

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 43

SAYI / NUMBER : 6

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

<b>Editörler / Editors</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
<p>ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i> ERİNÇ, Hakan; <i>Ömer Halisdemir University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i> TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünoğlu, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i></p>
<p><b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p><b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org</p> <p><b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli</p> <p><b>Hazırlayan / Prepared</b> Onay Ofset Matbaacılık G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey Tel : (+90) 312 230 22 09 e-mail: onayofset@gmail.com</p> <p><b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 12 2018</p>	

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Gedikoğlu, A., Clarke, A.D., Gruen, I. *Determination of flavonoids in citrus fiber and the impact of processing method on total phenolic content, total flavonoid content, total carotenoid content and oxygen radical absorbance capacity* / Turunçgil lifinde flavonoidlerin belirlenmesi ve üretim metodunun toplam fenolik miktarı, toplam flavonoid miktarı, toplam karotenoid miktarı ve oksijen radikal soğurma kapasitesine etkisi . . . . . **917-924**
- Baysar, A., Karataş, F. *Investigation of some water soluble parameters in apricot fruit of different varieties cultivated / Farklı kayısı çeşitlerinde suda çözünür bazı parametrelerin araştırılması* . . . . . **925-929**
- Özdemir, K.S., Azarabadi, N., Topuz, A. *Microencapsulation of bergamot peel essential oil with gum arabic and maltodextrin blends: Stability and release characteristics of the essential oil compounds* / Bergamot uçucu yağının arap zıncığı ve maltodekstrin karışımları kullanılarak mikroenkapsülasyonu: Uçucu yağ bileşenlerinin stabilite ve salınım özelliklerinin belirlenmesi . . . . . **957-970**
- Baran Ekinci, M., Özcelik, F. *Detection of genetically modified maize in foods and feedstuff by PCR methods / Gıda ve yemlerde genetik modifiye mısırın PCR metotları ile tespiti* . . . . . **971-983**
- Yüksel Önür, Z. *Milk jam or dulce de leche: Physicochemical characterization / Süt reçeli veya dulce de leche: Fizikokimyasal karakterizasyonu* . . . . . **1091-1099**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Koçer, G., Keklik, N. M. Atımlı UV ışığın beyaz şapkalı kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yüzeyinde *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine etkileri / *Inactivation of Listeria monocytogenes on the surface of cultivated mushroom (Agaricus bisporus) by pulsed UV light* . . . . . **896-905**
- Karahan, D., Keklik, N.M. Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceğinin geliştirilmesi ve raf ömrünün belirlenmesi / *Development of a new flavored cold coffee drink and determination of its shelf life* . . . . . **906-916**
- Yüceer, M. Sıvı yumurtada ultrases tekniği kullanımının ürünün bazı fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi / *Effects of ultrasound treatment on functional and physical properties of liquid eggs* . . . . . **1019-1029**
- Şanlıdere Aloglu, H., Gökgez, Y., Bayraktar, M. Kocayemiş (dağ çileği-*Arbutus unedo* L.) meyveli dondurma üretimi, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal parametreler açısından irdelenmesi / *Strawberry tree fruits (Arbutus unedo L.) ice cream production, investigation of physical, chemical and sensorial parameters* . . . . . **1030-1039**
- Erge, A., Cin, K., Şeker, E. Erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanılması / *The use of plum and apple juice at chicken meat marination* . . . . . **1040-1052**
- Var, I., Atasever Savaş, Ö., Sağlam, S., Uçkun, O. Okratoksin a'nın ekmekte bulunma miktarında fermantasyon ve pişirmenin etkisi / *The effect of fermentation and cooking process on the amount of OTA in breads* . . . **1053-1060**
- Sözgen, G., Özdoğan, G., Kaplan Türköz, B. *Zymomonas mobilis* levansukraz enziminin levan üretiminde kullanılması / *Use of Zymomonas mobilis levansucrase in levan production* . . . . . **1061-1074**
- Çorapçı, B. Ön işlemsiz donmuş depolanan (-22±1 °C) hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyuşsal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri / *Properties of without pre-treatment frozen stored (-22±1 °C) anchovy (Engraulis encrasicolus, Linnaeus 1758) and bonito (Sarda sarda, Bloch 1793) meats* . . . . . **1075-1090**
- Çınar, B., Dizlek, H. Farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanımının sufle kek kalitesine etkisi / *The effect of using at different types and levels hydrocolloid on soufflé cake quality* . . . . . **1110-1115**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Ünal, M. Ü., Şener, A., Cemek, K. / *Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri / Effects of bioactive peptides on health* . . . . . **930-942**
- Akdeniz, V., Özer, E., Akalın, A. S. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda probiyotiklerin rolü / *Role of probiotics in Helicobacter pylori infection* . . . . . **943-956**
- Güneş, R., Palabıyık, İ., Kurultay, Ş. Şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi / *Functional food production in the confectionery technology* . . . . . **984-1001**
- Atalay, D., Türken, T., Selen Erge, H. Pektin; kaynakları ve ekstraksiyon yöntemleri / *Pectin; sources and extractions methods* . . . . . **1002-1018**

**ATIMLI UV IŞIĞIN BEYAZ ŞAPKALI KÜLTÜR MANTARI (*AGARICUS BISPORUS*) YÜZEYİNDE *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Gamze Koçer\*, Nene Meltem Keklik**

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye

Geliş / Received: 06.05.2018; Kabul / Accepted: 26.09.2018; Online baskı / Published online: 03.11.2018

Koçer, G., Keklik, N.M. (2018). Atımlı UV ışığın beyaz şapkali kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yüzeyinde *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine etkileri. GIDA (2018) 43 (6): 896-905 doi: 10.15237/gida.GD18052

Koçer, G., Keklik, N.M. (2018). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on the surface of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) by pulsed UV light. GIDA (2018) 43 (6): 896-905 doi: 10.15237/gida.GD18052

**ÖZ**

Bu çalışmada, *Listeria monocytogenes* ile inoküle edilen beyaz şapkali kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) dilimleri, kuvars camdan farklı uzaklık (5, 8, 13 cm) ve sürelerde (5, 15, 30, 45, 60 s), 4.00-101.26 J/cm<sup>2</sup> enerji dozu aralığında atımlı UV (PUV) ışığa maruz bırakılarak *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu incelenmiştir. En yüksek ve en düşük mikrobiyal azalma sırasıyla 1.96 log KOB/g (5 cm-60 s) ve 0.48 log KOB/g (13 cm-5 s) olarak bulunmuştur. İşlem süresi ve kuvars cama olan yakınlık arttıkça mantar yüzeyinde esmerleşmenin arttığı, nem miktarı ve su aktivitesinin ise azaldığı gözlemlenmiştir. 5 cm-60 s işlem koşullarında mantarın antioksidan aktivitesinde belirgin bir artış sağlanmıştır ( $P < 0.05$ ). Sonuç olarak bu çalışma ile PUV ışığın kültür mantarı yüzeyinde *L. monocytogenes* için potansiyel bir dekontaminasyon yöntemi olduğu ve kültür mantarının antioksidan seviyesindeki artış ile besin değerini de olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Agaricus bisporus*, atımlı UV ışık, *Listeria monocytogenes*, mikrobiyal inaktivasyon.

**INACTIVATION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* ON THE SURFACE OF CULTIVATED MUSHROOM (*AGARICUS BISPORUS*) BY PULSED UV LIGHT**

**ABSTRACT**

In this study, the sliced button mushrooms (*Agaricus bisporus*) which were inoculated with *Listeria monocytogenes* were exposed to pulsed UV (PUV) light at the energy dose ranging between 4.00-101.26 J/cm<sup>2</sup>, at different distances from the quartz window (5, 8, 13 cm) for different times (5, 15, 30, 45, 60 s). The highest and lowest inactivation values were determined as 1.96 log CFU/g (5 cm-60 s) and 0.48 log CFU/g (13 cm-5 s), respectively. As the treatment time and proximity to the quartz window increased the browning on the mushroom surface increased. Also, moisture content and water activity decreased. After the 5 cm-60 treatment a significant increase in antioxidant activity of the mushroom was obtained ( $P < 0.05$ ). This study demonstrated that PUV light is a potential technique for the elimination of *L. monocytogenes* on button mushrooms and may affect the nutritional value positive by increasing the antioxidant level of mushrooms.

**Keywords:** *Agaricus bisporus*, *Listeria monocytogenes*, microbial inactivation, pulsed UV light.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gamzekocer.05@gmail.com

☎ (+90) 346 219 10 10

☎ (+90) 346 219 11 65



## GİRİŞ

Mantarlar, canlılar aleminin fungi topluluğuna ait olup dünya genelinde hem besin değerinin yüksek olması hem de fonksiyonel özelliklerinden dolayı yüzyıllardan beri tüketilmektedir (Guan vd., 2012). Dünyada yenilebilir mantarlardan en fazla yetiştiriciliği yapılan tür beyaz şapkali kültür mantarı (*Agaricus bisporus*)'dır. Mantarlardan elde edilen özütler ve fenolik asitler antimikrobiyal aktivite açısından değerlendirilmiş ve oldukça güçlü bir antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Heleno vd., 2015). Ayrıca yüksek kolesterol, damar sertliği ve kansere karşı koruyucu etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur (Miles ve Chang, 2004; Yuk vd., 2007).

Mantarlar büyüme ve işleme sırasında gerek toprak ve su kaynaklı mikroorganizmalarla gerekse hijyeni yetersiz toplayıcı veya paketleniciler yoluyla kolayca kontamine olabirler. Yapılan çalışmalarda, gıda kaynaklı patojenler olan *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in çiğ mantarda bulunduğu rapor edilmiştir (Samadpour vd., 2006). Ayrıca; bu patojen bakterilerin depolama ve satış süresince canlı kalabildiği tespit edilmiştir (Doyle ve Schoeni, 1986).

Kültür mantarlarında bulunması muhtemel patojen bakteriler tüketici sağlığını tehdit ederken; kısa raf ömrü de mantarların tüketim potansiyelini kısıtlamaktadır. Mantarlar üzerinde kontaminasyon derecesini azaltmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla endüstride sülfite, ozon, klor dioksit, hidrojen peroksit ve çeşitli organik asitler ile yıkama gibi kimyasal metotlar uygulanması daha kolay ve ucuz olduğu için yaygın olarak kullanılmaktadır (Brennan vd., 2000; Yuk vd., 2007; Guan vd., 2013). Bu yıkama işlemleri, mantarlarda doğal rengin kaybedilmesi, su alımının artışı ve mekanik zararlar ile doku hasarlarına neden olmaktadır. Endüstride kullanılan bir diğer koruma yöntemi olan ısıl prosesler ise gıdaların bazı besinsel öğelerinde azalmalara yol açmaktadır (Murcia vd., 2000; Oms-Oliu vd., 2010).

Yeni muhafaza tekniklerinden atımlı UV (PUV) ışık, UV-C ışıkça zengin olup, 100-1100 nm dalga

boyu aralığında kısa zamanlı, yoğun atımlar kullanarak mikrobiyal inaktivasyon oluşturması sonucu yüzeylerde dekontaminasyon sağlayan bir tekniktir (Oms-Oliu vd., 2010). PUV ışık, daha geniş bir spektruma sahip olması, kısa sürede yoğun ve şiddetli atımlar yapması nedeniyle sürekli UV ışığa (100-400 nm) göre daha hızlı ve etkili bir dekontaminasyon yöntemidir (Dunn, 1995; Krishnamurthy vd., 2007; Cheigh vd., 2012). PUV ışığın gıdalardaki kullanımını 1999 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (Federal Register, 1999). Bu teknikle mikrobiyal azalma; timin dimerlerinin oluşumuyla mikroorganizma DNA'sının zarar görmesi (fotokimyasal etki) (Wang vd., 2005), mikrobiyal hücrelerin lokalize olarak aniden ısınması (fototermal etki) (Wekhof, 2000) ve ani, yüksek enerjili ışık atımlarının etkisiyle yapısal hasarlar (fotofiziksel etki) (Takeshita vd., 2003; Krishnamurthy vd., 2007) yoluyla meydana gelmektedir.

Literatürde, beyaz lahana, pırasa, kırmızı biber, havuç ve kara lahana olmak üzere 5 çeşit sebze üzerinde (Gómez-López vd., 2007), çilek ve ahududu (Bialka vd., 2008), elma ve portakal suyu (Pataro vd., 2011), bal (Hillegas ve Demirci, 2003), deniz ürünleri (Cheigh vd., 2013), tavuk ürünleri (Keklik vd., 2009), süt (Krishnamurthy vd., 2007) gibi birçok gıdada PUV ışık ile patojen mikroorganizmaların inaktivasyonuna dair çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışmada, kültür mantarı yüzeyinde *L. monocytogenes*'in PUV ışık uygulanması ile inaktivasyonu incelenmiştir. Yöntemin mantar yüzeyindeki mikrobiyal inaktivasyon etkinliği ile birlikte mantarın kalitesi üzerine etkileri de değerlendirilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Taze kültür mantarları (*A. bisporus*), Sivas'ta yerel bir marketten satın alınmıştır. Laboratuvara getirilen taze mantarlar, 4°C'de en fazla 3 gün içerisinde deneyde kullanılmak üzere temiz plastik poşetler içerisinde depolanmıştır. Çalışmalarda *L. monocytogenes* (CECT 935, Spanish Type Culture Collection, İspanya) stok kültürü kullanılmıştır. Stok kültür, üretici talimatına göre canlandırılmıştır.

### Yöntem

Bütün halindeki mantarlar 200 µL/L sodyum hipoklorit ile yıkanarak dezenfekte edilmiştir. Steril distile su ile durulanıp yüzey kuruduktan sonra aseptik koşullarda şapka ve sap kısmını ayırmadan 2 mm kalınlığında kesilerek mantar dilimleri hazırlanmıştır. Her bir mantar diliminin yüzeyine 100 µL *L. monocytogenes* inokulum sıvısı eklenerek tüm yüzeye homojen bir şekilde yayılması sağlandıktan sonra mikroorganizma hücrelerinin mantar yüzeyine tutunması için 30 dk süre ile oda sıcaklığında bekletilmiştir.

### Atımlı UV Işık Uygulaması

Her bir uygulama için iki kontrol grubu (birincisi inokülasyon yapılmamış ve işlem görmemiş örnek, ikincisi inokülasyon yapılmış ancak işlem görmemiş örnek) kullanılmıştır. *L. monocytogenes* ile inoküle edilen ve steril alüminyum folyo kaplar üzerinde konumlandırılan dilimlenmiş her bir mantar örneği, ışık sistemi (RS-3000C, Xenon Corp., ABD) içinde ışık kaynağından 5.8 cm uzaklıkta olan kuvars camdan 5, 8 ve 13 cm uzaklıklarda 5, 15, 30, 45 ve 60 s süresince PUV ışık işlemine maruz bırakılmıştır.

### Mikrobiyolojik Analiz

Mikrobiyal analiz için işlem görmüş ve görmemiş mantar dilimleri, içerisinde tamponlanmış peptonlu su (Lab M, Birleşik Krallık) (9 mL/g mantar) bulunan steril plastik poşetlere (SM2-01, Gosselin, Fransa) konularak pedallı homojenizatörde (Bag Mixer 400 P, Interscience, Fransa) 2 dk süresince homojen hale getirilmiştir. Homojen hale gelen örnekler ile hazırlanan dilüsyonlardan 200 µL alınarak hazır Palcam agara (Liofilchem, İtalya) yayma yöntemi ile ekim gerçekleştirildikten sonra petri kapları 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında Palcam agar besiyerinde oluşan 1-1.5 mm çapında siyah zonlu tipik kolonilerin sayımı yapılarak dilim başına koloni oluşturan birim (KOB/ g) olarak ifade edilmiştir.

### Atımlı UV Işık Uygulamasında Sıcaklık ve Enerji Ölçümleri

Sıcaklık ve enerji ölçümleri 5 cm-60 s (şiddetli), 8 cm-30 s (orta) ve 13 cm-5 s (hafif) işlem basamakları için yapılmıştır. İşlem öncesi ve

işlemin hemen sonrasında kızılötesi termometre (Extech Instrument, Amerika), mantarların yüzeyine temas etmeyecek şekilde tutulup, şapka ve sap kısmında ayrı ölçümler yapılarak sıcaklık değişimleri incelenmiştir. PUV ışık kabininde uygulama esnasında açığa çıkan enerji miktarı, bir piroelektrik sensör (PE50-DIF-C, Ophir Optronics, İsrail), kuvars cama 5, 8 ve 13 cm uzaklıklarda konumlandırılarak ölçülmüştür. Ölçümlerde mantar kullanılmamıştır.

### Kalite Analizleri

Tüm kalite analizleri 5 cm-60 s (şiddetli), 8 cm-30 s (orta) ve 13 cm-5 s (hafif) işlem basamakları için yapılmıştır.

### Renk Analizi

Renk ölçümleri, işlem görmüş ve görmemiş örnekler üzerinde rastgele seçilen üç noktada CIELAB renk yöntemi kullanan bir kolorimetre (CM-600d, Konica Minolta, Japonya) ile yapılmış olup ölçülen L\*, a\*, b\* değerlerinde meydana gelen ortalama değişimler belirlenmiştir.

### Nem ve Su Aktivitesi Ölçümü

Mantarların işlem öncesi ve sonrası nem ile su aktivitesi değerleri sırasıyla nem tayin cihazı (MOC63u, Shimadzu, Japonya) ve su aktivitesi ölçüm cihazı (Novasina, LabTouch-aw, İsviçre) kullanılarak belirlenmiştir.

### Antioksidan Tayini

Dilimlenmiş mantarların antioksidan kapasiteleri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu yöntem, DPPH radikali üzerinde mantarda bulunan antioksidanların serbest radikal süpürücü etkisini belirlemek amacıyla uygulanmıştır. PUV ışığa maruz bırakılan ve bırakılmayan mantar örnekleri parçalandıktan sonra alınan 5 g örnek, 5000 rpm ve 4°C'de 60 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından filtre kağıdından (Whatman no: 1, 90 mm çaplı) geçirilerek sıvı kısımdan alınan 0.1 mL örnek, 3.9 mL metanolik DPPH çözeltisine (0.025 g/L) eklenmiştir. Homojenat, vorteks yardımıyla karıştırılarak 30 dk boyunca karanlık bir ortamda bekletildikten sonra örneklerin absorpsiyon değerleri UV-Vis spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda

ölçülmüştür (Oms-Oliu vd., 2010). Kör çözeltisi olarak metanol, referans olarak da içerisinde örnek olmayan DPPH çözeltisi (3.9 mL DPPH+0.1 mL distile su) kullanılmıştır. Sonuçlar referansın absorpsiyon değeri ile kıyaslanarak azalan yüzde oranı olarak ifade edilmiştir (Ancos vd., 2002). Serbest radikal olan DPPH bileşiminde meydana gelen inhibisyon aşağıda belirtilen formül ile hesaplanmıştır (Gursoy vd., 2009).

