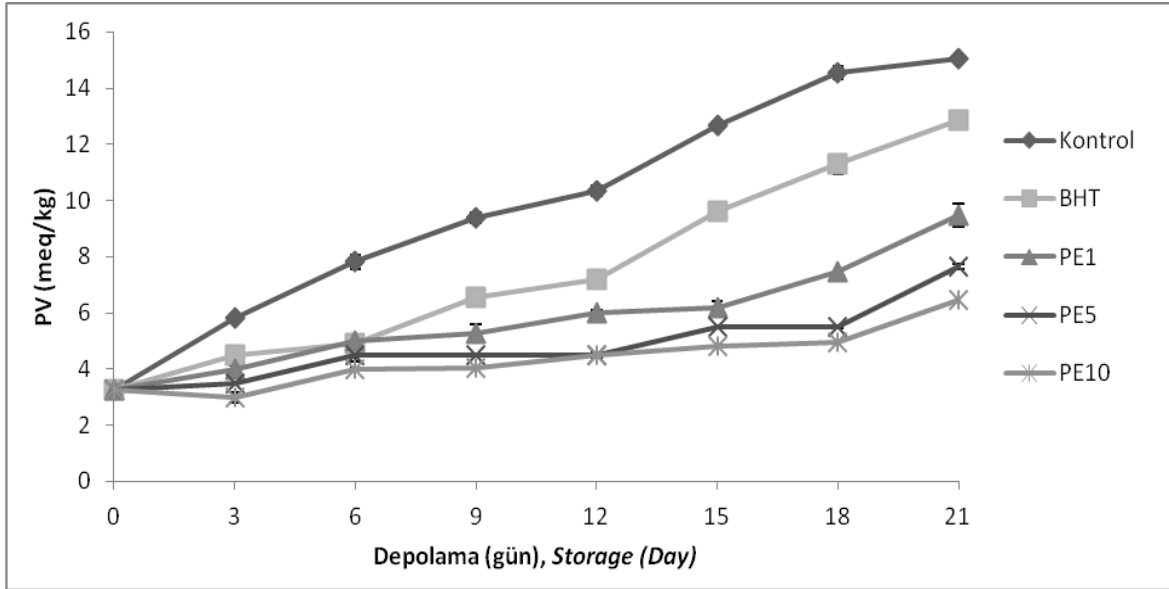
### Peroksit değeri

Peroksit değeri, yağlarda oksidasyonun başlangıç düzeyinin ölçülmesinde kullanılmakta olup (Iqbal vd., 2008) birincil oksidasyon ürünleridir. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) içeren balık yağının depolama süresince peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 1'de verilmiştir. Balık yağında başlangıç peroksit değeri 3.28 meq/kg olarak bulunmuştur. Depolama süresince tüm gruplarda peroksit değeri artış göstermiş, fakat propolis ekstraktı ilaveli gruplarda bu artış kontrol grubu ve BHT içeren gruba göre daha düşük düzeyde olmuştur. Kontrol grubu, BHT içeren grup ve propolis ilaveli gruplar arasında depolama boyunca önemli derecede ( $P < 0.05$ ) farklılıklar

değeri 350 nm'deki spektrofotometrik (Evolution 160 UV-vis, Thermo Scientific) ölçümlerle elde edilen absorbands değerleri yardımıyla Eşitlik 3'te verilen formülle hesaplanarak belirlenmiştir (IUPAC, 1987a).

gözlenmiş ve depolama sonunda en yüksek peroksit değerleri sırasıyla 15.04 ve 12.88 meq/kg olarak kontrol grubu ve BHT içeren grupta gözlenmiştir. İyi kalitede bir balık yağının peroksit değerinin 5 meq/kg'dan daha düşük olması önerilmektedir (Hamilton vd., 1998). Kontrol grubu ve BHT ilave grup bu değeri sırasıyla 3. (5.82 meq/kg) ve 9. (6.54 meq/kg) günlerde aşmıştır. Depolama boyunca önemli derecede ( $P < 0.05$ ) en düşük peroksit değerleri 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli gruplarda gözlenmiş ve depolama sonunda sırasıyla 7.65 ve 6.46 meq/kg'a ulaşmıştır.