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 \times (A_{\text{referans}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{referans}} [1]$$

### İstatistiksel Analiz

Her bir uygulama 3 tekrür halinde yapılmıştır. Elde edilen veriler, bağımsız değişkenlerin kendi aralarındaki etkileşimleri ve bağımlı değişken üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla MINITAB 17'de ANOVA-Genel Doğrusal Model ile analiz edilmiştir. Değerlerin ortalamaları arasındaki farkların %95 güven aralığında ( $P < 0.05$ ) anlamlı olup olmadığı Tukey yöntemi ile test edilmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Mikrobiyal İnaktivasyon

İnokulum solüsyonunun mikrobiyal yoğunluğu ortalama  $7.0 \times 10^8$  KOB/mL olarak belirlenmiştir. Farklı uzaklık ve sürelerde uygulanan PUV ışığın etkisiyle meydana gelen log azalmaları Çizelge 1'de verilmiştir. PUV ışık sisteminde kuvars camdan 5 cm uzaklıkta yapılan işlemlerde süreye bağlı olarak, *L. monocytogenes*'de 0.55-1.96 log KOB/g aralığında inaktivasyon meydana gelmiş olup en yüksek inaktivasyon beklenildiği gibi 5 cm-60 s uygulamasında elde edilmiştir. 8 cm uzaklıkta yapılan işlemlerde elde edilen inaktivasyon değerleri 0.50 ile 1.87 log KOB/g aralığındadır. Uygulama süresi arttıkça logaritmik olarak meydana gelen inaktivasyon artmış olsa da istatistiksel olarak 5, 15, 30 ve 45 s uygulamaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Fakat 60 s süren uygulamanın, 5 ve 15 s uygulama verilerinden önemli derecede farklı olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Kuvars camdan 13 cm uzaklıkta ise 0.48-1.20 aralığında log KOB/g azalma elde edilmiştir.

Çizelge 1. Mantar yüzeyine PUV ışık uygulaması sonrasında *L. monocytogenes*'te meydana gelen log azalmaları

Uygulama koşulları <i>Treatment conditions</i>		Toplam enerji dozu (J/cm <sup>2</sup> ) <i>Total energy dose</i>	Log azalma (KOB/g) <i>Log reduction</i>
Uzaklık (cm) <i>Distance</i>	Süre (s) <i>Time</i>		
5	5	8.44±0.34 <sup>hi</sup>	0.55±0.12 <sup>cd</sup>
	15	25.31±1.01 <sup>f</sup>	0.75±0.16 <sup>cd</sup>
	30	50.63±2.02 <sup>d</sup>	1.18±0.46 <sup>abcd</sup>
	45	75.94±3.03 <sup>b</sup>	1.53±0.21 <sup>abc</sup>
	60	101.26±4.03 <sup>a</sup>	1.96±0.46 <sup>a</sup>
8	5	5.68±0.26 <sup>i</sup>	0.50±0.07 <sup>d</sup>
	15	17.05±0.77 <sup>g</sup>	0.61±0.18 <sup>cd</sup>
	30	34.09±1.55 <sup>e</sup>	0.94±0.18 <sup>bcd</sup>
	45	51.14±2.32 <sup>d</sup>	1.13±0.20 <sup>abcd</sup>
	60	68.18±3.1 <sup>c</sup>	1.87±0.96 <sup>ab</sup>
13	5	4.00±0.02 <sup>j</sup>	0.48±0.04 <sup>d</sup>
	15	11.99±0.07 <sup>gh</sup>	0.60±0.06 <sup>cd</sup>
	30	23.98±0.14 <sup>f</sup>	0.73±0.09 <sup>cd</sup>
	45	35.97±0.20 <sup>e</sup>	0.90±0.11 <sup>bcd</sup>
	60	47.96±0.27 <sup>d</sup>	1.20±0.17 <sup>abcd</sup>

Aynı sütunda ve aynı uzaklık koşullarında aynı harfi taşımayan değerler, birbirinden anlamlı olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

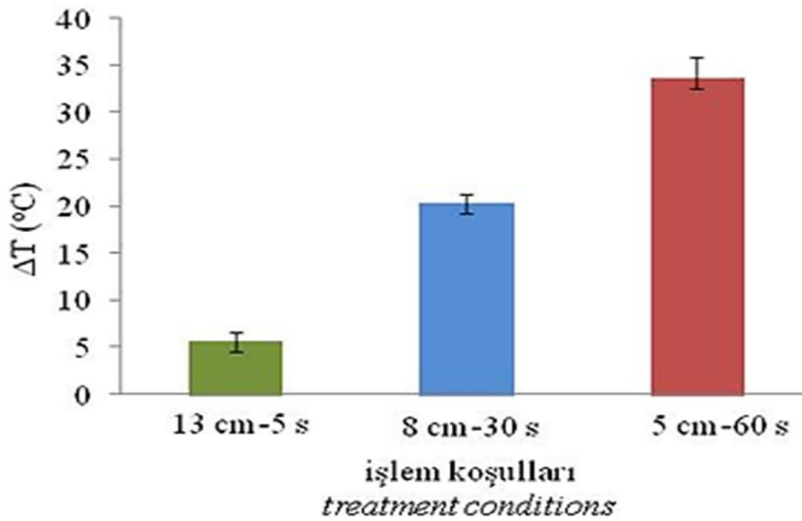
Kuvars camdan farklı uzaklıklarda gerçekleştirilen uygulamalar sonucu elde edilen inaktivasyon değerleri kendi aralarında süreden bağımsız olarak karşılaştırıldığında; 5 cm ve 8 cm ile 8 cm ve 13 cm arasında anlamlı bir fark bulunmazken ( $P > 0.05$ ); 5 cm ve 13 cm mesafelerinde elde edilen inaktivasyon değerlerinin önemli derecede farklı ( $P < 0.05$ ) olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde; mesafeden bağımsız, sadece süre parametresine bağlı olarak yapılan istatistiksel analizde; 60 s uygulaması diğer tüm işlem sürelerinden, 45 s uygulaması da 5 ve 15 s süren uygulamalardan belirgin bir şekilde farklı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Işık kaynağına olan yakınlık ve uygulama süresi arttıkça sistemde açığa çıkan enerji artmaktadır (Çizelge 1). Toplam enerjiye bağlı olarak log azalmalarının da arttığı belirlenmiştir. Kültür mantarlarının yüksek su aktiviteleri göz önüne alındığında; 0.95  $a_w$  seviyesinde, buzdolabı sıcaklığında yaşayabilen ve hatta çoğalabilen *L. monocytogenes* için, belirlenen bu log azalmaları kayda değer olarak nitelendirilebilir.

Wang vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada, *E. coli* üzerinde PUV ışık enerjisinin yoğunluğu arttıkça inaktivasyon etkinliğinin arttığı belirtilmiştir. Bir başka çalışmada, PUV ışık teknolojisi ile *Salmonella* Typhimurium için vakum paketlenmiş tavuk göğsünde 0.8-2.4 KOB/cm<sup>2</sup>, paketlenmemiş tavuk göğsünde ise 1.2-2.4

KOB/cm<sup>2</sup> aralığında bir log azalma sağlanmıştır (Keklik vd., 2010). Paketlenmemiş tavuk soslerinde ise *L. monocytogenes* için 0.3-1.9 KOB/cm<sup>2</sup>lik bir inaktivasyon gözlenmiştir (Keklik vd., 2009). Çalışmamızda, kültür mantarlarında *L. monocytogenes* için elde ettiğimiz 0.48-1.96 log KOB/g mikrobiyal azalma ile tavuk sosleri üzerindeki dekontaminasyon sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür.

#### Atımlı UV Işık Uygulamasında Sıcaklık ve Enerji Seviyeleri

Uygulama sonrasında, örneklerde meydana gelen sıcaklık değişimlerini tespit etmek, PUV ışığın dekontaminasyon tekniği olarak kültür mantarları üzerindeki kullanım potansiyelini belirlemek açısından önemlidir. Ölçümde kullanılan kültür mantarlarının başlangıç sıcaklıkları  $21.5 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 'dir. 13 cm-5 s (hafif), 8 cm-30 s (orta) ve 5 cm-60 s (şiddetli) uygulamalarında örneklerin yüzeyinde sırasıyla  $5.58 \pm 0.95^\circ\text{C}$ ,  $20.25 \pm 1.09^\circ\text{C}$  ve  $33.57 \pm 2.31^\circ\text{C}$  artış olmuştur (Şekil 1). Bu üç farklı koşuldaki uygulamalar arasında belirgin bir fark olduğu yapılan istatistiksel analizler sonucunda tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Mantar üzerinde ortaya çıkan bu sıcaklık değerleri, patojen mikroorganizmalar için öldürücü etkinin altında değerlerdir. Bu da PUV ışığın ısı olmayan bir dekontaminasyon tekniği olduğunu desteklemektedir.



Şekil 1. PUV ışık uygulaması sonrasında mantar yüzeyinde meydana gelen sıcaklık değişimleri  
Figure 1. Temperature variations on the mushroom surface after PUV light treatment

Hilton vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada; *L. innocua*, *E. coli* ve *Pseudomonas fluorescens* patojen bakterileri, önce 5-50°C sıcaklıklara daha sonra 1.02-12.29 J/cm<sup>2</sup> enerji aralığında PUV ışığa maruz bırakıldığında *E. coli* ve *P. fluorescens* için elde edilen log azalmalarında sıcaklığın herhangi bir etkisi olmaz iken *L. innocua* patojeninde 50°C'de PUV ışık uygulamasında sıcaklık ile ışık atımlarının sinerjistik etkisi gözlenmiştir. Benzer şekilde, Gayan vd. (2015) çalışmalarında sürekli UV ışınlarının *L. monocytogenes* için öldürücü etkisinin, en az 50-60°C'de sinerjistik etki ile arttığını bildirmişlerdir.

PUV ışık uygulamasının tüm işlem basamaklarında açığa çıkan toplam enerji miktarları arttıkça log azalmaları da artmıştır (Çizelge 1). Uygulama mesafelerine bağlı olarak 1 saniyede sensör tarafından algılanan enerji miktarları Çizelge 2'de verilmiştir. Aynı işlem sürelerinde ışık kaynağına olan uzaklık arttıkça enerji yoğunluğunun azalmasına bağlı olarak, mantar yüzeyinde uygulama sonrası meydana gelen sıcaklık farkı azalmıştır. Bununla birlikte, aynı uzaklıkta farklı sürelerde yapılan uygulamalarda işlem süresi arttıkça sıcaklık ve toplam enerji değerlerinde de artış olmuştur. Bu artış, zaman içerisinde kapasitörde daha fazla enerji birikimi olması ve bu biriken enerjinin uygulama esnasında sistem içerisinde açığa çıkmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 2. Kuvars cama olan uzaklığa bağlı olarak değişen enerji seviyeleri

Table 2. Energy levels varying with the distance from the quartz window

Uzaklık (cm) Distance	Enerji seviyesi (J/cm <sup>2</sup> .s) Energy level
5	1.69±0.07 <sup>a</sup>
8	1.14±0.05 <sup>b</sup>
13	0.80±0.00 <sup>c</sup>

Aynı sütunda aynı harfi taşımayan değerler, birbirinden anlamlı olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

Values that do not carry the same letter in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

Pataro vd. (2011), kuvars camdan 1.9 cm uzaklıkta her bir atımın 1.21 J/cm<sup>2</sup> enerji oluşturduğu bir PUV ışık sisteminde 1.8-5.5 J/cm<sup>2</sup> enerji yoğunluğu aralığında, örnek haznesi içindeki hava sıcaklığının 32°C'den 37°C'ye, meyve sularının sıcaklığının ise 18°C'den 24°C'ye yükseldiğini ifade etmişlerdir. Elde edilen sonuçlar sistemde bir soğutma fanı bulunmasına rağmen, enerji dozunun arttıkça sıcaklığın da arttığını göstermiştir. Bu doğrultuda, PUV ışık sisteminin tasarımı daha uygun ve etkili bir soğutma sistemi ile iyileştirilerek ışık atımları sırasında sıcaklık artışını en aza indirmenin mümkün olabileceği düşünülmektedir.

### Renk Parametreleri

Kontrol grupları ile uygulamaya tabii tutulan mantar örnekleri arasındaki renk farklılıkları  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  olarak Çizelge 3'te verilmiştir. Kontrol grubunun ortalama  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri sırasıyla  $87.62 \pm 2.16$ ;  $2.14 \pm 0.55$  ve  $12.85 \pm 1.03$  olarak bulunmuştur. PUV ışık uygulamasındaki renk değişimlerine bakıldığında tüm işlem gruplarının  $\Delta L^*$  değerleri kontrol gruplarından farklıdır ( $P < 0.05$ ). 5 cm-60 s işlemindeki  $\Delta L^*$  değerinin 8 cm-30 s ve 13 cm-5 s işlemlerine göre önemli derecede farklı olduğu gözlemlenmiştir ( $P < 0.05$ ).  $\Delta a^*$  değerlerinde 5 cm-60 s işlemi ile 8 cm-30 s işlemi arasında anlamlı bir fark bulunmazken ( $P > 0.05$ ); 5 cm-60 s işlemi ile 13 cm-5 s işlemi ile arasında belirgin bir fark vardır ( $P < 0.05$ ). Ayrıca; üç işlem basamağında da  $\Delta b^*$  değerleri birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

Kuvars camdan 5 cm uzaklıkta 60 s boyunca PUV ışığa maruz bırakılan mantar örneğinde meydana gelen renk değişimi Şekil 2'de gösterilmiştir. 5 cm-60 s işleminde zaman zaman örneklerin sıcaklık etkisiyle kahverengileştiği ve mantarın hacminde çok az da olsa azalmalar olduğu gözlemlenmiştir.

### Nem Miktarı

Kültür mantarlarının bünyesinde bulundurduğu su oranı oldukça yüksektir. Mantarların yüzey yapısı onları su kaybına duyarlı hale getirir ve su kaybı mantarda büzüşmelere ve bozulmaya neden olur (Jiang vd., 2012). Bu çalışmada kontrol grubundaki kültür mantarlarının ortalama nem içeriği  $92.31 \pm 0.94$  (ıslak temelde) olarak

bulunmuştur. Nem değerlerinde en fazla düşüş ( $1\pm0.28$ ) şiddetli işlem basamağında yapılan uygulamada gözlenmiştir (Çizelge 3). Şiddetli ve hafif işlem basamakları arasında nem değerleri arasında belirgin bir fark vardır ( $P < 0.05$ ). Mantar örneklerinin nem değerlerinin sıcaklık artışına bağlı olarak azaldığı düşünülmektedir. Bir başka

çalışmada, elma dilimleri, PUV ışığa ( $17.5-157.5$  kJ/m<sup>2</sup>) maruz bırakıldıktan hemen sonra yapılan ölçümlerde  $0.37-1.63$  aralığında nem kaybı gözlemlenmiş olup (Ignat vd., 2014); çalışmamızda elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir.

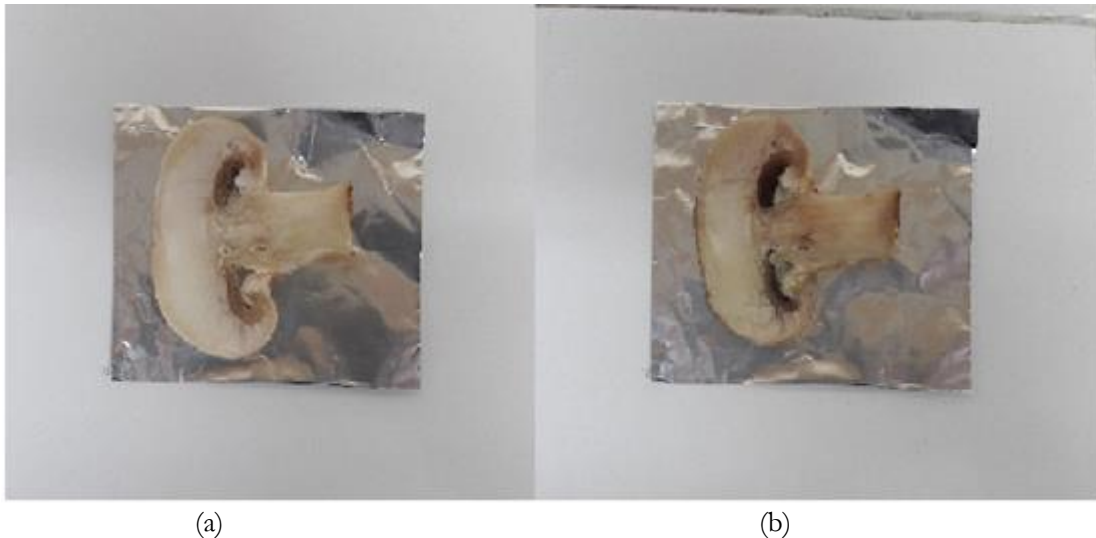
Çizelge 3. PUV ışık uygulamasının mantarın kalite parametrelerine olan etkileri

Table 3. Effects of PUV light treatment on the quality parameters of mushroom

Analiz türü <i>Analysis type</i>	Uygulama koşulları <i>Treatment conditions</i>			
	Kontrol <i>Control</i>	13 cm-5 s	8 cm-30 s	5 cm-60 s
$\Delta L^*$ ( $L^*-L_{kontrol}$ )	0.00 <sup>a</sup>	-2.22±0.65 <sup>b</sup>	-2.37±0.29 <sup>b</sup>	-6.52±1.37 <sup>c</sup>
$\Delta a^*$ ( $a^*-a_{kontrol}$ )	0.00 <sup>c</sup>	0.51±0.9 <sup>bc</sup>	0.86±0.36 <sup>ab</sup>	1.44±0.32 <sup>a</sup>
$\Delta b^*$ ( $b^*-b_{kontrol}$ )	0.00 <sup>d</sup>	0.86±0.20 <sup>c</sup>	2.00±0.27 <sup>b</sup>	3.22±0.36 <sup>a</sup>
$\Delta nem/\Delta moisture$ (% nem-% nem <sub>kontrol</sub> )	0.00 <sup>a</sup>	-0.39±0.15 <sup>ab</sup>	-0.58±0.17 <sup>bc</sup>	-1.00±0.28 <sup>c</sup>
$\Delta a_w$ ( $a_w-a_{wkontrol}$ )	0.000 <sup>a</sup>	0.000±0.001 <sup>a</sup>	-0.001±0.00 <sup>a</sup>	-0.007±0.003 <sup>b</sup>
% DPPH inhibisyonu/ <i>inhibition</i>	50.63±2.79 <sup>b</sup>	47.18±1.91 <sup>b</sup>	53.45±2.76 <sup>ab</sup>	57.90±2.24 <sup>a</sup>

Aynı satırda aynı harfi taşımayan değerler, birbirinden anlamlı olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

Values that do not carry the same letter in the same row are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).



Şekil 2. PUV ışık uygulaması (5 cm-60 s) sonrasında mantar yüzeyinde meydana gelen renk değişimi: a) işlem öncesi, b) işlem sonrası

Figure 2. Colour change on the mushroom surface after PUV light treatment (5 cm-60 s): a) pre-treatment, b) post-treatment

### Su Aktivitesi

Uygulamalar sonrasında su aktivitesinde ( $a_w$ ) meydana gelen değişimler Çizelge 3'de yer almaktadır. İşlem görmeyen kültür mantarlarının  $a_w$  değerleri ortalama  $0.984 \pm 0.001$ 'dir. Yüzde nem değerlerinde olduğu gibi PUV ışık, mantarların su aktivitesinde düşüşe neden olmuştur. 5 cm-60 s uygulama sonrasında  $a_w$  değerlerinde  $0.007 \pm 0.003$  değerinde bir düşüş meydana gelirken ( $P < 0.05$ ), diğer uygulamalar sonucunda ölçülen  $a_w$  değerleri ile kontrol grubunun  $a_w$  değerleri arasında fark bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

### Antioksidan Kapasitesi

Mantarda bulunan antioksidan fonksiyonuna sahip moleküller, mor renkteki DPPH çözeltisinde serbest radikalleri bağlayarak rengin açılmasına sebep olmuştur. Bunun sonucunda da 517 nm'de okunan absorbans değerleri, DPPH için ölçülen referans değere göre azalmıştır (Gursoy vd., 2010). Bir başka deyişle; mantar örneği ne kadar çok antioksidan bileşik içeriyorsa DPPH serbest radikalini o kadar çok indirgemştir. %DPPH inhibisyonu, 13 cm-5 s işleminde azalırken ( $P > 0.05$ ); diğer işlem basamaklarında artmıştır. Yani; şiddetli ve orta derecedeki ışık atımları antioksidan kapasitesinde artışa neden olmuştur (Çizelge 3). Oms-Oliu ve ark. (2010)'nın PUV ışığın kültür mantarının kalite özelliklerine etkilerini inceledikleri çalışmada; 4.8 ve 12 J/cm<sup>2</sup> enerji yoğunluğundaki ışık atımlarının mantarın antioksidan kapasitelerine başlangıçta etki etmediği görülmüştür. Ancak 7 gün depolama sonucunda işlem görmemiş mantarların antioksidan özelliklerinde yaklaşık yarı yarıya bir düşüş gözlenirken işlem görmüş mantarlardaki düşüş çok daha az oranda olmuştur (Oms-Oliu vd., 2010). Çalışmamızda gözlenen antioksidan kapasitesindeki bu iyileşme, UV ışıktan kaynaklı hormetik etkiye de bağlanabilir. Yapılan çalışmalarla hormetik etkinin daha çok UV-C ışığı içeren 100-280 nm dalga boylarında ortaya çıktığı bildirilmiştir (Shama ve Alderson, 2005; Kısım ve Uzunoglu, 2012). Lu vd. (2016) de UV-C ışığın mantarlarda fenolik asit içeriğini ve antioksidan kapasitesini bariz bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. Bu etki, araştırmacılar tarafından bitkilerin UV-C ışığa karşı verdiği hormetik yanıtlara bağlanmıştır. Ancak

antioksidan aktivitenin artış mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır.

### SONUÇ

Çalışma sonuçları, PUV ışık yönteminin ısı ve kimyasal yöntemlere alternatif olarak mantar yüzeyinde *L. monocytogenes*'e karşı inaktivasyonda etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Böylece hem ısı işlemler ile vitaminler gibi bazı besleyici öğelerin kaybı engellenebilir hem de mantarda kimyasal kalıntı riskinin önüne geçilebilir.

PUV ışık uygulamasında kuvars cama olan yakınlık, uygulama süresi ve bu parametrelere bağlı olarak toplam enerji dozu arttıkça *L. monocytogenes*'in inaktivasyonunun arttığı belirlenmiştir. En yüksek inaktivasyon  $1.96 \pm 0.46$  log KOB/g azalması ile 'şiddetli' olarak tanımlanan 5 cm-60 s PUV ışık işlemi sonrası elde edilmiştir. Ancak şiddetli işlem basamağında renk parametrelerinde diğer uzaklık ve işlem sürelerine göre daha fazla değişim gözlemlenmiştir. Bu durum, ürünün albenisini düşürecek ve tüketici tarafından daha az tercih edilmesine sebep olacaktır. Bununla birlikte en fazla nem kaybı ve su aktivitesi düşüşü de bu işlem basamağında gerçekleşmiştir. Fakat bu kaybın (%0.39-1.00), mantar kalitesi açısından dezavantaj oluşturacak seviyelerde olmadığı düşünülmektedir. Mantarların antioksidan kapasitesindeki %7.27 oranındaki iyileşme şiddetli işlem basamağında gözlenmesine rağmen; diğer kalite parametreleri için olumsuz sonuçlar elde edildiği için ışık kaynağından 5 cm uzaklıkta 60 s işlem süresi 45 s'ye düşürülerek kullanımı tercih edilebilir. Ancak en yüksek inaktivasyon değerlerinin 5 cm-60 s işleminde elde edildiği göz önüne alındığında renk kaybının engellenerek bu uygulama koşullarını optimize etmek daha tercih edilir bir seçenek olacaktır. Renkte meydana gelen koyulaşmaların, uygulama esnasında örnek kabini içerisinde oluşan sıcaklık yükselmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durumda sıcaklık oluşumundan sorumlu kızılötesi ışınların sistem içerisinde mantar örneğine ulaşmadan filtre edilmesi, mantar yüzeyinde gözlemlenen esmerleşmeleri azaltabilir. Bununla birlikte, kullandığımız sistemde mevcut olan lamba soğutma sistemine ek olarak kabinin



soğumasını sağlayan bir sistem ile de sıcaklık artışlarının önüne geçilebilir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından M-639 Nolu proje ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) BİDEB 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

Ancos de, B. Sgroppo, S., Plaza L., Cano, M.P. (2002). Possible nutritional and health-related value promotion in orange juice preserved by high-pressure treatment. *J Sci Food Agric*, 82, 790-796, doi: 10.1002/jsfa.1093.

Bialka, K.L., Demirci, A., Puri, V.M. (2008). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV-light. *J Food Eng*, 85(3), 444-449, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.08.007.

Brennan, M., Le Port, G., Gormley, R. (2000). Post-harvest Treatment with Citric Acid or Hydrogen Peroxide to Extend the Shelf Life of Fresh Sliced Mushrooms. *Lebensm-Wiss Technol*, 33(4), 285-289, doi: 10.1006/fstl.2000.0657.

Cheigh, C.-I., Park, M.-H., Chung, M.-S., Shin, J.-K., Park, Y.-S. (2012). Comparison of intense pulsed light- and ultraviolet (UVC)-induced cell damage in *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*, 25, 654-659, doi: 10.1016/j.foodcont.2011.11.032.

Cheigh, C.-I., Hwang, H.-J., Chung, M.S. (2013). Intense pulsed light (IPL) and UV-C treatments for inactivating *Listeria monocytogenes* on solid medium and seafoods. *Food Res Int*, 54, 745-752, doi: 10.1016/j.foodres.2013.08.025.

Doyle, M.P., Schoeni, J.L. (1986). Isolation of *Campylobacter jejuni* from retail mushrooms. *Appl Environ Microbiol*, 51(2), 449-450.

Dunn, J., (1995). Pulsed-light treatment of food and packaging. *Food Technol*, 49(9), 95-98.

Federal Register. (1999). Pulsed light treatment of food. *Fed. Regist.* 66:338829-30.

Gayan, E., Serrano, M.J., Pagan, R., Alvarez, I., Condoni S. (2015). Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiol (Lond)*, 46, 246-253, doi: 10.1016/j.fm.2014.08.011.

Gómez-López, V.M., Ragaert, P., Debevere, J., Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: a review. *Trends Food Sci Technol*, 18, 464-473, doi: 10.1016/j.tifs.2007.03.010.

Guan, W., Fan, X., Ruixiang, Y. (2012). Effects of UV-C treatment on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, microbial loads, and quality of button mushrooms. *Postharvest Biol Technol*, 64(1), 119-125, doi: 10.1016/j.postharvbio.2011.05.017.

Guan, W., Fan, X., Yan, R. (2013). Effect of combination of ultraviolet light and hydrogen peroxide on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, native microbial loads, and quality of button mushrooms. *Food Control*, 34(2), 554-559, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.05.027.

Gursoy, N., Sarikurkcu, C., Cengiz, M., Solak, M.H. (2009). Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food Chem Toxicol*, 47(9), 2381-2388, doi: 10.1016/j.fct.2009.06.032.

Gursoy, N., Sarikurkcu, C., Tepe, B., Solak, M.H. (2010). Evaluation of Antioxidant Activities of 3 Edible Mushrooms: *Ramaria flava* (Schaeff.: Fr.) Quél., *Rhizogogon roseolus* (Corda) T.M. Fries., and *Russula delica* Fr. *Food Sci Biotechnol*, 19(3), 691-696, doi: 10.1007/s10068-010-0097-8.

Heleno, S.A., Barros, L., Martins, A., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Glamoclija, J., Sokovic, M., Ferreira, I.C.F.R. (2015). Nutritional value, bioactive compounds, antimicrobial activity and bioaccessibility studies with wild edible mushrooms. *Lebensm-Wiss Technol*, 63(2), 799-806, doi: 10.1016/j.lwt.2015.04.028.

Hillegas, S.L., Demirci, A. (2003). Inactivation of *Clostridium sporogenes* in Clover Honey by Pulsed UV-light Treatment. *Trans ASABE (Am Soc Agric Biol Eng)*, Manuscript FP 03 009. Vol. V. December 2003.

Hilton, S.T., de Moraes, J.O., Moraru, C.I. (2017). Effect of sublethal temperatures on pulsed light inactivation of bacteria. *Innov Food Sci Emerg*

- Technol*, 39, 49-54, doi: 10.1016/j.ifset.2016.11.002.
- Ignat, A., Manzocco, L., Maifreni, M., Bartolomeoli, I., Nicoli, M.C. (2014). Surface decontamination of fresh-cut apple by pulsed light: Effects on structure, colour and sensory properties. *Postharvest Biol Technol*, 91, 122-127, doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.01.005.
- Jiang, T., Feng, L., Li, J. (2012). Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan-glucose complex coating under cold storage. *Food Chem*, 131(3), 780-786, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.087.
- Keklik, N.M., Demirci, A., Puri, V.M. (2009). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on unpackaged and vacuum-packaged chicken frankfurters using pulsed UV-light. *J Food Sci*, 74(8), M431-439, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01319.x.
- Keklik, N.M., Demirci, A., Puri, V.M. (2010). Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poult Sci*, 89, 570-581, doi: 10.3382/ps.2008-00476.
- Kısım, A., Uzunoglu, S. (2012). Hormesis: Toksik Ajanların Düşük Dozlarına Uyum Sağlamada Öncül Fenomen. *J Forensic Med*, 26(3), 180-190, doi: 10.5505/adlitip.2012.96720.
- Krishnamurthy, K., Demirci, A., Irudayaraj, J.M. (2007). Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV-light treatment system. *J Food Sci*, 72(7), 233-239, doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00438.x
- Lu, Y., Zhang, J., Wang, X., Lin, Q., Liu, W., Xie, X., Wang, Z., Guan, W. (2016). Effects of UV-C irradiation on the physiological and antioxidant responses of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during storage. *Int J Food Sci Technol*, 51(6), 1502-1508, doi: 10.1111/ijfs.13100.
- Miles, P.G., Chang, S.T. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2<sup>nd</sup> Edition, CRC Press, United States of America, 431 p. ISBN: 0203492080.
- Murcia, M.A., Ayerra, B.L., Martinez-Tome, M., Vera, A.M., Garcia-Carmona, F. (2000). Evolution of ascorbic acid and peroxidase during industrial processing of broccoli. *J Sci Food Agric*, 80, 1882-1886.
- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. (2010). Effects of pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of fresh-cut mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biol Technol*, 56(3), 216-222, doi: 10.1016/j.postharvbio.2009.12.011.
- Pataro, G., Muñoz, A., Palgan, I., Noci, F., Ferrari, G., Lyng, J.G. (2011). Bacterial inactivation in fruit juices using a continuous flow Pulsed Light (PL) system. *Food Res Int*, 44(6), 1642-1648, doi: 10.1016/j.foodres.2011.04.048.
- Samadpour, M., Barbour, M.W., Nguyen, T., Cao, T.-M., Buck, F., Depavia, G.A., Mazengia, E., Yang, P., Alfi, D., Lopes, M., Stopforth, J.D. (2006). Incidence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in Retail Fresh Ground Beef, Sprouts, and Mushrooms. *J Food Prot*, 69(2), 441-443.
- Shama, G., Alderson, P. (2005). UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation. *Trends Food Sci Technol*, 16(4), 128-136, doi: 10.1016/j.tifs.2004.10.001.
- Takeshita, K., Shibato J., Sameshima, T., Fukunaga, S., Isobe, S., Arihara, K., Itoh, M. (2003). Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. *Int J Food Microbiol*, 85(1-2), 151-158, doi: 10.1016/S0168-1605(02)00509-3.
- Wang, T., Macgregor, S.J., Anderson, J.G., Woolsey, G.A. (2005). Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of *Escherichia coli*. *Water Res*, 39(13), 2921-2925, doi: 10.1016/j.watres.2005.04.067.
- Wekhof, A. (2000). Disinfection with Flash Lamps. *PDA J Pharm Sci Technol*, 54(3), 264-276.
- Yuk, H.-G., Yoo, M.-Y., Yoon, J.-W., Marshall, D.L., Oh, D.-H. (2007). Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. *Food Control*, 18(5), 548-553, doi: 10.1016/j.foodcont.2006.01.004.

## HİNDİSTAN CEVİZİ EKSTRAKTI İÇEREN SOĞUK KAHVE İÇECEĞİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE RAF ÖMRÜNÜN BELİRLENMESİ

**Davut KARAHAN\***, Nene Meltem KEKLİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas, Türkiye

Geliş/Received: 16.05.2018; Kabul/Accepted: 24.09.2018; Online baskı/Published online: 03.11.2018

Karahan, D., Keklik, N.M.. (2018). Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceğinin geliştirilmesi ve raf ömrünün belirlenmesi. GIDA (2018) 43 (6): 906-916 doi: 10.15237/gida.GD18054

*Karahan, D., Keklik, N.M.. (2018). Development of a new flavored cold coffee drink and determination of its shelf life. GIDA (2018) 43 (6): 906-916 doi: 10.15237/gida.GD18054*

### ÖZ

Bu çalışmada; tüketici beğenisi doğrultusunda, raf ömrü belirlenmiş, aroma bakımından hâlihazırda piyasada yer alan ürünlerden farklı olan bir 'soğuk kahve içeceği' geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, portakal suyu ve öğütülmüş Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içecekleri hazırlanmıştır. 100 panelistin katıldığı tüketici tercih testi sonucunda Hindistan cevizi ekstraktı içeren kahve içeceğinin portakal suyu içeren içeceğe tercih edildiği ( $P<0.05$ ) belirlenmiştir. Tercih edilen kahve içeceğinin formülasyonu; 20 panelist tarafından duyusal olarak değerlendirildikten sonra, Box-Behnken tasarımı kullanılarak optimize edilmiştir. Buna göre, optimum formülasyonu elde etmek için yaklaşık %3.3 Hindistan cevizi, %3.2 kahve ve %7.2 şeker (ağırlık/sıvı hacmi) kullanılmıştır. Bu kahve içeceği aroma ve kıvam bakımından ideale yakın, ancak içilebilirlik hissi bakımından 'hafif yumuşak' olarak değerlendirilmiştir. Genel beğeni ise 9 puanlı hedonik skala üzerinde 7.035 olarak bulunmuştur. Optimal formülasyon, tek örnek t-testi ile valide edilmiştir. Geliştirilen yeni kahve içeceğinin raf ömrünün, Weibull tehlike analizi, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler sonucunda yaklaşık 10.47 gün olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Duyusal analiz, Optimizasyon, Raf ömrü, Soğuk kahve içeceği, Weibull tehlike analizi.

## DEVELOPMENT OF A NEW FLAVORED COLD COFFEE DRINK AND DETERMINATION OF ITS SHELF LIFE

### ABSTRACT

A 'cold coffee drink' that differing from the products currently on the market in terms of flavor was developed, and its shelf life was determined in accordance with consumer expectations. A consumer preference test involving 100 panelists revealed that the drink with coconut extract was preferred ( $P<0.05$ ) to that with orange juice. The preferred coffee drink formulation was optimized by using Box-Behnken design after the sensory evaluation by 20 panelists. The optimum formulation consisted of about 3.3% coconut, 3.2% coffee and 7.2% sugar (w/v liquid), which yielded a product that was almost ideal in terms of flavor and consistency, but considered 'mildly soft' in taste. Overall impression was found as 7.035 on a 9-point hedonic scale. Optimal formulation was validated by one sample t-test. The shelf life of the coffee drink was determined to be about 10.47 days based on the results of Weibull hazard analysis, chemical and microbiological analyses.

**Key Words:** Cold coffee drink, Optimization, Sensory analysis, Shelf life, Weibull hazard analysis.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ karahandavut@gmail.com

☎ (+90) 544 363 8563

☎ (+90) 346 219 1165

### GİRİŞ

Gıda firmalarının pazarda varlıklarını devam ettirebilmeleri, büyümeleri, rakiplerine üstünlük sağlamaları ve bu üstünlüğü sürdürebilmeleri; ancak yenilikleri yakalayabilmeleri ve yeni ürünler üretmeleri ile mümkün olabilmektedir. Yeni bir gıda ürününü geliştirme süreci; zaman, emek ve maliyet gerektiren oldukça zor bir süreç olmasının yanı sıra, yeni ürünün pazarda tutunmama riski vardır. Ancak; tüm bu risk ve zorluklarına rağmen yeni ürün geliştirme işletmeler için büyük önem taşımaktadır (Stewart-Knox ve Mitchell, 2003).

Tüketiciler tarafından tercih edilen bir gıda maddesi; arzu edilen tat, aroma, tekstür, renk, görünüş gibi organoleptik özelliklere sahip olmalıdır. Bir gıda maddesi ancak bu sayede tekrar satın alınma isteğı doğuracaktır (Moskowitz ve ark., 2009). Dolayısıyla, yeni ürünün geliştirilmesi sürecinde, üretilen yeni ürünün güvenilirliğı, dayanıklılığı ve tüketiciler tarafından tercih edilebilirliğı de test edilmelidir. Duyusal analiz gıda maddelerinin tercih edilmeleri ve raf ömrü belirleme çalışmalarının vazgeçilmez unsurlarından biridir. Örneğın, Weibull tehlike analizi, raf ömrünün sona ereceğı zamanı duyusal veriler doğrultusunda Weibull tehlike fonksiyonunu kullanarak tahmin etmektedir (Fu ve Labuza, 1997).

Duyusal değerlendirmede optimizasyon işlemi yapılarak, en çok beğenilen/tercih edilen ürüne verilen yanıtlar belirlenebilir (Stone ve Sidel, 2004). Ürün geliştirmede en yaygın kullanılan yöntemlerden biri 'Yanıt Yüzey' yöntemidir. Bu yöntemin temel prensibi, regresyon denklemleri yardımıyla optimize edilecek ürünün özelliğı (yanıt) ile proses değışkenleri (faktörler) arasındaki bağıntıyı ortaya koymaktır (Saygı, 2013). Yanıt yüzey yöntemi, sistemin yanıtını etkileyen faktörleri bir arada ve eş zamanlı olarak analiz etmektedir. Böylelikle, prosesin işlem parametrelerindeki değışimlere verdiğı yanıt, minimum deneme yapılarak en iyi şekilde belirlenebilmektedir (Koç, 2009). Box-Behnken tasarımı, yanıt yüzey yönteminin en yaygın kullanılan tasarımlarından biri olup, ikinci dereceden yanıt yüzey modeli oluşturmak için

etkili bir deneme planı içermektedir (Tekinal, 2009).

Kahve içecekleri, dünyada tüketilen en popüler içecekler arasında yer almaktadır. Kahve sektörü dünyada yaklaşık 100 milyon insana istihdam olanağı sağlamaktadır (Global Washington, 2017). Kahvenin popülaritesinin en büyük sebebi, kahve içeceklerinin sahip olduğı benzersiz aroma, tat ve koku gibi organoleptik özellikleridir. Bunun yanında, kahvenin kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer hastalığı, Parkinson hastalığı, depresyon ve intihar risklerini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Costa ve ark., 2010; O'Keefe ve ark., 2013; Ding ve ark. 2015; Kennedy ve ark. 2016; O'Keefe ve ark., 2018). Ancak, düzenli kahve tüketimi yüksek kafein içeriğinden ötürü fiziksel ve psikolojik bağımlılığa yol açar. Günlük 400 mg/gün'e kadar kafein alımıyla günde 2 ila 5 fincan kahve tüketimi güvenli sayılmaktadır (Nawrot ve ark. 2003; O'Keefe ve ark., 2018).