Topuz vd. (2015) tarafından nar kabuğu ekstraktı ilaveli balık yağında 500 ve 1.000 mg/kg konsantrasyonlarında ekstrakt eklenmiş gruplarda daha düşük peroksit değerleri gözlenmiştir. Marinova ve Yanishlieva (1997), farklı konsantrasyonlarda nane ekstraktı ekleyerek hızlandırılmış sıcaklık koşullarında depoladıkları ayçiçeği yağında kontrol grubu ve BHT ilaveli gruba göre daha düşük peroksit değerleri gözlemlenmişlerdir. Bir başka çalışmada Wang vd. (2011) karnosik asit ile zenginleştirdikleri balık yağında peroksit değerlerini depolamanın 24. gününde kontrol grubunda 24.67 meq/kg ve karnosik asit ilaveli grupta 22 meq/kg olarak bulmuşlardır. Peroksit değerleri göz önünde bulundurulduğunda, kullanılabilir limiti 100 mg/kg olan BHT eklenen grupla kıyaslandığında 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilavesinin birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geciktirmede önemli derecede etkili olduğu görülmüştür.



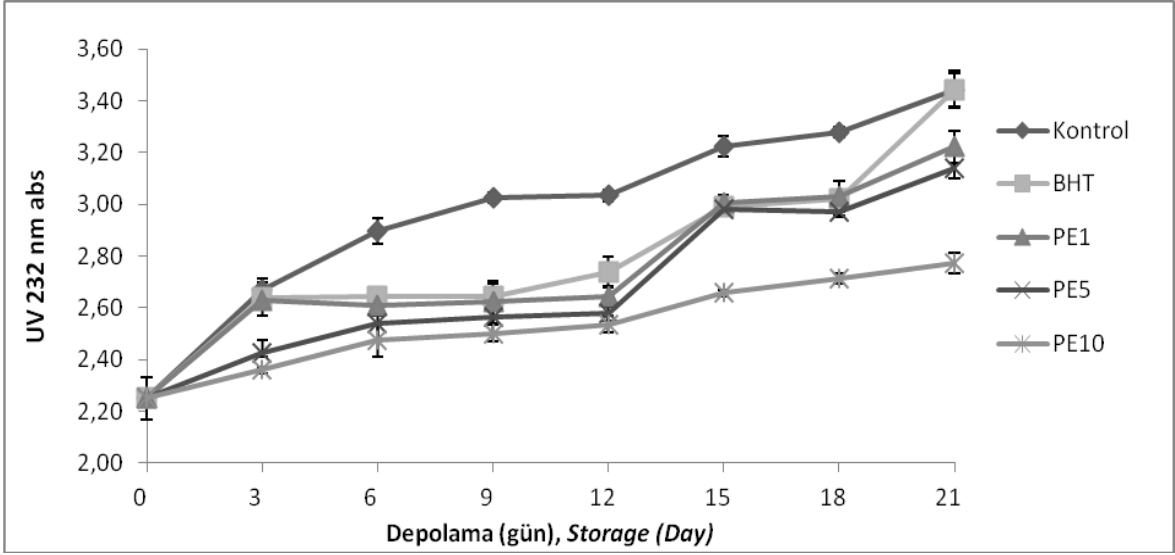
Şekil 1. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince peroksit değerlerinde meydana gelen değişimler.\* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 1. Changes in peroxide value (PV) of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). \* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