Son zamanlarda piyasada, aromalı soğuk kahve içecekleri dikkati çekmektedir. Türkiye'de endüstriyel anlamda üretimi yapılan soğuk kahve aromaları bilindiğı kadarıyla vanilya, okolata (mocha) ve karamel ile sınırlı durumdadır. Bu çalışmanın amacı; formülasyonu tüketici beğenisi doğrultusunda optimize edilmiş, raf ömrü belirlenmiş, aroma bakımından hâlihazırda piyasada yer alan ürünlerden farklı olan yeni bir 'soğuk kahve ieeğı' geliştirmektir. Bu kapsamda çalışma; kahve ieeğinin hazırlanmasında kullanılacak maddenin tüketici tercihi doğrultusunda seçilmesi, daha sonra ürünün formülasyonunun optimize ve valide edilmesi ve son olarak raf ömrünün belirlenmesi aşamalarını içermektedir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

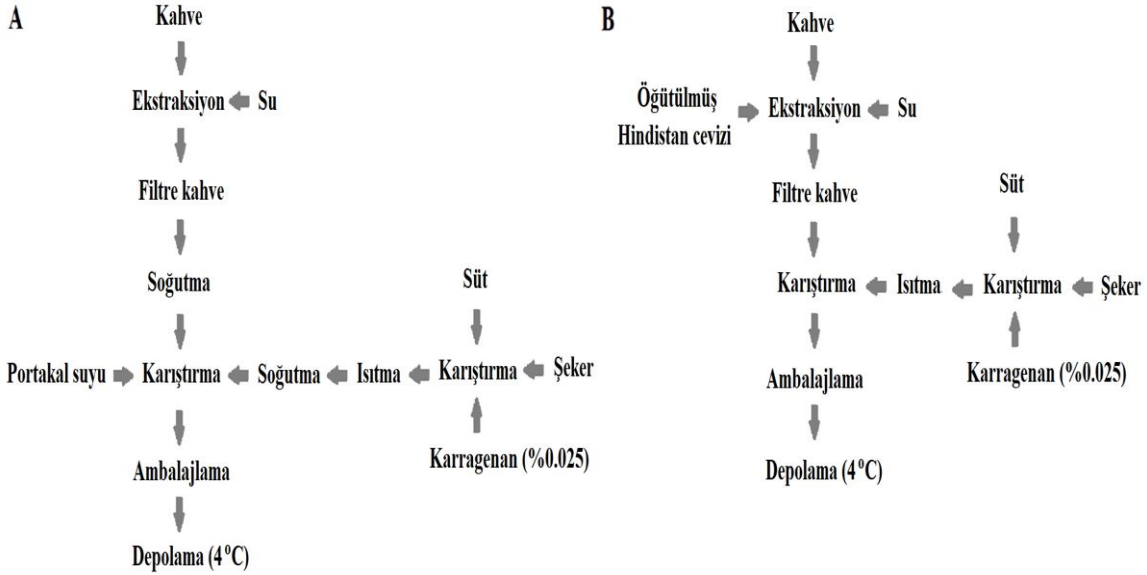
#### Materyal

Soğuk kahve ieeğı üretiminde filtre kahve (Monarch, Jacobs, Kocaeli), karragenan (tam rafine) (alfasol, Kimbiotek, İstanbul), tam yağlı (%3) UHT süt (İim, Ülker, İstanbul), portakal suyu (%100) (Premium, Dimes, İzmir), öğütölmüş kuru Hindistan cevizi (Bağdat Baharatları, Ankara), içme suyu (Murat Su, Sivas) ve kristal şeker (Marka Gıda, Sivas) kullanılmıştır.

**Kahve içeceklerinin hazırlanması**

Yapılan ön denemelerde, tat, koku ve fiziksel görünüme bakılarak; portakal suyunun ve Hindistan cevizi ekstraktının soğuk kahve içeceğinde kullanılabileceği uygun görülmüştür. Kahve içeceklerinin hazırlanmasında filtre kahve makinesi (Cafe Prestige, Fakir Hausgeräte, Almanya) kullanılmıştır. Portakal suyu ilaveli ve

Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceklerinin üretim akış şemaları Şekil 1'de gösterilmiştir. Hazırlanan kahve içeceklerinde 375 mL su ve 250 mL süt kullanılmıştır. Diğer bir deyişle, hacimce su/süt oranı 3/2 olarak sabit tutulmuştur. Kahve içecekleri ağızları kapatılmış cam şişelerde depolanmıştır.



Şekil 1 Üretim akış şemaları A) Portakal suyu ilaveli soğuk kahve içeceği B) Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceği

Figure 1 Flow charts for the production of cold coffee drink with A) orange juice B) coconut extract

**Kahve içeceğine ilave edilecek maddenin seçilmesi**

Tercih edilen maddenin belirlenmesinde, tüketici ikili tercih testi kullanılmıştır. Bu testte, 18-25 yaş arası gıda mühendisliği eğitimi alan, kahve içeceklerini severek tükettiğini belirten, yarısı kadın yarısı erkek olmak üzere toplam 100 kişi panelist olarak seçilmiştir. Panelistlere ABC ve 123 olarak kodlanmış olan iki örnekten (Portakal suyu ilaveli ve Hindistan cevizi ekstraktı içeren kahve içecekleri) hangisini tercih ettikleri sorulmuştur. Panelistlerin 50 tanesine önce 123, daha sonra ABC kodlu örnekler sunulmuş; geri kalan 50 tanesine ise önce ABC, daha sonra 123 kodlu örnekler tek tip kaplar içerisinde sunulmuştur. Anketlerde ise, panelistlere önce verilen örneğin kodu solda yer alacak şekilde anket kağıtları hazırlanmış ve dağıtılmıştır. Yani,

her iki kodlu ürünün aynı sayıda paneliste önce verilmesi sağlanmış olmaktadır (Watts ve ark., 1989). Böylelikle, ürün sırasına bağlı olarak ortaya çıkabilecek önyargı ortadan kaldırılır. Tüketici ikili tercih testi için elde edilen veriler; iki uçlu binomial test kullanılarak, SPSS Statistics 20 (IBM, New York) ile analiz edilmiştir.

**Optimum formülasyonunun belirlenmesi ve validasyonu**

Tercih edilen kahve içecekleri, bir önceki aşamada kahve içeceklerine ilave edilen maddeyi doğru tahmin eden ve tercih eden toplam 20 panelist tarafından Şekil 2'de verilen ankete göre değerlendirilmiştir. Panelistlere verilmiş olan her örnek, rastgele 3 basamaklı bir sayı ile kodlanmıştır. Elde edilen duyu verileri kullanılarak yeni kahve içeceğinin formülasyonu

Box-Behnken tasarımı ile MINITAB 17 (State College, PA) programında optimize edilmiştir. Faktörler kahve, şeker ve ilave edilen madde (portakal suyu ya da Hindistan cevizi) olarak seçilmiş ve faktör seviyeleri ön denemeler ile belirlenmiştir. Faktör seviyeleri sırası ile kahve için 7, 17, 27 g, şeker için 25, 35, 45 g ve ilave edilen madde için 5, 15, 25 g olarak seçilmiştir. Yanıtlar ise genel beğeni başta olmak üzere aroma, kıvam ve içilebilirlik hissi olarak seçilmiştir.

Optimizasyon sonucunda elde edilen formülasyonun güvenilirliğini test etmek ve onaylamak amacıyla, validasyon işlemi yapılmıştır. Validasyon işleminde; optimum formülasyona sahip soğuk kahve içeceği tekrar 20 paneliste sunularak duyuşal olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar MINITAB 17 (State College, PA)'de %95 güven aralığında tek örnek t-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

ADI-SOYADI:				
TARİH:				
Denediğiniz soğuk kahve içeceğinin ürün kodunu yazarak değerlendiriniz.				
ÜRÜN KODU:				
<b>a) Genel Beğeni</b>				
<input type="radio"/> 1 Aşırı derecede beğenmedim	<input type="radio"/> 2 Hiç beğenmedim	<input type="radio"/> 3 Orta derecede beğenmedim	<input type="radio"/> 4 Hafif beğenmedim	
<input type="radio"/> 5 Ne beğendim ne beğenmedim	<input type="radio"/> 6 Hafif beğendim	<input type="radio"/> 7 Orta derecede beğendim	<input type="radio"/> 8 Çok beğendim	
<input type="radio"/> 9 Aşın derecede beğendim				
<b>b) İçilebilirlik hissi</b>				
<input type="radio"/> 1 Çok yumuşak	<input type="radio"/> 2 Yumuşak	<input type="radio"/> 3 ideal	<input type="radio"/> 4 Sert	<input type="radio"/> 5 Çok sert
<b>c) Kıvam</b>				
<input type="radio"/> 1 Kıvamı çok az	<input type="radio"/> 2 Kıvamı az	<input type="radio"/> 3 ideal	<input type="radio"/> 4 Koyu kıvamlı	<input type="radio"/> 5 Çok koyu kıvamlı
<b>d) Aroma</b>				
<input type="radio"/> 1 Çok zayıf	<input type="radio"/> 2 Zayıf	<input type="radio"/> 3 İdeal	<input type="radio"/> 4 Baskın	<input type="radio"/> 5 Çok baskın

Şekil 2 Yeni kahve içeceğinin formülasyonunun belirlenmesinde kullanılan değerlendirme formu

Figure 2 The evaluation form used to determine the formulation of the new coffee drink

### Raf ömrünün belirlenmesi

Geliştirilen kahve içeceği 4°C'de muhafaza edilmiştir. İçeceğin raf ömrü, duyuşal verilerin kullanıldığı Weibull tehlike analizi ile belirlenmiştir. Bu analizde iki parametrelili Weibull dağılımının kümülatif tehlike fonksiyonu [1] kullanılır (Fu ve Labuza, 1997).

$$H(t) = \int_0^t h(x)dx = \left(\frac{t}{\alpha}\right)^\beta \quad [1]$$

Burada; H(t) kümülatif tehlike fonksiyonu; h(x) tehlike fonksiyonu; t süre,  $\alpha$  ölçek parametresi, ve  $\beta$  şekil parametresidir.

Weibull tehlike analizi için yapılan duyuşal analizler, ürünün hazırlandığı günden itibaren başlayarak 4 günde bir tekrar edilmiştir. Ürünü

değerlendiren panelistler arasından seçilen 3 panelistle denemeye başlanmış ve panelistlerden ürünü kabul edilebilir (+) ya da kabul edilemez (-) olarak değerlendirmeleri istenmiştir. Panelist sayısı her testte 1 kişi artırılmıştır. Ancak; (-) cevap sayısının (+) cevap sayısına eşit veya fazla olduğu durumda, bir önceki testte (-) cevap veren panelist sayısı kadar daha artırım yapılmış ve testler arasındaki süre aralığı ise yaklaşık yarı yarıya indirilmiştir. Testler sonucunda; panelistlerin vermiş olduğu (-) cevaplar sıralanmış ve 100/sıra numarasından tehlike değerleri hesaplanmıştır.

Weibull dağılımı kullanılarak; verilerin tehlike değerlerinin zamana karşı logaritmik grafiği %100 kümülatif tehlikeye kadar olan değerler için Eşitlik [2] kullanılarak çizilmiştir.

$$\log t = \left(\frac{1}{\beta}\right) \log H + \log \alpha \quad [2]$$

Raf ömrü, kritik hata olasılığının %50'sine; başka bir ifadeyle, %69.3 kümülatif tehlike değerine karşılık gelen süredir (Fu ve Labuza, 1997).

### Kimyasal analizler

**Serbest yağ asidi analizi:** 20 mL etanol (%95), 20 mL dietil eter ile karıştırıldıktan sonra 1 mL fenoltalein (alkol içinde %1) eklenmiştir. Karışım 0.1 N NaOH eklenerek nötrale edilmiştir. Daha sonra, 200-400 mL'lik bir beher içerisine 5 g kahve örneği tartılmıştır. Bunu takiben; hazırlanmış olan karışıma örnek eklenerek karıştırılmış ve 0.1 N NaOH ile en az 30 saniye kalıcı pembe renk verinceye kadar titre edilmiştir. % serbest yağ asidi Eşitlik [3] kullanılarak hesaplanmıştır (Bozkurt ve Göğüş, 1997).

$$\% \text{ serbest yağ asidi} = (V \cdot 2.82) / m \quad [3]$$

V: Titrasyonda harcanan 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisinin hacmi (mL), M: Alınan örneğin ağırlığı (g).

**pH analizi:** Kahve içeceğinin pH değeri, bir daldırma tipi pH metre (HI2221, Hanna Instruments, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

### Mikrobiyolojik analizler:

Mikrobiyolojik analizler duyu analizin hemen öncesinde (aynı gün) yapılmıştır. 10 mL örnek, 90 mL tamponlu peptonlu su çözeltisi ile karıştırılıp  $10^{-1}$  ve  $10^{-2}$  'lik seyreltiler hazırlanmıştır. Her seyreltiden 1 mL örnek alınıp koliform için Violet Red Bile (VRB) agar besiyerinde, toplam mezofil ve toplam psikrotrof bakteri için Plate Count Agar (PCA) besiyerinde, dökme yöntemi kullanılarak iki Petri kutusuna ekim yapılmıştır. Ekim işleminden sonra petri koliform için  $35^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat, toplam mezofil bakteri için  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat, toplam psikrotrof bakteri için önce  $17^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat, sonra  $7^{\circ}\text{C}$ 'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır (Erkmen, 2000). Bu süreçte gelişen koloniler 30-300 kob/petri aralığında sayılmış ve sonuç kob/mL olarak hesaplanmıştır.

### İstatistiksel analiz

Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Analizlerden elde edilen veriler, MINITAB 17 (Minitab, PA) istatistik programında 'Genel Doğrusal Model' ile analiz edilmiştir. Anlamlı farklılıklar %95 güven aralığında, Tukey yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Kahve içeceğine ilave edilecek maddenin belirlenmesi

Tüketici ikili tercih testi sonuçlarına göre 100 panelistin 86'sı Hindistan cevizi ekstraktı içeren kahve içeceğini, portakal suyu ilaveli kahve içeceğine tercih etmiştir ( $p < 0.05$ ). Portakal suyu ilaveli kahve içeceğini tercih etmeyen tüketicilerden bir kısmı, verilen ankette yer alan öneri kısmına portakal suyu ilaveli kahve içeceğinin ekşiliğinin azaltılması gerektiğini ve alışkın olmadıkları bir tada sahip olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla, portakalın ihtiva ettiği sitrik asit sebebiyle ekşi tada sahip olması, kahve içeceğinin içerisindeki sütün bu ekşi tat ile uyumlu olmaması ve 'ekşi kahve içeceği'nin tüketiciler tarafından yadırganması nedeniyle panelistlerin hindistan cevizi ekstraktı içeren kahve içeceğini portakal suyu ilaveli kahve içeceğine tercih ettikleri düşünülmektedir.

Macit (2004)'in yapmış olduğu dondurma üretiminde uçucu yağlarının kullanım olanaklarının araştırıldığı çalışmada; 4 farklı çeşit (Hindistan cevizi, karanfil, limon kabuğu ve tarçın) ve 2 farklı oranda (%0.2 ve %0.4) uçucu yağ kullanılarak dondurma üretimi yapılmış ve depolama süresi boyunca bazı duyu, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; %0.2 düzeyinde Hindistan cevizi uçucu yağı içeren örneğin en yüksek puanı aldığı; dolayısıyla bütün dondurma örnekleri içerisinde panelistler tarafından en çok Hindistan cevizi aromalı dondurmanın beğenildiği belirlenmiştir. Ali vd. (2001); depolama sıcaklığının çikolatanın doku, polimorfik yapı ve duyu özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, Hindistan cevizinin beğenilen bir aroması olduğunu, çikolataya hoş bir lezzet verdiğini ve panelistler tarafından beğenildiğini bildirmiştir.



### Tercih edilen kahve ieeğinin formülasyonunun optimizasyonu ve validasyonu

Box-Behnken tasarımı ile yapılan optimizasyon sonucunda elde edilen optimum formülasyon için yaklaşık %3.3 Hindistan cevizi, %3.2 kahve ve % 7.2 şeker (ağırlık/sıvı hacmi) kullanılmalıdır. Bu optimum formülasyon aroma için 3.054, kıvam için 3.000 ve içilebilirlik hissi için 2.588 duysal puana tekabül etmekte olup; genel beğeni puanı ise 7.035 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre;

$$\text{Genel beğeni} = 6.057 + 0.425 A - 0.719 B + 0.331 C + 0.260 A^*A - 0.292 B^*B + 0.188 C^*C + 0.390 A^*B + 0.160 A^*C + 0.793 B^*C \quad [4]$$

$$\text{İçilebilirlik hissi} = 2.503 - 0.249 A + 0.820 B + 0.011 C - 0.028 A^*A + 0.105 B^*B + 0.112 C^*C - 0.285 A^*B - 0.042 A^*C - 0.255 B^*C \quad [5]$$

$$\text{Kıvam} = 2.6800 + 0.0387 A + 0.1563 B + 0.1075 C + 0.1200 A^*A + 0.1200 B^*B + 0.875 C^*C - 0.1050 A^*B + 0.0575 A^*C - 0.0125 B^*C \quad [6]$$

$$\text{Aroma} = 2.937 + 0.055 A + 0.210 B + 0.093 C + 0.154 A^*A + 0.329 B^*B - 0.056 C^*C - 0.090 A^*B - 0.145 A^*C + 0.025 B^*C \quad [7]$$

Literatrde, kahve ieeğinin formlasyonunun duysal verilere dayanarak optimize edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak; Box-Behnken tasarımı, formülasyon optimizasyonu için benzer çalışmalarda kullanılmıştır. Gupta ve Bajaj (2017), potansiyel probiyotik özellikte yeni bir fermente yulaf unu ieeğini geliştirmek amacıyla Box-Behnken tasarımını tercih etmiştir. Tasarımdaki değişkenler ve seviyeleri sırasıyla; yulaf unu %3, 5, 8 k/h (ktle/hacim), bal 2, 3, 4 k/h ve inkübasyon süresi 5, 27 ve 48 saat olarak seçilmiştir. *Lactobacillus plantarum* M-13'n canlı hücre sayısının yanıt olarak seçildiği çalışmada elde edilen optimum değerler; %8.0 yulaf unu, %3.0 bal ve 48 saat inkübasyon süresi olarak bulunmuştur. Gupta ve Bajaj (2017); kullanılan optimizasyon yönteminin, süreç geliştirme için güçlü, ekonomik ve hızlı bir araç olduğunu ileri srmştir. Sarıçoban ve ark. (2009)'nın yapmış olduğu çalışmada ise; yağ, buğday kepeği ve tuzun köftenin duysal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Box-Behnken tasarımının kullanıldığı çalışmada kepek (%5, %10 ve %15), yağ (%10, %20 ve %30) ve tuz (%0, %1 ve %2) faktör olarak seçilmiştir. Sığır etinden yapılan köfteler, elektrikli ızgara ile pişirildikten sonra

yeni kahve ieeğinin aroması, kıvamı ve içilebilirlik hissinin, duysal değerlendirmede ideal değer olan 3'e yaklaştığı görülmektedir. Aroma ve kıvam yaklaşık olarak 3 değerini verirken, içilebilirlik hissi 'hafif yumuşak' olarak değerlendirilmiştir. Diğer yandan genel beğeni değeri 'orta derecede beğeni' puanını almıştır. Faktör seviyeleri ve duysal puanlar arasındaki ilişkiyi ortaya koyan bağıntılar aşağıda verilmiştir. Eşitliklerde A Hindistan cevizi, B kahve ve C şeker miktarına karşılık gelmektedir.

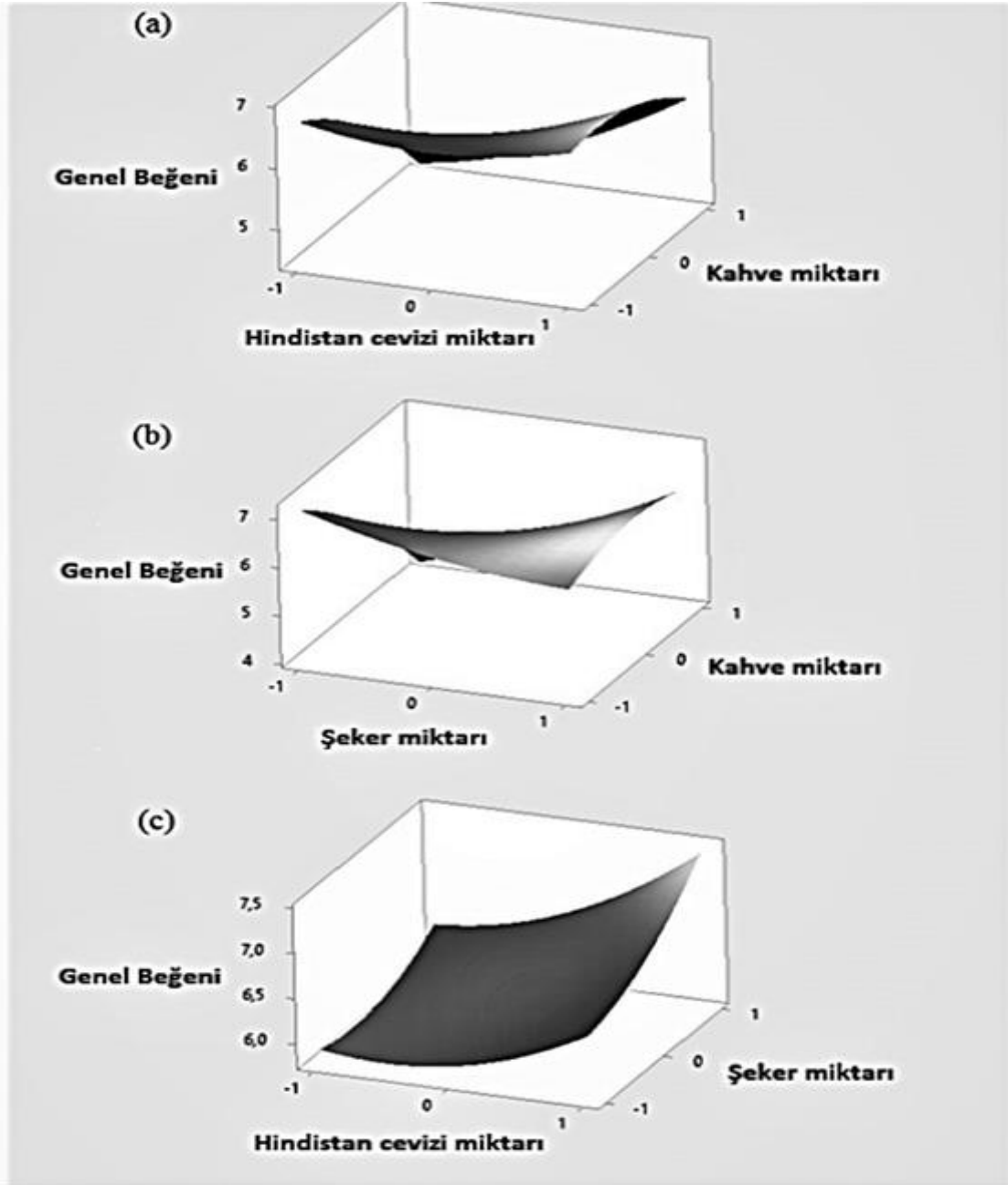
panelistlere sunulmuş ve 9 puanlı skala kullanarak duysal analiz gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, Sarıçoban ve ark. (2009), 6.31 genel kalite puanı ile ürünün optimum formülasyonunu %11.89 yağ, %7.55 kepek ve %0.28 tuz olarak belirlemiştir.

şekil 3'de kahve ieeği için elde edilen genel beğeni puanının faktör seviyelerine bağlı olarak değişimini gösteren yüzey grafikleri görülmektedir. Bu grafiklere göre; tüketicinin genel beğenisi şeker miktarından bağımsız olarak yalnızca Hindistan cevizi miktarı veya yalnızca kahve miktarına değil bunların birbirine oranına bağlı olarak değişmektedir (şekil 3a). Ayrıca; genel beğeni, Hindistan cevizi miktarından bağımsız olarak kahve ve şeker miktarlarının her ikisi maksimum ya da her ikisi minimum olduğunda yükselmektedir (şekil 3b). Kahve miktarından bağımsız olarak ise genel beğeni, Hindistan cevizi ve şeker miktarı arttıka artış göstermektedir (şekil 3c).

Elde edilen formülasyonun geçerliliğini test etmek amacıyla validasyon işlemi yapılmıştır. Optimum formülasyon kullanılarak tekrar edilen deneyler

sonunda elde edilen duysal puanlar; genel beğeni için 9 üzerinden 7.100; aroma için 3 üzerinden 2.950; kıvam için 3 üzerinden 2.950 ve içilebilirlik hissi için 3 üzerinden 2.650'dir. Genel beğeni, aroma, kıvam ve içilebilirlik hissi yanıtlarının her

biri için duysal analiz sonuçları ile optimizasyon işleminden elde edilen sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmüştür ( $P > 0.05$ ).



Şekil 3 Genel beğenin faktörlere bağlı değişimi (Grafikte yer almayan faktörün seviyesi 0'da tutulmuştur.)

Figure 3 Change of general impression depending on the factors (The level of the factor that is not included in the graph is kept at 0.)

**Raf ömrünün belirlenmesi**

Weibull tehlike analizi için yapılan duysal değerlendirmelerde panelistlerin yanıtları ve bu yanıtlara karşılık gelen sıra numaraları Çizelge 1’de sunulmuştur. Buna göre, 4. günde ürünü

değerlendiren dört panelisten biri; 8. günde beş panelistten üçü ve 10. günde on panelistten sekizi ürünü kabul edilemez olarak değerlendirmişlerdir. Dolayısıyla; duysal analizler 10. günden sonra devam ettirilmemiştir.

Çizelge 1 Yeni kahve içeceği için Weibull duysal verileri

Table 1 Weibull sensory data for the new coffee drink

Günler Days	Kabul edilebilirlik Acceptability									
0	+	+	+							
4	+	+	+	- 12						
8	+	+	- 9	- 10	- 11					
10	+	+	- 1	- 2	- 3	- 4	- 5	- 6	- 7	- 8

Çizelge 2’de ise depolama süresine karşılık gelen ve sıra numaralarından hesaplanan tehlike ve kümülatif tehlike değerleri gösterilmektedir. Depolama süresine karşılık bütün kümülatif tehlike değerleri grafiğe aktarıldığında, şekil parametresi ( $\beta$ ) 4.98 bulunmuştur. Cardelli ve

Labuza (2001),  $\beta$  değeri optimum değer aralığında (2-4) olmadığına, testin raf ömrünün ötesine uzatıldığı gerekçesiyle kümülatif tehlikenin 100’e kadar olduğu değerleri içeren verilerin tekrar grafiğinin çizilmesini önermiştir.

Çizelge 2 Weibull tehlike sıralaması

Table 2 Weibull hazard ranking

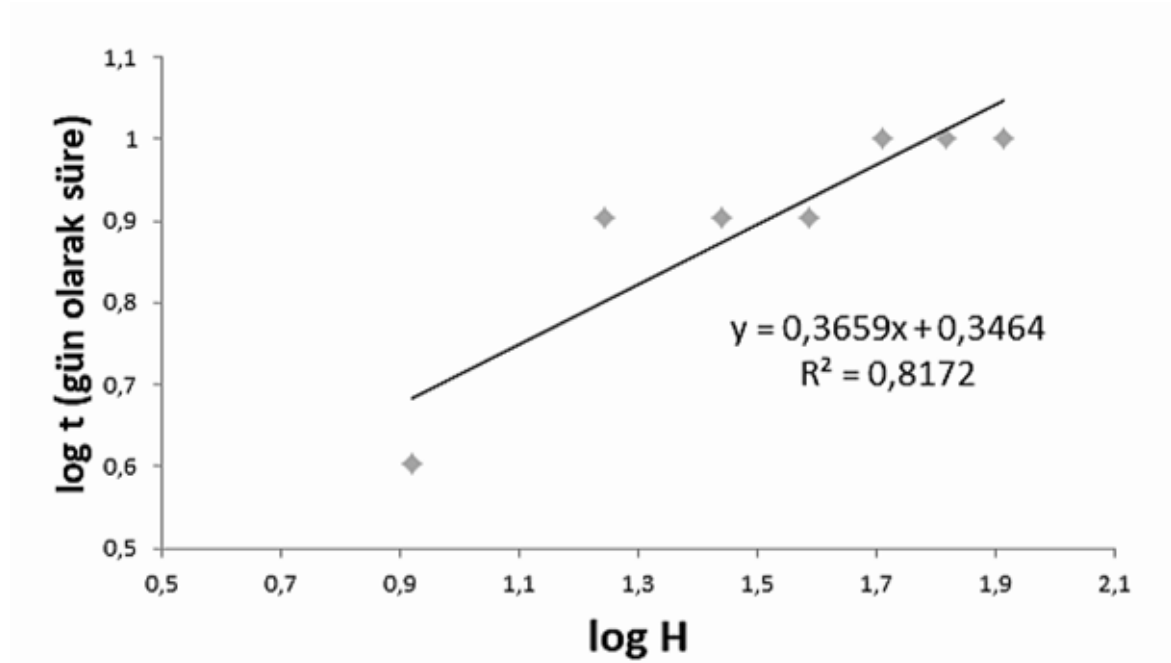
Sıra Rank	Gün Days	H değeri H Value	$\Sigma H$
12	4	8.33333	8.33333
11	8	9.090909	17.42424
10	8	10	27.42424
9	8	11.11111	38.53535
8	10	12.5	51.03535
7	10	14.28571	65.32107
6	10	16.66667	81.98773
5	10	20	101.9877
4	10	25	126.9877
3	10	33.33333	160.3211
2	10	50	210.3211
1	10	100	310.3211

Bu nedenle, Şekil 4’te gösterilen grafik çizilmiş ve yeni  $\beta$  değeri 2.73 bulunmuştur. Sonuç olarak, 4°C’de muhafaza edilen yeni kahve içeceğinin raf ömrü, Şekil 4’de verilen ve doğrusal regresyon sonucu elde edilen eşitlik kullanılarak kritik hata olasılığının %50’sine; başka bir ifadeyle, %69.3 kümülatif tehlike değerine karşılık gelen süre olan 10.47 gün olarak belirlenmiştir.

Cardelli ve Labuza (2001)’nin farklı oksijen basıncı, su aktivitesi ( $a_w$ ) ve sıcaklığın, kavrulmuş ve çekilmiş kahve örneklerinin raf ömrü üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, kahvenin raf ömrü 20.6-24.6 hafta olarak belirlenmiştir. Bu değerler, çalışmamızda bulunmuş olduğumuz raf ömründen çok daha uzundur. Bunun birkaç sebebi olabilir: Cardelli ve Labuza (2001)’nin çalışmasında kahve kuru şekilde depolanmış, yalnızca duysal analizlerin hemen öncesinde su

ile demlenerek hazırlanmıştır. Ayrıca, çalışmamızda hazırlanan kahve içeceğinin süt ihtiva etmesi sebebi ile daha kısa sürede bozulması kaçınılmazdır. Duyvesteyn ve ark. (2001)'nın yapmış oldukları çalışmada 5 °C'de muhafaza

edilen sütün raf ömrü, Weibull tehlike analizi kullanılarak 13.7 gün olarak bulunmuştur ve bu süre çalışmamızda bulmuş olduğumuz sonuca yakındır.



Şekil 4 Weibull tehlike grafiği  
Figure 4 Weibull hazard plot

Depolama başlangıcında, yeni kahve içeceğinin serbest yağ asidi  $1.128 \pm 0.1$  ve pH değeri  $6.51 \pm 0.01$  olarak bulunmuştur. Depolamanın 10. gününde yani raf ömrünün sonunda, serbest yağ asidi  $1.635 \pm 0.1$  ve pH değeri  $5.50 \pm 0.03$  değerine ulaşmıştır. Serbest yağ asidi miktarı 4. günde belirgin olarak değişmezken ( $P > 0.05$ ), 8. ve 10. günlerde belirgin olarak artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). pH değeri ise yine 4. günde belirgin olarak değişmezken ( $P > 0.05$ ), 8. ve 10. günlerde belirgin olarak azalmıştır ( $P < 0.05$ ). Serbest yağ asidi ile pH arasındaki ters orantılı değişim beklenen bir durumdur. Özellikle süten gelen yağın, hazırlanan kahve içeceğinin kalitesini ve dolayısıyla raf ömrünü etkilediği düşünülmektedir. Metin (2013), depolanan sütlerde, gerek sütün doğal yapısında bulunan; gerekse bazı bakteriler, mayalar ve küfler tarafından üretilen lipaz enziminin trigliseritleri parçalaması

(hidrolizasyon) sonucunda serbest yağ asitleri oluştuğunu ve bunun sonucunda arzulanmayan acı (ransit) tadın oluştuğunu bildirmiştir. Panelistlerin depolanan kahve içeceklerine verdikleri duyuşsal puanlar ile kimyasal analiz sonuçları paralellik göstermektedir. Dolayısıyla, kimyasal analiz sonuçları Weibull tehlike analizi sonuçlarını desteklemektedir. Diğer yandan, yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda örneklerde hiçbir günde koliform gözlenmemiştir. Toplam mezofil ve toplam psikrofil bakteri ilk 4 gün gözlenmemiş, ve 10. günde sırasıyla  $4.5 \times 10^2$  ve  $5.3 \times 10^2$  kob/mL seviyelerine ulaşmıştır.

#### SONUÇ

Yeni ürün geliştirme oldukça zorlu ve emek isteyen karmaşık bir süreçtir. Bu çalışmada Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceğinin geliştirilmesi ile ürün geliştirme

sürecine basit bir yaklaşım izlenmiştir. Elde edilen kahve içeceği ile ilgili endüstriyel anlamda maliyet göz önünde bulundurularak iyileştirmeler yapılabilir. Örneğin; Hindistan cevizi ekstraktı yerine Hindistan cevizi aroması kullanılması ürünün standardize edilmesine yardımcı olabilir. Asitliği düzenleyici madde eklenerek ürünün raf ömrü uzatılabilir. Ayrıca, ransiditeyi düşürmek amacıyla tam yağlı süt yerine yarım yağlı süt kullanılabilir. Ürünün endüstriyel üretiminin yapılması durumunda, bileşiminde özellikle sütün bulunması sebebi ile güvenilir gıda üretiminin sağlanması açısından ürüne ısıl işlem uygulanması veya kodeksin öngördüğü koruyucuların uygun miktarda kullanılması gerekecektir.

Bu çalışmanın, kahve içeceği üreticilerine ve kahve içecekleri ile ilgili yapılan araştırmalara; tüketici beğenisi, formülasyon optimizasyonu ve raf ömrü konularında yardımcı bir kaynak olması beklenmektedir. Ayrıca, araştırma sonuçları, benzer kahve içeceklerinde genel beğenin, içeceğin ihtiva ettiği kahve, şeker ve aroma verici madde miktarı ile nasıl değişeceğine dair yol gösterici olacaktır.

#### KAYNAKLAR

Ali, A., Selamat, J., Che Man Y.B., Suria, A.M. (2001). Effect of Storage Temperature on Texture, Polymorphic Structure, Bloom Formation and Sensory Attributes of Filled Dark Chocolate. *Food Chem*, 72(4): 491-497.

Bozkurt, H., Göğüş, F. (1997). Food quality control laboratory manual. Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye.

Cardelli, C., Labuza, T.P. (2001). Application of Weibull Hazard Analysis to the Determination of Shelf Life of Roasted and Ground Coffee. *LWT-Food Sci Technol*, 34(5), 273-278.

Costa, J., Lunet, N., Santos, C., Santos, J., Vaz-Carneiro, A. (2010). Caffeine exposure and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Alzheimer's Dis*, 20(1): S221-S238.

Ding M., Satija A., Bhupathiraju S.N., Hu, Y., Sun, Q., Han, J., Lopez-Garcia, E., Willett, W., van Dam, R. M., Hu, F.B. (2015). Association of

coffee consumption with total and cause-specific mortality in 3 large prospective cohorts. *Circulation*, 132(24): 2305-2315.

Duyvesteyn, W.S., Shimoni, E., Labuza, T.P. (2001). Determination of the End of Shelf-life for Milk using Weibull Hazard Method. *LWT-Food Sci Technol*, 34(3): 143-148.

Erkmen, O. (2000). Basic Methods for the Microbiological Analysis of Foods, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye.

Fu, B., Labuza, T.P. (1997). Shelf-life testing: procedures and prediction methods. In: *Quality in frozen food*, Erikson, M.C., Hung, Y.C. (eds.), Chapman & Hall, NY, the USA. pp. 377-415.

Global Washington (2017). The role and impact of coffee in global development. <http://globalwa.org/issues/coffee/> (Erişim tarihi: 19 Temmuz 2017).

Gupta, N., Bajaj, B.K. (2017). Development of fermented oat flour beverage as a potential probiotic vehicle. *Food Biosci*, 20: 104-109.

Kennedy, O.J., Roderick, P., Buchanan, R., Fallowfield, J.A., Hayes, P.C., Parkes, J. (2016). Systematic review with meta-analysis: coffee consumption and the risk of cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 43(5): 562-574.

Koç, M. (2009). Pastörize sıvı yumurtanın püskürtmeli kurutma yöntemi ile optimum kurutma koşullarının belirlenmesi ve mikroenkapsülasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye.

Macit, E. (2004). Dondurma üretiminde baharat uçucu yağlarının kullanım olanakları. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, Türkiye.

Metin, M. (2013). Süt teknolojisi (sütün bileşimi ve işlenmesi), Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, Türkiye.

Moskowitz, H.R., Straus, T., Saguy, S. (eds), (2009). *An integrated approach to new food product development*, CRC Press, Boca Raton, FL, the USA, 503 p.

Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., Feeley, M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Addit Contam*, 20(1): 1–30.

O'Keefe, J.H., Bhatti, S.K., Patil, H.R., DiNicolantonio, J.J., Lucan, S.C., Lavie, C.J. (2013). Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality. *J Am Coll Cardiol*, 62(12): 1043–1051.

O'Keefe J.H., DiNicolantonio J.J., Lavie C.J. (2018). Coffee for cardioprotection and longevity. *Prog Cardiovasc Dis*, doi: 10.1016/j.pcad.2018.02.002.

Sarıçoban, C., Yılmaz, M.T., Karakaya, M. (2009). Response surface methodology study on the optimisation of effects of fat, wheat bran and salt on chemical, textural and sensory properties of patties. *Meat Sci*, 83(4): 610–619.

Saygi, G. (2013). Kızılçık püresinin püskürtmeli kurutucuda optimum kurutma parametrelerinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye.

Stewart-Knox, B., Mitchell, P. (2003). What separates the winners from the losers in new food product development? *Trends Food Sci Technol*, 14(1-2): 58-64.

Stone, H., Sidel, J.L. (2004). *Sensory evaluation practices*. 3<sup>rd</sup> Edition, Elsevier Academic Press, San Diego, CA, the USA, 408 p.

Tekinal, M.A. (2009). Yanıt yüzeyi metodu ve bir uygulama. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İstatistik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye.

**DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN CITRUS FIBER AND THE IMPACT OF PROCESSING METHOD ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT, TOTAL CAROTENOID CONTENT AND OXYGEN RADICAL ABSORBANCE CAPACITY**

**Ayça Gedikoğlu<sup>1</sup>, Andrew Douglas Clarke<sup>2</sup>, Ingolf Gruen<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Konya Food and Agriculture University, Department of Food Engineering, Konya, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Science, University of Missouri, USA

Received /Geliş: 11.07.2018; Accepted /Kabul: 15.10.2018; Published online /Online baskı: 03.11.2018

Gedikoğlu, A., Clarke, A. D., Gruen, I. (2018). Determination of flavonoids in citrus fiber and the impact of processing method on total phenolic content, total flavonoid content, total carotenoid content and oxygen radical absorbance capacity. *GIDA* (2018) 43 (6): 917-924 doi: 10.15237/gida.GD18072

Gedikoğlu, A., Clarke, A. D., Gruen, I. (2018). Turunçgil lifinde flavonoidlerin belirlenmesi ve üretim metodunun toplam fenolik miktarı, toplam flavonoid miktarı, toplam karotenoid miktarı ve oksijen radikal soğurma kapasitesine etkisi. *GIDA* (2018) 43 (6): 917-924 doi: 10.15237/gida.GD18072

**ABSTRACT**

The objective of this study is to evaluate the presence of flavonoids in citrus fiber using reverse-phase high-pressure liquid chromatography (RP-HPLC). In this study, we also investigate the effect of regular and hot-washing preparations on total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC), oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and total carotenoid content (TCC) of citrus fiber. The HPLC method used provided fast results and good separation for polymethoxyflavones and flavonols. Quercetin and kaempferol (flavonols), and sinensetin, nobiletin, heptamethoxyflavone, and tangeretin (polymethoxyflavones) were identified. Nobiletin had the highest concentration with 3.33 mg/g dry weight followed by sinensetin (1.96 mg/g dry weight) and heptamethoxyflavone (1.24 mg/g dry weight), respectively. The TFC and TCC of citrus fiber were unaffected ( $P > 0.05$ ) by the citrus fiber production procedure; however, the TPC and the ORAC values of citrus fiber prepared using hot-washing were significantly lower ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** Citrus, fiber, flavonoid, total polyphenol content, ORAC value, HPLC

**TURUNÇGİL LİFİNDE FLAVONOİDLERİN BELİRLENMESİ VE ÜRETİM METODUNUN TOPLAM FENOLİK MİKTARI, TOPLAM FLAVONOİD MİKTARI, TOPLAM KAROTENOİT MİKTARI VE OKSİJEN RADİKAL SOĞURMA KAPASİTESİNE ETKİSİ**

**ÖZ**

Bu çalışmanın amacı turunçgil kabuğundan elde edilen liflerin ters fazlı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile flavonoidlerinin belirlenmesidir. Ayrıca, bu çalışmada turunçgil kabuklarından lif hazırlanırken kullanılan normal veya sıcak yıkama işlemlerinin toplam fenol miktarı, toplam flavonoid miktarı, toplam karotenoid miktarı ve oksijen radikal soğurma kapasitesi değerine etkisi araştırılmaktadır. Kullanılan HPLC metodu çoklu metoksiflavon ve flavanollerin ayrılmasını sağlayan ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Kuersetin, kemferol, sinensetin, nobiletin, heptamethoksiflavon ve tangeretin belirlenmiştir. Nobiletin 3.33 mg/g kuru ağırlık ile en yüksek miktarda bulunan flavonoiddir. Sinensetin 1.96 mg/g kuru ağırlık ile, heptamethoksiflavon ise 1.24 mg/g kuru ağırlık ile takip etmektedir. Sıcak yıkama veya normal yıkamanın toplam flavonoid içeriği ve toplam karotenoid içeriğine etkisi görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Ancak, toplam fenolik madde ve oksijen radikal soğurma kapasitesi değeri sıcak yıkama yapılan liflerde daha düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Turunçgil, lif, flavonoid, toplam fenol miktarı, oksijen radikal soğurma kapasitesi değeri, HPLC

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ayca.gedikoglu@gidatarim.edu.tr,

☎ (+90) 332 223 5450

☎ (+90) 332 223 5490



## INTRODUCTION

Citrus fruit production takes places mostly in tropical and sub-tropical areas in the world. Main citrus fruits are oranges, grapefruit, lemon, tangelos, tangerines and mandarins. According to a U. S. Department of Agriculture (2013) report approximately 35.5% of the citrus fruits are consumed as fresh fruit while the rest has been processed into juice. Using the majority of the citrus fruits for juice production creates a large amount of waste. The waste products from the peel and seeds are prone to microbial spoilage, making this waste material a candidate for use mostly as animal feed and fertilizer (Fernandez-Lopez et al., 2004). However, it has been reported by Saura-Calixto (1998) and Larrauri (1999) that fruit by-products, such as peels, are rich in dietary fiber. Also, due to the presence of flavonoids and carotenoids, they have better nutritional quality than fiber from cereals, as well as a balanced composition of soluble and insoluble fiber and low energy values. Also, Gorinstein et al. (2001) and Fernandez-Lopez et al. (2004) stated that citrus by-products, such as peel (albedo and flavedo), are not only rich in fiber, but due to the presence of phenolic compounds and antioxidants, such as ascorbic acid, they can be used in food products to provide further functional benefits. Lario et al. (2004) stated that fruit fibers, such as citrus, provide good quality soluble and insoluble fiber, as well as functional properties, such as water- and oil-holding capacity. Gorinstein et al. (2001) found that the peels of oranges, lemons, and grapefruits had higher total dietary fiber, soluble fiber, and insoluble fiber than these fruits without peel, on both fresh and dry weight bases. Besides these possible functional advantages, citrus fiber can provide health benefits. It has been reported that consuming a fiber-rich diet is associated with decreased incidence of atherosclerosis, hemorrhoids, and colon cancer (Rodriguez et al., 2006). Additionally, the antioxidant potential due to the presence of flavonoids, flavonols and polymethoxyflavones (PMFs) in citrus peel contributes functional and health benefits (Manthey and Grohmann, 1996; Bocco et al., 1998; Gorinstein et al., 2001). In most of those investigations, the citrus peels obtained for the

experiments were fresh rather than processed and no study has investigated the presence of these flavonoids in mass-produced citrus by-products.

Therefore, the objective of this research was to provide information about the identity and quantity of flavonoids found in mass-produced citrus fiber by reverse-phase HPLC and provide information on the effect of two types of processing procedures (regular washing and hot washing of peels) of citrus fiber on the TPC, TFC, TCC, and the antioxidant potential of such powder.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Folin-Ciocalteu's phenol reagent was obtained from MP Biomedicals (Santa Ana, Calif., U.S.A.). Aluminum chloride anhydrous ( $\text{AlCl}_3$ ), potassium acetate ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ), sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), HPLC-grade water, HPLC-grade acetonitrile, HPLC-grade methanol, and glacial m-phosphoric acid were obtained from Fisher Scientific (Waltham, Mass., U.S.A.). Quercetin, kaempferol, and  $\beta$ -carotenoid were obtained (95% >purity by HPLC) from Sigma-Aldrich® Co. (St. Louis, Mo., U.S.A.). Gallic acid was obtained from Fluka® Analytical (St. Louis, Mo., U.S.A.). An ORAC antioxidant assay kit was obtained from Zen-Bio, Inc. (Research Triangle Park, N.C., U.S.A.). Nobiletin, sinensetin, tangeretin, and heptamethoxyflavone were kindly provided by Dr. John Manthey, U.S. Horticultural Research Laboratory, United States Department of Agriculture (USDA), Fort Pierce, Florida.

### Citrus Fiber

Sources of the fiber used in this study are albedo and flavedo parts of the orange peel. CitraFiber™ products were kindly provided by Natural Citrus Products Corporation (Fort Pierce, Fla., U.S.A.). Since the CitraFiber™ is a patented, commercially mass produced product, hot and cold wash procedures were done by the company. Products were fine ground in powder form. Nutrition profile of the both citrus fibers were same and can be seen in Table 1.

Table 1. Nutritional facts about citrus fiber CitraFiber™

Total Pectin	9390 mg/100g
Protein	6.37 %
Total Sugars	1.7%
Total Dietary Fiber	82.7%
Soluble Fiber	23.4%
Insoluble Fiber	59.3%
Potassium	453 mg/100g
Sodium	210 mg/100g
Calcium	78 mg/100g
Vitamin A (Beta Carotene)	117 IU/100g
Vitamin C	0.91 mg/100g

Source: Natural Citrus Products

### Standard Preparation

Stock solutions of quercetin (50 µg/ mL), kaempferol (120 µg/ mL), sinensetin (1060 µg/ mL), nobiletin (540 µg/ mL), heptamethoxyflavone (1900 µg/ mL), and tangeretin (820 µg/ mL) were prepared by dissolving these compounds individually in HPLC-grade methanol. The proper amounts of each standard and cocktail of standards were made by taking appropriate amounts from each standard and filtering them with a 0.45 µm filter before using them for the HPLC procedure.

### Aqueous Acetone Extraction

The methodology of Rodriguez-Saona and Wrolstad (2001) was used with modifications for this study. Ten g of sample was weighed into a beaker. Then, 40 mL of acetone (1:4 ratio of w/v) was measured and placed into the beaker and blended. Using a Buchner funnel, vacuum flask, and Whatman® no. 1 filter paper, the slurry was filtered. While keeping the filtered solution in the dark and under refrigeration, the filtered slurry was placed in a beaker, and 40 mL of 70/30 (v/v) acetone/acidified (0.01% HCl) water solution was added. After sonicating for one hour, the slurry was filtered again with a Buchner funnel, vacuum flask, and Whatman® no. 1 filter paper. This procedure was repeated two more times until a faint yellow color was observed. The collected filtrates were combined, and the liquid extract was placed into a 300 mL round-bottom flask. The acetone and water in the extract were completely evaporated using a rotary evaporator at 50 °C. The residue was dissolved in 10 mL of methanol.

This extract was used for the TPC, TFC, and ORAC values as well as HPLC analysis. The methanol extract was filtered with a 0.45 µm filter before being analyzed by HPLC. The extract was kept in the freezer at -18 °C during the experiment.

### HPLC Analysis

A Varian ProStar model 410 AutoSampler equipped with Varian 210-218 pumps and a Varian 335 UV detector was used for this study. Separation was achieved by using an Eclipse XDB C<sub>18</sub> 5 µm (4.6 × 250 mm) column (Agilent Technologies, Santa Clara, Calif., U.S.A.). The mobile phases consisting of 0.1% phosphoric acid in water (A) and acetonitrile (B) were used in a gradient program as follows: 100% (A) for the first 3 min, then 45% (A) for the next 9 min, and finally 5% (A) for the next 13 min. The mobile phase flow rate was 1 mL/min. The column temperature was kept at 30 °C. The injection volume was 20 µL. The chromatographic peaks were identified based on their retention times and compared with the retention times of the authentic standards. Flavonoid levels in the sample were calculated based on the external standard curve of the chosen flavonol and polymethoxyflavones (PMFs) standards.

### Determination of Total Polyphenol Content

To determine TPC, 0.1 mL of sample extracts were mixed with 2.8 mL of deionized water, 2 mL of 2% sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), and 0.1 mL of 50% Folin-Ciocalteu reagent. After the solution was incubated at room temperature for

30 min, the reaction mixture absorbance was measured at 750 nm. A deionized water blank was used for zeroing the spectrophotometer. Gallic acid was chosen as a standard, and a six-point standard curve was prepared (0-60 mg/L). The total polyphenol content of the citrus fiber was expressed as gallic acid equivalents (mg GA/g) for dry weight (Lin and Tang, 2007).

#### **Determination of Total Flavonoid Content**

To determine TFC, 0.5 mL sample extracts were mixed with 1.5 mL of 95% ethanol, 0.1 mL of 10% aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ ), 0.1 mL of 1M potassium acetate ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ), and 2.8 mL of deionized water. After the solution was incubated at room temperature for 30 min, the reaction mixture absorbance was measured at 415 nm. A deionized water blank was used for zeroing the spectrophotometer. Quercetin was chosen as a standard, and a seven-point standard curve was prepared (0-100 mg/L). The total flavonoid content of the citrus fiber was expressed as quercetin equivalents (mg QUE/g) for dry weight (Lin and Tang, 2007).

#### **Determination of Total Carotenoid Content**

A slurry of 2.5 g of citrus fiber and 25 mL of n-hexane-acetone-ethanol (v/v/v: 50:25:25) was placed on a shaker for 10 min at 200 rpm at room temperature. Then, it was centrifuged at 4500 g for 15 min at 8 °C. The supernatant was collected and made to a volume of 25 mL with hexane. Absorbance was measured at 450 nm.  $\beta$ -carotene was chosen as a standard, and a seven-point standard curve was prepared (0-100 mg/L). The total carotenoid content was expressed as beta-carotene equivalents (mg  $\beta$ -C/g) of dry weight. This methodology was adopted from Lee (2001), with some modifications.

#### **Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay**

For this study, instructions from the Zen-Bio kit (Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, N.C., U.S.A.) were followed. A 96-well microplate was used for analysis. The plate reader incubation chamber was set to 37 °C (BioTek® Instruments, Inc., Synergy™ HT, Winooski, Vt., U.S.A.); excitation wavelength was set to 485 nm; and emission wavelength was set to 530 nm. After

preparation of the working solution and standard solutions, 150  $\mu\text{L}$  of the working solution was added to each well followed by 25  $\mu\text{L}$  of each sample, standard, or blank. Finally, 25  $\mu\text{L}$  of the AAPH (2,2'-azobis-2-methyl-propanimidamide, dihydrochloride) solution was added to each well and read over 30 min. Trolox was used as the standard, and a five-point (0-50  $\mu\text{M}$ ) standard curve was prepared. The ORAC values of the samples were calculated based on Davalos et al. (2004) and were expressed as  $\mu\text{mole Trolox/g}$ .

#### **Statistical Analysis**

Three replications of citrus fiber were evaluated for the TPC, TFC, TCC, and ORAC values. Data was analyzed by analysis of variance (ANOVA) using the general linear model (GLM) procedure of the SAS® Institute Inc. (2011). Means were separated by least significant difference (LSD) when significant ( $P < 0.05$ ) treatment effects were found.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Figure 1 shows the chromatogram of regular-washed citrus fiber. There were two groups of flavonoids found in the citrus samples. The first group was flavonols, and the second group was polymethoxyflavones. There was good separation of four major PMFs and flavonols, which eluted after 10 min. While glycosylated flavonones with an elution window of 8-10 min were also detected based on information obtained from running pure standards of glycosylated flavanones (naringin, hesperidin and isosakuranetinrutinoside), they were insufficiently separated for proper identification or quantitation. The method used in this study provides a fast analysis time for identification of flavonols and PMFs. The quantification of flavonols and polymethoxyflavones were carried out using external standard curves. The results are shown in Table 2.

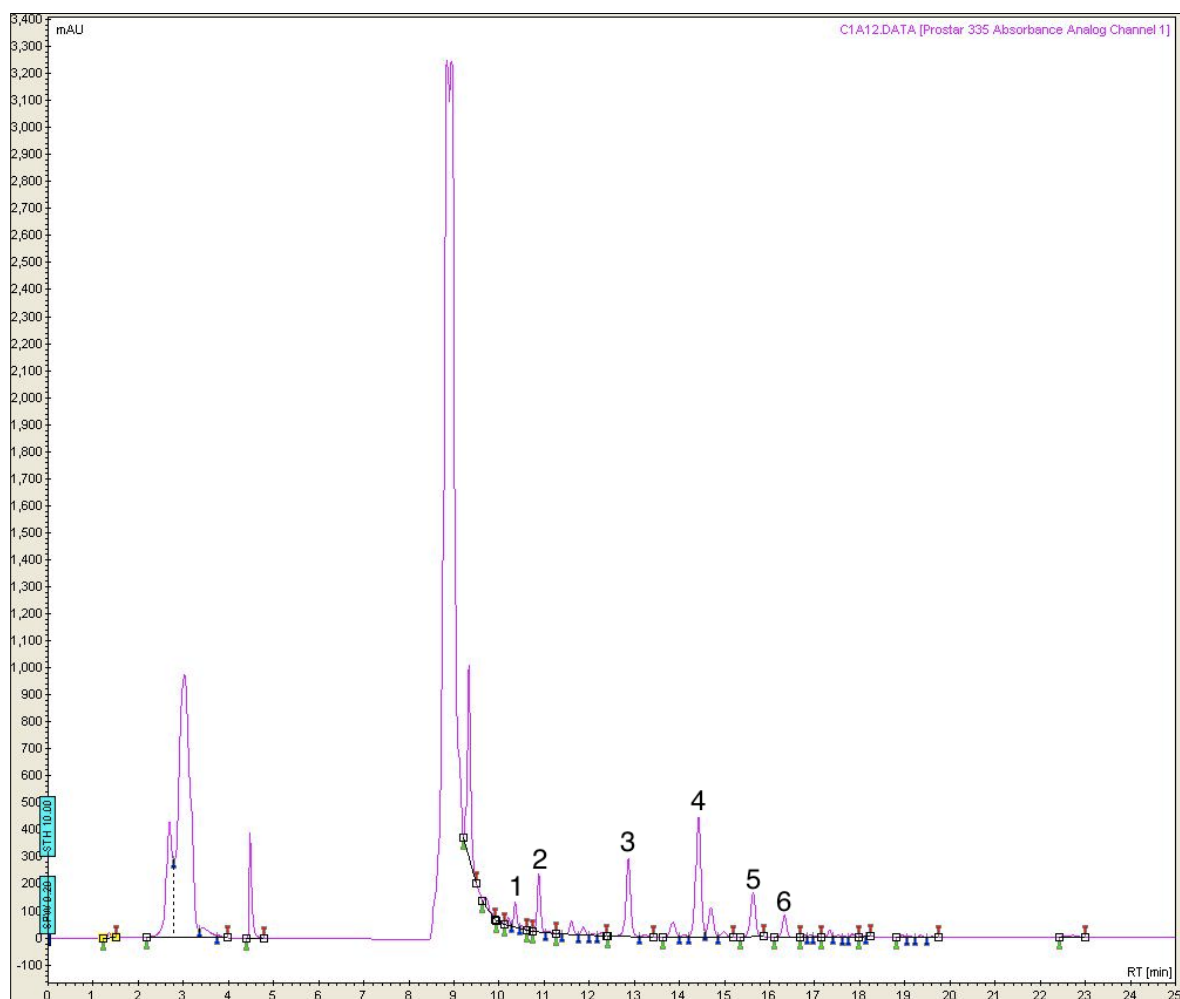


Figure 1. Reverse-Phase HPLC Chromatogram of Flavonols and Polymethoxyflavones Extracted from Regular-Washed Citrus Fiber

Peak identifications: 1 - quercetin (QUE), 2 - kaempferol (KAE), 3 - sinensetin (SIN), 4 - nobiletin (NOB), 5 - heptamethoxyflavone (HMF) and 6 - tangeretin (TAN).

Table 2. Flavonols and Polymethoxylated Flavones Concentration in Regular-Washed Citrus Fiber from Florida

Compound	Quantity (mg/g, dw)
Flavonols	
Quercetin	0.0276 ± 0.0107
Kaempferol	1.0945 ± 0.439
Polymethoxylated Flavones	
Sinensetin	1.9608 ± 0.958
Nobiletin	3.3304 ± 1.621
Heptamethoxyflavone	1.2155 ± 0.599
Tangeretin	0.5005 ± 0.251

Each value in the Table is represented as mean ± standard deviation (n=3).