### Konjuge dien (UV<sub>232</sub>) ve konjuge trien (UV<sub>270</sub>) değerleri

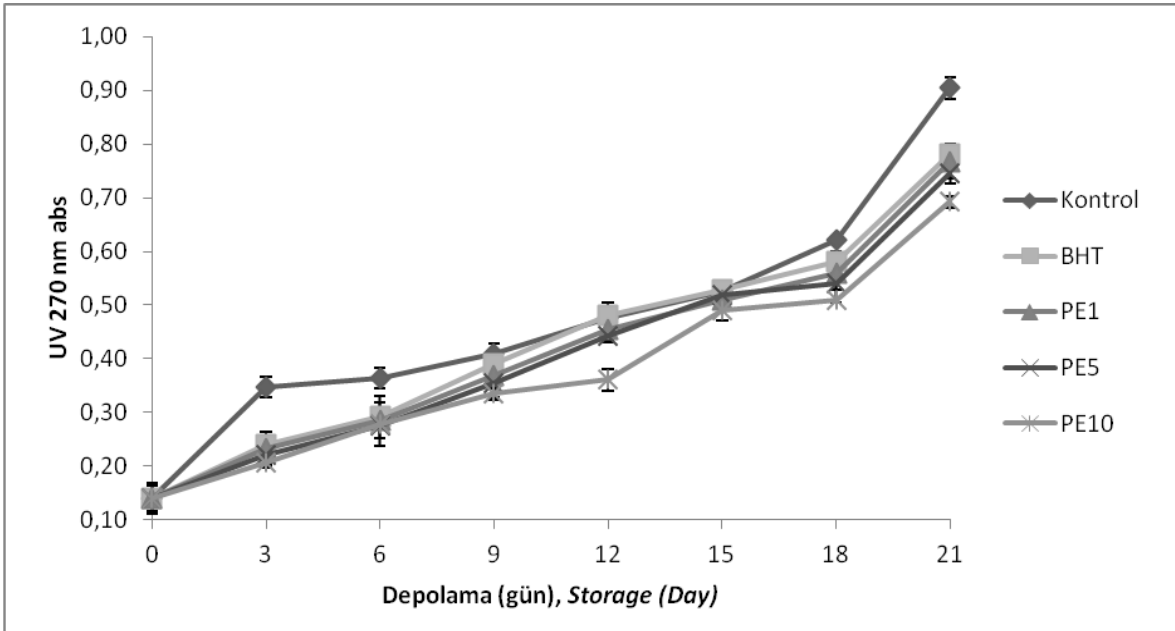
UV<sub>232</sub> ve UV<sub>270</sub> değerlerinin ölçülmesi, yağlarda oksidatif bozulmanın ve kullanılan antioksidanların etkinliğinin belirlenmesinde önemli parametrelerdir (Iqbal vd., 2008). Şekil 2 ve Şekil 3 hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında depolanan kontrol, BHT ilaveli ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) ilaveli balık yağında konjuge dienlerin ve konjuge trienlerin oluşumunu göstermektedir. Depolamanın başında, balık yağında UV<sub>232</sub> değeri 2.15 olarak bulunmuş ve en yüksek değer depolamanın sonunda kontrol grubunda (3.45) gözlemlenmiştir. Kontrol grubu, BHT ilaveli ve propolis ekstraktı ilaveli gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde ( $P < 0.05$ ) farklılıklar gözlemlenmiştir. En düşük UV<sub>232</sub> değerleri 1.000 mg/kg propolis ekstraktı ilaveli grupta gözlemlenmiş ve depolama sonunda diğer gruplara göre önemli derecede ( $P < 0.05$ ) düşük bulunmuştur (2.77). Bu da, 1.000 mg/kg konsantrasyonda kullanılan propolis ekstraktının oksidasyon düzeyini düşürmede oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

Balık yağında başlangıçta 0.14 olarak bulunan UV<sub>270</sub> değerleri, Topuz vd. (2015) tarafından hamsi yağında gözlemlenen değerden (0.28) oldukça düşük düzeyde bulunmuştur. Kontrol grubu ve propolis ekstraktı ilaveli gruplar arasında önemli derecede ( $P < 0.05$ ) farklılıklar gözlemlenirken, BHT ilaveli grup ve kontrol grubuna ait UV<sub>270</sub> değerleri propolis ekstraktı ilaveli gruplardan daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Depolamanın başından itibaren tüm gruplarda UV<sub>270</sub> değerlerinde artış gözlemlenmiş ve depolama sonunda en yüksek değer (0.91) kontrol grubunda bulunmuştur. UV<sub>270</sub> değerlerinde gözlemlenen bu artış, hidroperoksitler ve konjuge dienler gibi birincil oksidasyon ürünlerinden konjuge trienlerin oluşması şeklinde açıklanabilir. Iqbal vd. (2008) hızlandırılmış oksidasyon koşulları altında yaptıkları bir çalışmada, 1.000 mg/kg düzeyinde nar kabuğu ekstraktı ekledikleri ayçiçeği yağında konjuge trien değerlerinin kontrol, BHT ilaveli ve farklı konsantrasyonlarda (250, 500 mg/kg) nar kabuğu ekstraktı ilaveli gruplardan daha düşük olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 2. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince UV<sub>232</sub> nm absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler.\* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 2. Changes in UV<sub>232</sub> nm absorbance values of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). \* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE



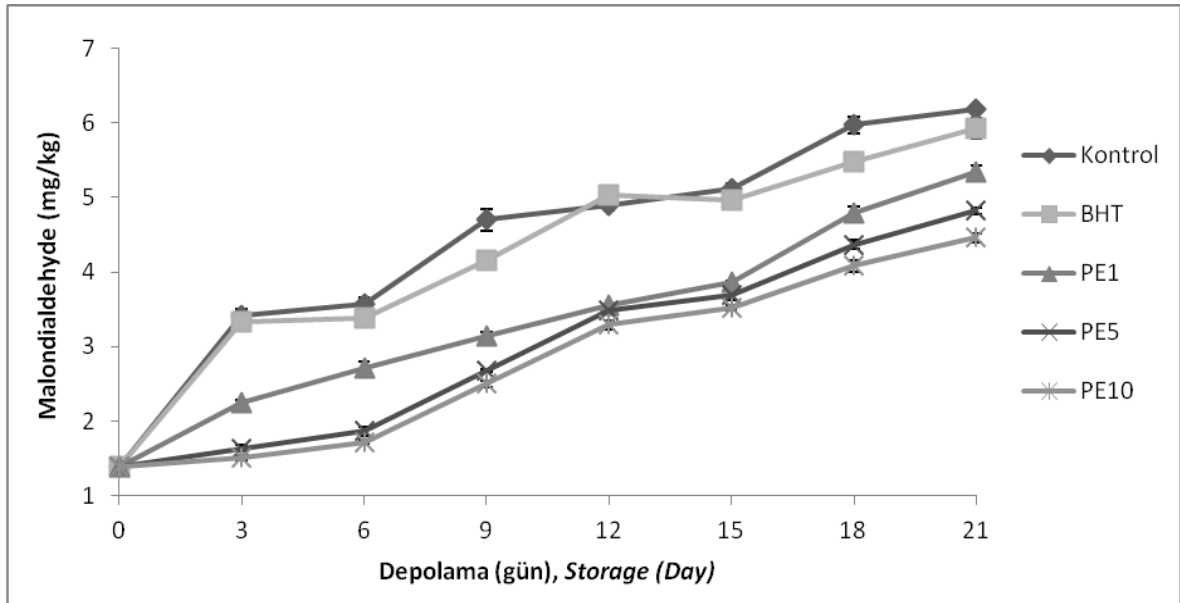
Şekil 3. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince UV<sub>270</sub> nm absorbans değerlerinde meydana gelen değişimler.\* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 3. Changes in UV<sub>270</sub> nm absorbance values of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). \* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

### Tiyobarbitürik asit (TBARS) değeri

Tiyobarbitürik asit (TBARS), aldehitler veya karboniller gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesinde yaygın kullanılan bir yöntemdir (Shahidi ve Wanasundara, 1998). BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE1, PE5 ve PE10) ilave edilmiş balık yağının TBARS değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4'te verilmiştir. Balık yağında başlangıç TBARS değeri 1.39 mgMA/kg olarak bulunmuştur. Depolama boyunca TBARS değerleri tüm gruplarda sürekli bir artış göstermiştir, ancak bu artış propolis ekstraktı ilaveli gruplarda daha düşük düzeyde olmuştur. Depolama sonunda önemli derecede ( $P < 0.05$ ) en yüksek değerler sırası ile kontrol (6.18 mgMA/kg) ve BHT ilaveli (5.93 mgMA/kg) gruplarda gözlenmiştir. Taze bir balıkta TBARS değeri 3-5 mgMA/kg arasında olmalıdır, ancak 5-8 mgMA/kg düzeyi de buzda depolanan balıklar için kabul edilebilir limit değer olarak değerlendirilmektedir (Nunes vd., 1992). Depolama süresince en düşük TBARS değerleri 500 ve 1.000 mg/kg propolis ekstraktı içeren gruplarda gözlemlenmiş ve her iki grupta da bu