Nobiletin had the highest concentration of all the flavones, followed by sinensetin, then heptamethoxyflavone. Similar results were obtained by Green et al. (2007). They found that Navel orange peels from the Jamaican cultivars had 3.8 mg/g nobiletin, 3.6 mg/g sinensetin and 2.6 mg/g heptamethoxyflavone. They also found that the majority of the Mexican citrus cultivars had nobiletin as the highest PMF in the citrus peels and nobiletin concentration for sweet orange peels type 1 and type 2 were 5.67 mg/g, 3.96 mg/g, respectively. The presence of flavonoids is influenced by the type of cultivar, as well as by the different tissues (albedo, flavedo,

juice vesicles) of citrus fruits (Nogata et al., 2006). Our findings were within the range of the results reported in earlier studies that focused on the identification and quantification of flavanone glycosides and PMFs (Manthey and Grohmann, 1996; Bocco et al., 1998; Green et al., 2007; Sun et al., 2010). A few studies also found the presence of flavonols, particularly quercetin and kaempferol, in citrus cultivars. Kawai et al. (1999) found quercetin in trace amounts in *Citrus paradisi* (grapefruit) juice extract, while kaempferol was found in trace amounts in *Citrus aurantium* (sour orange) juice extract. Also, Ross et al. (2000); Vanamala et al. (2006) reported the presence of quercetin in commercially available grapefruit juices. Wang et al. (2008) investigated the presence of flavonols in eight citrus species in Taiwan. They found trace amounts of quercetin and kaempferol in the peels of all citrus cultivars. Recently, Shalaby et al. (2011) identified the presence of kaempferol in *Citrus aurantifolia* (key lime) leaves, while quercetin was identified in both the leaves and peel of *Citrus sinensis* (sweet orange). Quercetin has shown some antiviral activity (Kaul et al., 1985; Tripoli et al., 2007). Also, it has been reported that polymethoxylated flavones provide antibacterial activity (Tripoli et al., 2007).

Table 3 shows the comparison of citrus fiber type on the presence of the TPC, TFC, TCC, and ORAC values. The results show that the total polyphenol content of citrus fibers significantly ( $P < 0.05$ ) differ between hot-washed and regular-washed citrus fibers. Total polyphenol content, total flavonoid content, total carotenoid content and antioxidant capacity of citrus fruits can be influenced by many factors, such as season, soil

quality, altitude, type of cultivar, processing procedure and whether it is a fresh or a dry product. Lutz et al. (2015) reported that total phenolic content and antioxidant capacity of fresh fruits were higher than dry counterpart. Ghasemi et al. (2009) reported similar results for the TFC for 13 cultivars of citrus peel including sweet orange, bitter orange, lemon etc., but they reported much higher total polyphenol contents (90.3-396.8 mg GAE/g) than our study found. Sankalpa et al. (2017) reported that processing method influenced the TFC, TPC, TCC and radical scavenging activity of sweet orange peel powder. There was no statistical difference ( $P > 0.05$ ) in the total flavonoid content and the total carotenoid content between hot-washed citrus fibers and regular-washed citrus fiber, which as shown in Table 3. Wang et al. (2008) reported the highest total carotenoid content in *Citrus reticulata* Blanco (tangerine) peel with  $2.04 \pm 0.036$  mg/g, while *Citrus sinensis* L. Osbeck (orange) peel had  $0.445 \pm 0.008$  mg/g, and *Citrus limon* L. Bur peel had  $0.110 \pm 0.001$  mg/g. While TFC and TCC were not affected by the processing method, the ORAC values were affected. Hot-washed samples had lower ORAC values than regular-washed samples. Li et al. (2006) reported that frozen lemon peel made from fresh lemons had significantly higher total polyphenol content than oven-dried lemon peel for dried bases. They suggested that a long drying time or temperature might cause a decrease in the total polyphenol content. Second, the use of hot water for citrus fiber preparation might lead to a reduction in the antioxidant capabilities of some of the polyphenols and flavonoids, resulting in much lower ORAC values.

Table 3. Effect of Extraction Methodology and Type of Citrus Fiber on Total Polyphenol Count, Total Flavonoid Count, and Oxygen Radical Absorbance Capacity of Citrus Fiber

Citrus Samples	TPC (mg GAE/g, dw)	TFC (mg QUEE/g, dw)	TCC (mg $\beta$ -CE/g, dw)	ORAC Value ( $\mu$ Mole Trolox/g, dw)
C1	$9.959 \pm 1.31^a$	$9.621 \pm 0.38$	$0.176 \pm 0.0060$	$27.834 \pm 6.86^a$
C2	$7.959 \pm 0.79^b$	$9.413 \pm 0.97$	$0.168 \pm 0.0095$	$15.589 \pm 4.53^b$

<sup>a, b</sup> Different letters in the same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) analyzed by t-tests (least significant difference).

Each value in the Table is represented as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ).

C1: represents regular-washed samples.

C2: represents hot-washed sample

**CONCLUSION**

The high-pressure liquid chromatography technique used in this study provided fast results and good separation for polymethoxyflavones and flavonols in citrus fiber. Nobiletin, sinensetin, heptamethoxyflavone, tangeretin, quercetin, and kaempferol were identified. While quercetin was found in trace amounts, polymethoxyflavones were found in much higher quantities in the citrus fiber. Processing, i.e. hot-washing or regular-washing, of citrus fibers did not influence the TFC or the TCC. However, the regular-washed citrus samples had a higher total phenolic content and antioxidant capacity than the hot-washed citrus fibers. Results of our study also indicated that citrus fibers used in this study had relatively lower flavonoid concentration, TPC, TFC and ORAC values than what was found in the literature with fresh citrus peels.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

We would like to thank Dr. Misha T. Kwasniewski and Gwo Yuh Liu from the Grape and Wine Institute, College of Agriculture, Food and Natural Resources, University of Missouri, for their technical support.

**REFERENCES**

- Bocco, A., Cuvelier, M-E., Richard, H., Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem*, 46: 2123-2129.
- Davalos, A., Gomez-Cordoves, C., Bartolome, B. (2004). Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC- Fluorescein) assay. *J Agric Food Chem*, 52: 48-54.
- Fernandez-Lopez, J., Fernandez-Gines, J.M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barbera, E., Perez-Alvarez, J.A. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends Food Sci Technol*, 15: 176-185.
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, 22: 277-281.
- Gorinstein, S., Martin-Belloso, Q., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem*, 74: 309-315.
- Green, C.O., Wheatley, A.O., Osagie, A.U., Morrison, E.Y.S.A., Asemota, H.N. (2007). Determination of polymethoxylated flavones in peels of selected Jamaican and Mexican citrus (*Citrus* spp.) cultivars by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*, 21: 48-54.
- Kaul, T., Middleton, E., Ogra, P. (1985). Antiviral effects of flavonoids on human viruses. *J Med Virol*, 15: 71-79.
- Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Yano, M. (1999). HL-60 Differentiating activity and flavonoid content of the readily extractable fraction prepared from citrus juices. *J Agric Food Chem*, 47: 128-135.
- Lario, Y., Sendra, E., Garcia-Perez, J., Fuentes, C., Sayas-Barbera, E., Fernandez-Lopez, J. (2004). Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 5: 113-117.
- Larrauri, J.A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends Food Sci Technol*, 10: 3-8.
- Lee, H.S. (2001). Characterization of carotenoids in juice of red navel orange (Cara Cara). *J Agric Food Chem*, 49: 2563-2568.
- Li, B.B., Smith, B., Hossain, M.M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels I. solvent extraction method. *Sep Purif Technol*, 48: 182-188.
- Lin, J-Y., Tang, C-Y. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem*, 101: 140-147.
- Lutz, M., Hernandez, J., Henriquez, C. (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. *CyTA – J Food*, 13(4): 541-547.
- Manthey, J.A., Grohmann, K. (1996). Concentration of hesperidin and other orange

- peel flavonoids in citrus processing byproducts. *J Agric Food Chem*, **44**: 811-814.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., Ohta, H. (2006). Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Biosci Biotechnol Biochem*, **70**(1): 178-192.
- Rodriguez, R., Jimenez, A., Fernandez-Bolanos, J., Guilen, R., Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends Food Sci Technol*, **17**: 3-15.
- Rodriguez-Saona, L.E., Wrolstad, R.E. (2001). Acetone extraction and chloroform partition of anthocyanins. In: Current protocols in food analytical chemistry, Volume 2. John Wiley & Sons, Inc., New York, p F1.1.1.
- Ross, S.A., Ziska, D.S., Zhao, K., ElSohly, M.A. (2000). Variance of common flavonoids by brand of grapefruit juice. *Fitoterapia*, **71**: 154-161.
- Sankalpa, K.B., Ramachandra, C.T., Dinesha, B.L., Nidoni, U.K., Sharanagouda, H., Beladhadi, R.V. (2017). Effect of different drying and grinding methods on biochemical properties of sweet orange peel powder. *Asian J Dairy Food Sci*, **36**(3): 260-263.
- SAS. 2011. *Base SAS 9.3 Procedures Guide*. NC, USA.
- Saura-Calixto, F. (1998). Antioxidant dietary fiber product: A new concept and a potential food ingredient. *J Agric Food Chem*, **46**: 4303-4306.
- Shalaby, N.M.M., Abd-Alla, H.I., Ahmed, H.H., Basoudan, N. (2011). Protective effect of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantifolia* against osteoporosis and their phytochemical constituents. *J Med Plants Res*, **5**: 579-588.
- Sun, Y., Wang, J., Gu, S., Liu, Z., Zhang, Y., Zhang, X. (2010). Simultaneous determination of flavonoids in different parts of *Citrus reticulata* 'Cachi' fruit by high performance liquid chromatography – photodiode array detection. *Molecules*, **15**: 5378-5388.
- Tripoli, E., Guardia, M.L., Giammanco, S., Majo, D.D., Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chem*, **104**: 466-479.
- USDA. 2013. Citrus Fruits 2013 Summary. USDA, National Agricultural Statistics Service.
- Vanamala, J., Reddivari, L., Yoo, K.S., Pike, L.M., Patil, B.S. (2006). Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices. *J Food Comp Analysis*, **19**: 157-166.
- Wang, Y-C., Chuang, Y-C., Hsu, H-W. (2008). The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chem*, **106**: 277-284.



## INVESTIGATION OF SOME WATER SOLUBLE PARAMETERS IN APRICOT FRUIT OF DIFFERENT VARIETIES CULTIVATED

Ahmet Baysar<sup>1\*</sup>, Fikret Karataş<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Chemical Engineering, Faculty of Eng., İnönü University, Malatya, Turkey

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Fırat University, Elazığ, Turkey

Received /Geliş: 10.07.2018; Accepted /Kabul: 29.09.2018; Published online /Online baskı: 09.11.2018

Baysar, A., Karataş, F. (2018). Investigation of some water soluble parameters in apricot fruit of different varieties cultivated. GIDA (2018) 43 (6): 925-929 doi: 10.15237/gida.GD18084

Baysar, A., Karataş, F. (2018). Farklı kayısı çeşitlerinde suda çözünür bazı parametrelerin araştırılması. GIDA (2018) 43 (6): 925-929 doi: 10.15237/gida.GD18084

### ABSTRACT

In this study, the amounts of reduced form of glutathione (GSH), oxidized form of glutathione (GSSG) and various B vitamins particularly, thiamine hydrochloride (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), nicotinic acid (vitamin B3), pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) and folic acid (vitamin B9) in fresh ripe apricot fruits of six different varieties were determined by High Performance Liquid Chromatography(HPLC). It was observed that GSH, GSSG, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6 and vitamin B9 levels were between  $914.70 \pm 24.10 - 82.56 \pm 5.92 \mu\text{g/g}$ ;  $35.28 \pm 2.73 - 17.16 \pm 2.05 \mu\text{g/g}$ ,  $0.49 \pm 0.08 - 1.02 \pm 0.13 \mu\text{g/g}$ ,  $1.56 \pm 0.14 - 4.48 \pm 0.46 \mu\text{g/g}$ ,  $16.10 \pm 2.46 - 5.40 \pm 0.52 \mu\text{g/g}$ ,  $23.85 \pm 2.90 - 7.86 \pm 0.58 \mu\text{g/g}$  and  $8.84 \pm 0.86 - 3.04 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$ , respectively. The Hudaı variety was rich in GSH, GSSG, vitamin B1 and B2, Kabaşı variety was rich in Vitamin B3 and B6 and Hacıhaliloğlu variety was rich in vitamin B9.

**Keywords:** Apricot, glutathione, vitamins B and HPLC

### FARKLI KAYISI ÇEŞİTLERİNDE SUDA ÇÖZÜNÜR BAZI PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

#### ÖZ

Bu çalışmada taze ve olgun altı farklı kayısı çeşidinin redükte glutatyon (GSH), okside glutatyon (GSSG) ile çeşitli B vitamini özellikle tiamin hidroklorür (B1), riboflavin (B2), Nikotinik asit (B3) piridoksin hidroklorür (B6) ve folik asit (B9) içerikleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak belirlenmiştir. GSH, GSSG, B1, B2, B3, B6 ve B9 vitaminlerinin içeriği sırasıyla  $914.70 \pm 24.10 - 82.56 \pm 5.92 \mu\text{g/g}$ ;  $35.28 \pm 2.73 - 17.16 \pm 2.05 \text{ mg/g}$ ,  $0.49 \pm 0.08 - 1.02 \pm 0.13 \mu\text{g.g}^{-1}$ ,  $1.56 \pm 0.14 - 4.48 \pm 0.46 \mu\text{g.g}^{-1}$ ,  $16.10 \pm 2.46 - 5.40 \pm 0.52 \mu\text{g/g}$ ,  $23.85 \pm 2.90 - 7.86 \pm 0.58 \mu\text{g/g}$  ve  $8.84 \pm 0.86 - 3.04 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$  arasında olduğu gözlenmiştir. Hudaı çeşidinin GSH, GSSG, B1 ve B2 vitamini, Kabaşı çeşidinin de B3 ve B6 vitaminleri ve Hacıhaliloğlunun B9 vitamini bakımından zengin olduğu görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Kayısı, Glutatyon, B Vitaminleri ve HPLC

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ahmet.baysar@inonu.edu.tr,

☎(+90) 505 310 2213

☎(+90) 422 341 0046

## INTRODUCTION

Apricot (*Prunus armeniaca* L.) is rich by important minerals such as potassium, sodium, phosphorous and nutrients like vitamins and  $\beta$ -carotene. Climate conditions, altitude and soil composition have great effect on the yield, fruit quality and ripening times (Uslu et al., 1995). The variety of apricot is an important parameter on the amount of the nutrient and mineral contents, some varieties are especially suitable for drying to obtain high calorific values, vitamins and mineral-rich products. The level of protein, oil, carbohydrate, moisture, ash, cellulose and dry matter may change with the kind of apricot variety (Pala et al., 1994).

Despite wide cultivation in many parts of the world, apricot cultivation in Malatya-Elazığ region of eastern Turkey is favorable in terms of climatic and geographical factors. According to recent statistics, more than half of Turkey's 800,000 t of fresh fruit and almost all sulfur and sun dried apricot production originate from this region. This figure is about 10% of the world fresh apricot and 80% of the world dried apricot production (Asma, 2000; SIS, 1998). As with many other fruits, the nutritional importance of this fruit was only recently realized and since then, numerous investigations have been carried out on both fresh and dried forms, focusing mainly on the carbohydrate, amino acid and mineral and vitamin contents (Belloso & Barriobero, 2001; Watt & Merrill, 1978). A study by Paunovic (1985) showed that 100 g of dried apricot contained 5.0 g protein, 0.5 g fat, 66.5 g carbohydrate, 108 mg phosphorus, 979 mg potassium and 12 mg vitamin C. There is data on mineral and vitamin contents of apricots in food composition charts but the level of these minerals and vitamins in the fresh and dried fruits have not been related (Belloso & Barriobero 2001; Watt & Merrill 1978). Although, it is reported that some apricot varieties are rich in terms of vitamins B, there is not much information about glutathione content in the literature (Gundogdu et al., 2013). To our knowledge, there is no work in the literature reporting the content of reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) in fresh apricot varieties. Therefore, the aim of this study

was to determine the amount of GSH, GSSG, thiamine hydrochloride (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), nicotinic acid (vitamin B3), pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) and folic acid (vitamin B9) in the fresh apricot fruit of different varieties cultivated in Malatya-Elazığ region of eastern Turkey.

## MATERIALS AND METHODS

Apricot fruits from five common cultivars and a wild type (Hudayı) were collected from Malatya-Elazığ region and used for the study. Fresh apricots of similar ripening periods were collected by random sampling. The varieties selected for this study are known by their local names: Parlak Soğancı, Hasanbey, Hacıhaliloğlu, Kabaşi, Şam and Hudayı which were abbreviated as PS, HB, HH, KA, SA and HU, respectively. The fruits were covered with aluminum foil and transported to the laboratory and immediately subjected to analysis as it is known that maturity level is one of the major factors determining the compositional quality of fruits and vegetables (Lee & Kader, 2000). Experiments were conducted in parallel for the 6 varieties and each test was triplicated. The results are reported as arithmetic mean of the three replicates and standard error.

### Determination of GSH, GSSG, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6 and vitamin B9 levels in fresh fruit

Fresh apricot fruits samples were mashed in a homogenizer and 2.0 g of homogenate paste per sample were taken for the extraction of reduced and oxidized glutathione. 1.0 mL aliquot of 1.0 mol/L HClO<sub>4</sub> solution was added to the homogenate to precipitate the proteins. Total volumes were made up to 4.0 mL by adding distilled water. The mixture was centrifuged at 4000 rpm for 5.0 min at 4°C.

The supernatant was filtered by Whatman No. 1 paper and the amount of GSH and GSSG was determined using the method proposed by Dawes and Dawes (2000). A SGE Walkosil II 5Cl8 RS packed column (150 mm×4.6 mm ID, 5µm) was used. The mobile phase was 50 mM NaClO<sub>4</sub> in 0.1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution with pH 4.0 at 1.0 mL/min flow rate with detection at 215 nm. Vitamin B1,

vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6 and vitamin B9 levels were determined using the method proposed by Amidzic et al. (2005) and Ivanovic et al. (1999).

Supelcosil LC-18-DB column (150 mm x 4.6 mm ID, 5  $\mu$ m) was used for the determination of vitamins. The experiments were conducted at room temperature for all vitamins. A methanol-5mM heptanesulphonic acid sodium salt in 0.1% triethylamine (25:75 v/v) mixture was used as mobile phase. The pH of the mobile phase was adjusted with orthophosphoric acid to 2.8. The flow rate was set at 0.7 mL/min and the injection volume was 20  $\mu$ L. Vitamins B1, B2 and B3 were detected at 260 nm while vitamins B6 and B9 were detected at 290 nm. All prepared mobile phases were degassed with an ultrasonic bath. Each run was repeated three times to check repeatability. HPLC separations were accomplished at room temperature with a Cecil HPLC system (Series 1100) consisting of a 20  $\mu$ L sample injection valve (Cotati 7125 CA, USA), a ultra-violet (UV) spectrophotometric detector (Cecil 68174, UK) and an integrator (HP 3395A, China).

The chemicals and reagents used in this work were of analytical grade and purchased from Sigma Chemical Co. (Darmstadt, Germany). All glassware was acid washed and rinsed with doubly distilled deionized water (ddH<sub>2</sub>O).

### Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 for Windows software (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Analysis was carried for the six varieties under investigation, and the results are presented as the mean value  $\pm$  standard error (S.E.).

### RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 summarizes all results obtained for the six varieties under investigation. Glutathione (GSH) is a tripeptide ( $\gamma$ -glutamyl-cysteinyl-glycine) which forms the largest pool of non-protein thiols in cells and it is an important intracellular antioxidant. Under conditions of oxidative stress, GSH reacts either as an electron donor to neutralize hydrogen peroxides and lipoperoxides or as a direct free radical scavenger (Meister, 1994; Shan et al., 1990). Glutathione is also the most abundant nonenzymatic antioxidant in live cells where it plays an important role against oxidative stress-induced cell injury (Hayes & McLellan, 1999). Glutathione is also related to the sequestration of xenobiotics and heavy metals. Furthermore, glutathione is an essential component of the cellular antioxidative defense system which keeps Reactive Oxygen Species (ROS) under control (Noctor & Foyer, 1998). Antioxidative defense and redox reactions play a major role in the acclimation of plants to their environment which make glutathione a suitable candidate as a stress marker (Tausz et al., 2004).

Table 1. The reduced and oxidised glutathione and vitamin B contents of fresh apricot fruits.