değer 5 mgMA/kg'ı geçmemiştir. Iqbal vd. (2007) sarımsak ekstraktı ekledikleri ayçiçeği yağında hızlandırılmış depolama koşulları altında oksidasyon düzeyini belirlemişlerdir. 24 günlük depolama süresince en düşük TBARS değerlerinin 1.000 mg/kg sarımsak ekstraktı ilave edilmiş ayçiçeği yağında olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer bir çalışmada Topuz vd. (2015), 1.000 mg/kg konsantrasyonunda nar kabuğu ekstraktı ilaveli balık yağında TBARS değerlerinin kontrol grubu ve BHT ilaveli gruba göre daha düşük düzeylerde olduğunu bulmuşlardır. Duman ve Özpolat (2015), sulu propolis ekstraktı ile muamele ettikleri balıkta TBARS değerlerinin depolama süresince kontrol grubundan daha düşük olduğunu ve en etkili konsantrasyonun %0.5 olduğunu gözlemlemişlerdir. Elma kabuğundan ekstrakte edilen fenolik maddelerin balık yağında lipit oksidasyonuna olan etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, elma kabuğu ekstraktı ilave edilmiş balık yağında TBARS değerlerinin  $\alpha$ -tokoferol ve BHT eklenmiş gruplardan daha düşük olduğu gözlenmiştir (Sekhon-Loodu vd., 2013).



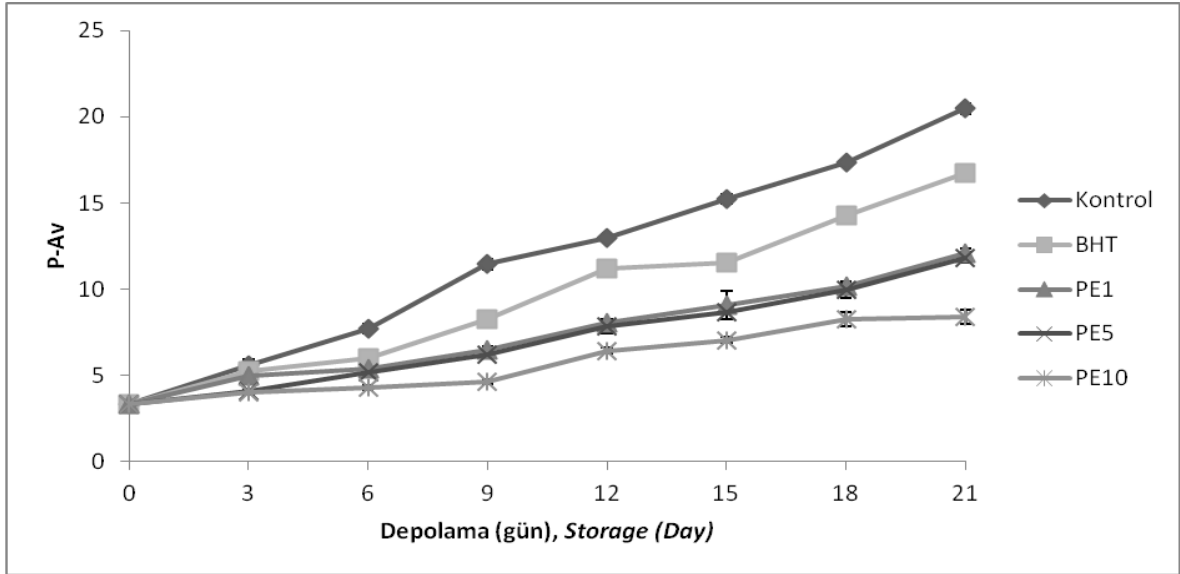
Şekil 4. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince TBARS değerlerinde meydana gelen değişimler.\* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 4. Changes in tiobarbituric acid reactive substance values (TBARS) in fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). \* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

### Para-anisidin değeri

BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı içeren balık yağında para-anisidin değerlerinde gözlenen değişimler Şekil 5'te verilmiştir. Balık yağında başlangıç para-anisidin değeri 3.36 bulunmuştur. Depolamanın başından itibaren tüm gruplarda para-anisidin değeri artış göstermiş ve bu artış kontrol grubu ve BHT ilaveli grupta daha yüksek düzeyde olmuştur. Para-anisidin değeri bakımından kontrol ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı içeren gruplar arasında istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ) düzeyde farklılıklar bulunmuştur. Depolama sonunda en yüksek para-anisidin değeri sırasıyla kontrol grubu (20.47) ve BHT eklenmiş grupta (16.74) gözlenmiştir. Para-anisidin değeri, yağlarda oluşan uçucu olmayan karbonil bileşikleri ve hidroperoksit yıkım ürünleri

gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Balık yağına propolis ekstraktının eklenmesi, lipit oksidasyonunu önemli derecede geciktirmiş ve depolama sonunda önemli derecede ( $P < 0.05$ ) en düşük para-anisidin değeri 1.000 mg/kg propolis ekstraktı eklenmiş grupta (8.41) gözlenmiştir. Abd El-aal ve Halaweish (2010), farklı konsantrasyonlarda (1.200 mg/kg, 1.600 mg/kg) portakal kabuğu ekstraktı ekledikleri soya yağını 65°C'de depolayarak oksidasyon düzeyini belirlemişlerdir. 1.200 mg/kg konsantrasyonda portakal kabuğu ekstraktı ilave edilen grupta para-anisidin değerinin 5.97 ve 1.600 mg/kg konsantrasyonda ise 5.61 bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuçların kontrol grubu ve BHT eklenen gruptan çok daha düşük düzeylerde olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 5. BHT ve farklı konsantrasyonlarda propolis ekstraktı (PE) ilave edilmiş balık yağında depolama süresince para-anisidin (P-Av) değerlerinde meydana gelen değişimler.\* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

Figure 5. Changes in para-anisidine values (p-Av) of fish oil supplemented with different concentrations of propolis extract (PE) and butylated hydroxytoluene (BHT). \* BHT: 100 ppm BHT; PE1: 100 ppm PE; PE5: 500 ppm PE; PE10: 1.000 ppm PE

### SONUÇ

Balık yağı, lipit oksidasyonuna karşı oldukça hassas olup, bu durum raf ömrünü sınırlamaktadır. Bu çalışmada balık yağına popolis ekstraktı eklemenin lipit oksidasyonunu geciktirdiği, özellikle 500 ve 1.000 mg/kg

konsantrasyonlarının daha etkili sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Depolama süresince tüm gruplar arasında en düşük oksidasyon düzeyi 1.000 mg/kg konsantrasyonunda propolis ekstraktı ilave edilen grupta görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda propolis ekstraktının balık yağında lipit

oksidasyonunu önlemede doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından "FEB 2016-26-BAGEP" proje numarası ile desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

Abd El-aal, H.A., Halaweish, F.T. (2010). Food preservative activity of phenolic compounds in orange peel extracts (*Citrus sinensis* L.). *Lucrări Stiințifice - Seria Zootehnie*, 53(15): 233-240.

Alonso, I.S., Escrig, A.J., Calixo, F.S, Borderias, A.J. (2007). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chem*, 101: 372-378.

AOAC (1990). *Official methods of analysis*. 15<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists.

AOCS (American Oil Chemists' Society) (1998). AOCS Official Method Cd 19-90. 2-Thiobarbituric acid value. Direct Method. In: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Firestone, D. (Ed.), AOCS, Champaign, III.

Bozkurt, A.F. (2010). Farklı düzeylerde propolis uygulamalarının farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Duman, M., Özpolat, E. (2015). Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. *Food Chem*, 189: 80-85.

Hamilton, R.H., Kalu, C., McNeill, G.P., Padley, F.B., Pierce, J.H. (1998). Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil. *J Am Oil Chem Soc*, 75(7): 813-822.

Hsieh, R.J., Kinsella, J.E. (1989). Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products. *Adv Food Nutr Res*, 33: 233-341.

Iqbal, S., Bhangar, M.I. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem*, 100: 246-254.

Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., Akbar, J. (2008). Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Res Int*, 41: 194-200.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (1987a). Method Number 2.505., Evidence of purity and deterioration from ultraviolet spectrometry. In: Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates, Paquet, C., Hautfenne, A. (Eds), Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, pp: 144-145.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (1987b). Method Number 2.504. Determination of the p-anisidine value (P-Av). In: Standard Methods for the Analysis of Oils. Fats and Derivates, Paquet, C., Hautfenne, A. (Eds), Oxford. UK, Blackwell Scientific Publications, pp. 143-144.

Kanner, J., Rosenthal, I. (1992). An assessment of lipid oxidation in foods. *Pure Appl Chem*, 64(12): 1959-1964.

Karaman, I. (2009). Propolisin kırık iyileşmesi ve oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Kayseri.

Kindleysides, S., Quek, S.Y., Miller, M.R. (2012). Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. *Food Chem*, 133: 1624-1631.

Kolanowski, W., Jaworska, D., Weissbrodt, J. (2007). Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. *J Sci Food Agric*, 87: 181-191.

Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem*, 58: 245-248.

Nakajima, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., Hara, H. (2007). Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert

- neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sci*, 80: 370-377.
- Pietta, P.G., Gardana, C., Pietta, A.M. (2002). Analytical methods quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73: 7-20.
- Sekhon-Loodu, S., Warnakulasuriya, S.N., Vasantha Rupasinghe, H.P., Shahidi, F. (2013). Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. *Food Chem*, 140:189-196.
- Shahidi, F. (2015). Omega-3 fatty acids and marine oils in cardiovascular and general health: A critical overview of controversies and realities. *J Funct Foods*, 19: 797-800.
- Shahidi, F., Wanasundara, U.N. (1998). Methods of measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (Eds.), *Food lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, pp. 377–396.
- Shahidi, F., Wanasundara, U.N. (2002). Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. In: *Food Lipids*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 465-485.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonically assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology. *Sep Purif Technol*, 98: 16-23.
- Topuz, O.K., Yerlikaya, P., Ucak, I., Gumus, B., Buyukbenli, H.A., Gokoglu, N. (2015). Influence of pomegranate peel (*Punica granatum*) extract on lipid oxidation in anchovy fish oil under heat accelerated conditions. *J Food Sci Technol*, 52(1): 625-632.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *J Food Sci*, 73: 117-124.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M. (2001). Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur J Lipid Sci Technol*, 103: 752-767.



## İçindekiler / Content

### Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Tekgul, Y., Kok, F. *Screening of tetracycline and florfenicol antibiotic residues in broiler meat using ELISA and confirmation by liquid chromatography/tandem mass spectrometry* / Broiler etlerindeki tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntılarının ELISA ile görüntülenmesi ve sıvı kromatografisi kütle/ kütle spektrometresi ile doğrulanması.....**403-412**
- Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Konar, N., Genç Polat, D. *ßv seeding as an alternative pre-crystallization technique in synbiotic milk chocolate production* / Bv tohumlama tekniğinin alternatif pre-kristalizasyon yöntemi olarak sinbiyotik sütlü çikolata üretiminde kullanımı.....**422-431**
- Azarabadi, N., Özdemir, F. *Determination of crocin content and volatile components in different qualities of Iranian saffron* / Farklı kalitedeki İran safranların krosin içeriği ve uçucu bileşenlerinin belirlenmesi.....**476-489**

### Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B., Okut, D., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. *Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri ile ön işlem uygulamalarının mandalina ve çilekte kalite özellikleri üzerine etkileri* / *Effects of different freezing and thawing methods including pretreatments on quality attributes of mandarin and strawberry*.....**370-383**
- Pelvan, E., Demirtaş, İ. *Türkiye'de yetişen bittüm (Pistacia terebinthus L.) ve fıstık (Pistacia vera) yağlarının yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi* / *Determination of fatty acid, sterol, tocol compositions, total phenolic contents and antioxidant activities of turpentine (Pistacia terebinthus L.) and pistachio (Pistacia vera) oils grown in Turkey*.....**384-392**
- Arslan Tontul, S., Mutlu, C., Koç, A., Erbaş, M. *Çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonunun optimizasyonu* / *Optimization of ultrasound assisted oil extraction from chia seeds*.....**393-402**
- Özge Dinç, S., Özbey, A., Erinç, Ö. *İnülin ve maltodekstrin ilavesinin kefirlerin konjüge linoleik asit içeriği üzerine etkisi* / *Effect of inulin and maltodextrin addition on conjugated linoleic acid content of kefir*.....**413-421**
- Mutlu, C., Erbaş, M. *Vakum kurutma yöntemi kullanılarak üretilen sade ve meyveli bal tozlarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi* / *Determination of some physical, chemical and sensory properties of plain and fruity honey powders produced with vacuum drying method*.....**432-445**
- Dirim, S. N., Talih, M. *Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi* / *The effects of drying agents on properties of freeze dried cherry laurel powders*.....**461-475**
- Şanlı, E., Gürsel, A., Şanlı, T., Yıldız, F., Benli, M. *Az yağlı Kaşar peyniri üretiminde ekzopolisakarit üreten kültür kullanımı üzerine bir araştırma* / *A study on using exopolysaccharide-producing culture in low fat Kaşar cheese*.....**490-500**
- Demirel, H., Demir, M. K. *Farklı turunçgillerden elde edilen albedoların bisküvi üretiminde kullanımı* / *Using albedos obtained from different citrus in cookie production*.....**501-511**
- Uçak, İ. *Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi* / *Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract*.....**523-532**

### Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Yurt, M., Gezer, C. *Chia tohumunun (Salvia hispanica) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri* / *The functional properties of chia (Salvia hispanica) seeds and their effects on health*.....**446-460**
- Yıldırım, A., Duran, M., Koç, M. *Su aktivitesinin ve farklı kurutma sistemlerinin biyoaktif bileşenlerin stabiliteyi üzerine etkisi* / *The effect of water activity and different drying systems on the stability of bioactive compounds*.....**512-522**

### **Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)**

- Tekgul, Y., Kok, F. *Screening of tetracycline and florfenicol antibiotic residues in broiler meat using ELISA and confirmation by liquid chromatography/tandem mass spectrometry / Broiler etlerindeki tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntılarının ELISA ile görüntülenmesi ve sıvı kromatografisi kütle/ kütle spektrometresi ile doğrulanması.....***403-412**
- Toker, O. S., Pirouzian, H. R., Konar, N., Genç Polat, D. *Bv seeding as an alternative pre-crystallization technique in synbiotic milk chocolate production / Bv tohumlama tekniğinin alternatif pre-kristalizasyon yöntemi olarak sinbiyotik sütlü çikolata üretiminde kullanımı.....***422-431**
- Azarabadi, N., Özdemir, F. *Determination of crocin content and volatile components in different qualities of Iranian saffron / Farklı kalitedeki İran safranların krosin içeriği ve uçucu bileşenlerinin belirlenmesi.....***476-489**

### **Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)**

- Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B. Okut, D., Koç, M., Kaymak Ertekin, F. *Farklı dondurma ve çözündürme yöntemleri ile ön işlem uygulamalarının mandalina ve çilekte kalite özellikleri üzerine etkileri / Effects of different freezing and thawing methods including pretreatments on quality attributes of mandarin and strawberry.....***370-383**
- Pelvan, E., Demirtaş, İ. *Türkiye'de yetişen bittüm (Pistacia terebinthus L.) ve fıstık (Pistacia vera) yağlarının yağ asidi, sterol, tokol kompozisyonları, toplam fenolik madde miktarları ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi / Determination of fatty acid, sterol, tocol compositions, total phenolic contents and antioxidant activities of turpentine (Pistacia terebinthus L.) and pistachio (Pistacia vera) oils grown in Turkey.....***384-392**
- Arslan Tontul, S., Mutlu, C., Koç, A., Erbaş, M. *Çiya tohumundan ultrason destekli yağ ekstraksiyonunun optimizasyonu / Optimization of ultrasound assisted oil extraction from chia seeds.....***393-402**
- Özge Dinç, S., Özbey, A., Erinç, Ö. *İnülin ve maltodekstrin ilavesinin kefirlerin konjüge linoleik asit içeriği üzerine etkisi / Effect of inulin and maltodextrin addition on conjugated linoleic acid content of kefir.....***413-421**
- Mutlu, C., Erbaş, M. *Vakum kurutma yöntemi kullanılarak üretilen sade ve meyveli bal tozlarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi / Determination of some physical, chemical and sensory properties of plain and fruity honey powders produced with vacuum drying method.....***432-445**
- Dirim, S. N., Talih, M. *Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi / The effects of drying agents on properties of freeze dried cherry laurel powders.....***461-475**
- Şanlı, E., Gürsel, A., Şanlı, T., Yıldız, F., Benli, M. *Az yağlı Kaşar peyniri üretiminde ekzopolisakarit üreten kültür kullanımı üzerine bir araştırma / A study on using exopolysaccharide-producing culture in low fat Kasar cheese.....***490-500**
- Demirel, H., Demir, M. K. *Farklı turuncgillerden elde edilen albedoların bisküvi üretiminde kullanımı / Using albedos obtained from different citrus in cookie production.....***501-511**
- Uçak, İ. *Propolis ekstraktı ile zenginleştirilmiş balık yağında lipit oksidasyonu düzeyinin belirlenmesi / Determination of the lipid oxidation level in fish oil enriched with propolis extract.....***523-532**

### **Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)**

- Yurt, M., Gezer, C. *Chia tohumunun (Salvia hispanica) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri / The functional properties of chia (Salvia hispanica) seeds and their effects on health.....***446-460**
- Yıldırım, A., Duran, M., Koç, M. *Su aktivitesinin ve farklı kurutma sistemlerinin biyoaktif bileşenlerin stabilitei üzerine etkisi / The effect of water activity and different drying systems on the stability of bioactive compounds.....***512-522**