Parameters ( $\mu$ g/g)	Parlak Soğançı (PS)	Hasanbey (HB)	Hacıhaliloğlu (HH)	Kabaası (KA)	Şam (SA)	Hudayı (HU)
GSH	110.45 $\pm$ 7.14	82.56 $\pm$ 5.92	216.34 $\pm$ 9.85	132.08 $\pm$ 8.65	362.54 $\pm$ 11.96	914.70 $\pm$ 24.10
GSSG	20.24 $\pm$ 1.86	21.05 $\pm$ 1.64	17.16 $\pm$ 2.05	20.5 $\pm$ 1.90	21.5 $\pm$ 1.98	35.28 $\pm$ 2.73
Vitamin B1	0.75 $\pm$ 0.12	0.82 $\pm$ 0.13	0.78 $\pm$ 0.11	0.57 $\pm$ 0.09	0.49 $\pm$ 0.08	1.02 $\pm$ 0.13
Vitamin B2	2.56 $\pm$ 0.27	2.14 $\pm$ 0.22	1.75 $\pm$ 0.18	1.90 $\pm$ 0.20	1.56 $\pm$ 0.14	4.48 $\pm$ 0.46
Vitamin B3	15.67 $\pm$ 2.11	5.40 $\pm$ 0.52	12.71 $\pm$ 1.86	16.10 $\pm$ 2.46	15.40 $\pm$ 2.00	14.25 $\pm$ 2.04
Vitamin B6	7.86 $\pm$ 0.58	14.10 $\pm$ 1.49	13.52 $\pm$ 1.22	23.85 $\pm$ 2.90	15.70 $\pm$ 1.52	18.70 $\pm$ 2.25
Vitamin B9	5.50 $\pm$ 0.62	3.04 $\pm$ 0.29	8.84 $\pm$ 0.86	5.40 $\pm$ 0.50	3.88 $\pm$ 0.35	3.19 $\pm$ 0.32
GSH/GSSG	5.46	3.92	12.61	6.44	16.86	25.93

Table 1 shows GSH, GSSG and vitamins B levels of the six apricot varieties under consideration. It is clear that among the six apricot varieties, HU is the richest variety in terms of GSH and GSSG. The GSH and GSSG content of HU is followed by SA and HH variety. Uguralp et al. (2012) found

that GSH levels of rat tissues induced to cold restraint stress decreased. Upon administration of dry apricots to these rats, GSH levels in the stomach and intestine tissues increased. Therefore, this is an indication that apricots are rich in terms of glutathione.

The glutathione redox level depends on the ratio of reduced and oxidized glutathione (GSH/GSSG) (Karatas et al., 2009). The GSH / GSSG ratio at the basal level is high while this rate is decreased in many oxidative stress models (Kocsy et al., 2001). The GSH/GSSG ratios for apricot varieties are calculated as 25.93 for HU, 16.86 for SA, 12.61 for HH, 6.44 for KA, 5.46 for PS and 3.92 for HB (Table 1). Thus, the HU variety had the lowest while HB variety had the highest oxidative stress.

In literature, the term B-complex refers to all known essential water soluble vitamins except for vitamin C. Each member of the B-complex has a unique structure and performs unique functions in the human body (Papadoyanni, 1990). B-complex vitamins are effective supplements for neural and digestive system and commonly used for wound healing. They take part in biochemical reactions as coenzymes (Berg et al., 2002).

It is reported that vitamins B1, B2 and B3 take an important role in energy metabolism. Vitamin B1 takes role in the conversion of carbohydrates to glucose, while vitamin B2 takes role in the conversion of carbohydrates, proteins and fatty oils to energy. Vitamin B3 is the principal vitamin that cures the pellagra and regulates blood flow. Vitamin B6 and B9 play important role in protein, amino acids and carbohydrate metabolism and in the formation of red blood cells (Combs, 1992; Steven & Zeisel, 2000).

From the results given in Table 1, it is seen that HU variety is richer in terms of vitamins B1 and B2 content compared to the rest of the varieties considered. However, the KA variety has the highest vitamin B3 and B6 content while HH variety is seen to have the highest vitamin B9 content. The data given in Table 1 on B vitamins (B1, B2, B3, B6 and B9) level of all apricot varieties are in agreement with the literature (Ercisli et al., 1999).

The results reported in this work indicate that fresh apricots are a good source of glutathione and B vitamins. But the difference in the amount

of glutathione and vitamins B content is due to the type of the fruit variety.

## CONCLUSION

Although there are differences between the varieties GSH and vitamins B content, the fresh apricot fruit is rich in terms of GSH and vitamins B. Therefore, apricots may be considered as an essential fruit for a healthy diet. The information on the glutathione and vitamins B contents of apricots will help in getting the attention of researchers to the subject.

## REFERENCES

- Amidzic, R., Brboric, J., Cudina, O., Vladimirov, S. (2005). *RP-HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, folic acid and B12 in multivitamin tablets. J. Serb Chem Soc.* 70(10): 1229-35.
- Asma, B.M. (2000) *Apricot growing*. Malatya Turkey: Evin Publishers (in Turkish).
- Belloso, M.O., Barriobero, L.E. (2001) Proximate composition, minerals and vitamins in selected canned vegetables. *Eur Food Res Technol.* 212: 182-87.
- Berg, J.M., Tymazko, J.L., Stryer, L. (2002). *Biochemistry*, W.H. Freeman and Company, fifth edition, New York USA. pp. 340-47
- Combs, Jr G.F. (1992). *Discovery of the vitamins, in: The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Academic Press, Inc., San Diego, CA, USA, p. 9.
- Dawes, P., Dawes, E. (2000). *SGE Chromatography Products Catalog*. p. 182.
- Ercisli, S., Esitken, H., Guleryuz, M. (1999). The effect of vitamins on the seed germination of apricots. *International Symposium on Apricot Culture*, Vols 1 and 2. Book Series: Acta Horticulturae, Issue: 488, pp: 437-440.
- Gundogdu, M., Kan, T., Gecer, M.K. (2013). Vitamins, flavonoids, and phenolic acid levels in early- and late-ripening apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars from Turkey. *Hortscience.* 48 (6): 696-700.
- Hayes, J.D., McLellan, L.I. (1999). Glutathione and glutathione dependent enzymes represent a

- co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res.* 31: 273-300.
- Ivanovic, D., Popovic, A., Radulovic, D., Medenica, M. (1999). Reversed-phase ion-pair HPLC determination of some water-soluble vitamins in pharmaceuticals. *J Pharm Biomed Anal.* 18: 999-1004.
- Karatas, F., Öbek, E., Kamaşlı, F. (2009). Antioxidant capacity of *Lemna gibba* L. exposed to wastewater treatment. *J Ecol Eng.* 35: 1225-30.
- Kocsy, G., Galiba, G., Brunold, C. (2001). Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants. *Physiol Plant.* 113: 158-64.
- Lee, S.K., Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol Technol.* 20: 207–220.
- Meister, A. (1994). Glutathione ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem.* 269(13): 9397-400.
- Noctor, G., Foyer, C.H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49: 249–279.
- Pala, M., Ackurt, F., Loker M, Saygi, Y.B. (1994). Composition of apricot varieties. *Standard; Special Apricot Issue:* 64-6 6(in Turkish).
- Papadoyanni, I.N. (1990). *HPLC in clinical chemistry*. Marcel Dekker, Chapter 23, New York, USA. pp. 440–72.
- Paunovic, S. A. (1985). Apricot culture and apricot science. *Acta Hortic.*, 192: 23–34.
- Shan X.Q, Aw, T.Y., Jones, D.P. (1990). Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther.* 47: 61-71.
- State Institute of Statistics (SIS) (1998). *Agricultural structure and production number of fruit trees and fruit production*. Ankara, Turkey (in Turkish).
- Steven, H.Z. (2000). *Dietary References Intakes for Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Panthotenic Acid, Biotin and Choline*, Institute of Nutrition, National Academy Press.
- Tausz, M., Sircelj, H., Grill, D. (2004). The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid? *J Exp Bot.* 55 (404), 1955–62.
- Uguralp, S., Ozturk, F., Aktay, G., Cetin, A., Gursoy, S. (2012). The antioxidant effects of dry apricot in the various tissues of rats with induced cold restraint stress. *Nat Prod Res.* 26(16): 1535-38.
- Uslu, S., Genç, Ç., Bilici, M., Bilici, A., Doganay, S. 1995. Nutrient status of apricot orchards in Malatya. *Acta Hortic.* 384: 355-56.
- Watt, B.K., Merrill, A.L. (1978). *Composition of Foods. Agriculture Handbook.* No 8-3, US Department of Agriculture Science and Education Administration, Washington DC.

## BİYOAKTİF PEPTİTLERİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

**M. Ümit Ünal<sup>1\*</sup>, Aysun Şener<sup>2</sup>, Kardelen Cemek<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

<sup>2</sup> Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş / Received: 31.03.2018; Kabul / Accepted: 21.10.2018; Online baskı / Published online: 09.11.2018

Ünal, M.Ü., Şener, A., Cemek, K. (2018). Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri. GIDA (2018) 43 (6): 930-942 doi: 10.15237/gida.GD18048

Ünal, M.Ü., Şener, A., Cemek, K. (2018). Effects of bioactive peptides on health. GIDA (2018) 43 (6): 930-942 doi: 10.15237/gida.GD18048

### ÖZ

Biyoaktif peptitler aminoasitlerin peptit bağlarıyla bağlanması sonucu oluşan, vücut fonksiyonlarına olumlu etkisi olan ve sağlığı etkileyebilen spesifik protein parçalarıdır. Bazı biyoaktif peptitler doğal kaynaklarında serbest olarak bulunurlar. Ancak, bilinen biyoaktif peptitlerin büyük çoğunluğu ana proteinlerin yapısı içerisinde inaktif halde bulunurlar ve proteolitik enzimlerle hidroliz veya fermentasyon sonucu serbest kalırlar. Biyoaktif peptitler, sindirim, endokrin, kardiyovasküler, bağışıklık ve sinir sistemini ve dolayısıyla insan sağlığını etkilerler. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda antimikrobiyal, antitrombotik, antihipertansif, opioid, immünomodülatör, kolesterol düşürücü, mineral bağlayıcı ve antioksidatif özellikler gösterdikleri ortaya konmuştur. Bu derlemede biyoaktif peptitlerin tanımlanması, kaynakları, biyoaktif özellikleri ve sağlık üzerine etkileri ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Proteinler, Peptitler, Biyoaktivite, Biyoaktif Peptit Kaynakları, Sağlık

## EFFECTS OF BIOACTIVE PEPTIDES ON HEALTH

### ABSTRACT

Bioactive peptides are formed by amino acids joined by peptide bonds and defined as specific protein fragments that have a positive impact on body functions, and may influence health. Some bioactive peptides exist free in its natural source. However, the vast majority of known bioactive peptides are inactive within the structure of the parent proteins and are released by enzymic hydrolysis or fermentation. Bioactive peptides play a significant role in human health by affecting the digestive, endocrine, cardiovascular, immune, and nervous systems. *In vitro* and *in vivo* studies showed that bioactive peptides exhibited antimicrobial, antithrombotic, antihypertensive, opioid, immunomodulator, cholesterol lowering, mineral binding and antioxidant properties. In this review, identification, sources, bioactive properties and health effects of bioactive peptides are addressed.

**Keywords:** Proteins, Peptides, Bioactivity, Bioactive Peptide Sources, Health

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ muunal@cu.edu.tr

☎ (+90) 322 338 6997

☎ (+90) 322 338 6614

## GİRİŞ

Biyoaktif peptitler vücut fonksiyonları üzerinde olumlu etkisi olan spesifik protein fragmanları olarak tanımlanmaktadır. 'Biopep' adlı bir veri tabanında 1500'den fazla farklı biyoaktif peptit olduğu bildirilmiştir. Biyoaktif peptitler, amid veya peptit bağları olarak da bilinen kovalent bağlarla bağlanmış aminoasitlerden oluşan organik maddeler olup hormon veya ilaç benzeri aktiviteler gösterirler. Canlı organizmaların metabolik işlevleri ve dolayısıyla insan sağlığında önemli rol oynamaktadırlar (Singh vd., 2014).

*In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda antimikrobiyal, antitrombotik, antihipertansif, opioid, immünomodülatör, kolesterol düşürücü, mineral bağlayıcı ve antioksidatif özellikler gösterdikleri ortaya konmuştur. *In vitro* ve *in vivo* gerçekleştirilen araştırmalarda bazı biyoaktif peptitlerin farklı kanser hücresi hatlarına seçici sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, bazı peptitlerin çok fonksiyonlu oldukları ve bahsedilen bu etkilerden birden fazlasını gösterdikleri de bildirilmiştir. Sağlık üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda biyoaktif peptitlerle ilgili çok sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir. Özellikle biyoaktif peptitlerin çeşitli hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki etki mekanizmaları ve potansiyel rolleri üzerinde çok sayıda çalışma vardır. (Cicero vd., 2017; Hartmann ve Meisel, 2007).

Bir diyet bileşeninin biyoaktif olarak kabul edilebilmesi için fizyolojik olarak ölçülebilir bir biyolojik etki sağlaması gerekmektedir. Bu biyoaktivitenin, toksisite, alerjenite ve mutajenite gibi potansiyel olarak zararlı etkiler dışında, sağlığı olumlu etkileme potansiyeline sahip olması gerekmektedir (Moller vd., 2008). Bir peptitin kimyasal yapısı ve aktivitesi arasındaki ilişki tahmin edilememekle birlikte aktivite aminoasit dizini, N ve C-terminal aminoasidinin türü, peptit zincirinin uzunluğu, peptiti oluşturan aminoasitlerin yük ve polaritesi gibi özelliklerine bağlıdır (Li ve Yu, 2015).

Bitkisel, hayvansal ve deniz orijinli gıdalarda çok sayıda biyoaktif peptit bulunur ve bunlar fermentasyon, enzimatik hidroliz, kimyasal hidroliz veya gastrointestinal sindirim proseslerinde ortaya çıkarlar (Cicero vd., 2017). Bu peptitler, bulunduğu protein dizisi içinde inaktif halde bulunurlar ve *in vivo* / *in vitro* enzimatik hidroliz sonucu aktif hale gelirler (Hartmann ve Meisel, 2007; Sila ve Bougatef, 2016). Farklı kaynaklardan farklı yöntemlerle elde edilen biyoaktif peptitler ve gösterdikleri biyoaktiviteler Çizelge 1'de özetlenmiştir. Biyoaktif peptitlerin eldesinde kullanılan en yaygın yöntem protein moleküllerinin proteolitik (pepsin, tripsin, alkalaz, kimotripsin, pankreatin, ve termolizin) enzimlerle hidrolizidir (Yaya vd., 2015; Ohata vd., 2016).

Çizelge 1. Biyoaktif peptit kaynakları, elde edilme yöntemleri ve biyoaktiviteleri

Protein Kaynağı	Hidroliz Yöntemi		Biyoaktivite	Kaynak
	Fermentasyon	Enzimatik Hidroliz		
Sığır eti		Termolizin, proteinaz, tirozinaz, protez, papain, pepsin	Antikanserojenik aktivite	Jang vd. (2008)
Deve ve dana sosisi	<i>L. plantarum</i> KX881772		Antioksidan aktivite, antihipertansif aktivite, antikanserojenik aktivite	Ayyash vd. (2018)
Sardunya eti unu	<i>B. subtilis</i> A26 (CTM 50700), <i>B. amyloliquefaciens</i> An6		Kolesterol düşürücü aktivite	Jemil vd. (2017)

Çizelge 1. devam

Protein Kaynağı	Hidroliz Yöntemi		Biyoaktivite	Kaynak
	Fermentasyon	Enzimatik Hidroliz		
Kefir	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i>		Antikanserojenik aktivite	Guzel-Seydim vd. (2011)
Deve sütü	<i>L. plantarum</i>		Antimikrobiyal aktivite	Muhialdin ve Algboory (2018)
Keçi sütü		Tripsin ve fisin	Antimikrobiyal aktivite	Esmailpour vd. (2016)
Böcek ( <i>Gryllodes sigillatus</i> )		Alkalaz	Antihipertansif aktivite, antioksidan aktivite	Hall vd. (2018)
Mikro alg ( <i>Spirulina platensis</i> )		Proteaz K	Antioksidan aktivite	Yücecepe ve Özçelik (2016)
Hindistan cevizi		Alkalaz, pepsin, tripsin, flavourzyme	Antihipertansif aktivite	Li vd. (2016)
Polen		Alkalaz	Antihipertansif aktivite	Maqsoodlou vd. (2018)
Palmye çekirdeği		Alkalaz, pepsin, tripsin, flavourzyme	Antihipertansif aktivite	Zheng vd. (2017)
Bakla, kinoa ve buğday	<i>B. animalis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. breve</i>		Antihipertansif Aktivite Antidiyabetik Aktivite	Ayyash vd. (2018)
Camu-camu ( <i>Myricaria dubia</i> Mc. Vaugh) meyvesi	<i>L. helveticus</i> , <i>L. plantarum</i>		Antidiyabetik aktivite, Antihipertansif aktivite	Fujita vd. (2017)
Fermente soya fasulyesi	<i>B. subtilis</i> SCK-2, <i>Lactococcus</i> sp. GM005		Antimikrobiyal aktivite	Sanjukta vd. (2016)
Soya sütü	<i>L. plantarum</i> C2		Antimikrobiyal aktivite	Singh vd. (2015)
Zeytin çekirdeği		Alkalaz	Kolesterol düşürücü aktivite	Prados vd. (2018)

### ANTİHIPERTANSİF AKTİVİTE

Hipertansiyon, dünya nüfusunun yaklaşık 1/4'ünü etkileyen kardiyovasküler hastalıktır ve ilgili komplikasyonlarda rol oynayan kontrol edilebilir bir risk faktörüdür. Anjiyotensin I-dönüştürücü enzim (ADE) (EC 3.4.15.1) bir dipeptidil karboksipeptidazdır ve anjiyotensin I'i, damar büzücü etkisi olan anjiyotensin II'ye dönüştürür. Memelilerde kan basıncı ve sıvı ve tuz dengesini düzenlemede önemli fizyolojik rol oynar

(Hartmann ve Meisel, 2007; Hayes vd., 2016). ADE enzimini, inhibe eden peptitler potansiyel olarak tansiyon düşürücü ajanlardır (Kannan vd., 2012). Bu nedenle, süt, peynir, et, balık ve çok çeşitli bitki ve alglerden antihipertansif aktivite gösteren peptit eldesi üzerinde çok sayıda araştırma yürütülmüştür. Ancak, *in vivo* antihipertansif etkilerle ADE enziminin inhibisyonunun araştırıldığı *in vitro* çalışmaların sonuçları arasında korelasyonun olmadığı



bildirilmiştir. Bu nedenle, *in vitro* olarak elde edilen ADE inhibisyonu sonuçlarının *in vivo* olarak aynı etkiyi göstereceğinin garantisi yoktur (Miralles vd., 2018).

Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürlerin yüksek proteolitik aktiviteleri nedeniyle, fermente süt ürünlerinin üretimi sırasında da biyoaktif peptitler oluşmaktadır. Süt proteinlerinden mikrobiyal proteoliz sonucu oluşan farklı biyoaktif peptitler üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır (Fitzgerald ve Murray 2006; Corrons vd., 2017). *L. helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edilen ekşi süttten izole edilen Ile-Pro-Pro ve Val-Pro-Pro tripeptitlerinin ADE enzimini inhibe ettiği ve uzun süreli kullanımının sıçanlarda hipertansiyon gelişimini önlediği gözlenmiştir (Moller vd., 2008). Lin vd. (2018) Tibet sığırı sütünden elde edilen Qula kazeinini iki farklı enzim kombinasyonu ile hidrolize etmişler ve elde ettikleri hidrolizatların ADE enzimini inhibe etme özelliğini araştırmışlardır. Alkalaz + termolizin ve termolizin + proteinaz K enzim kombinasyonları ile elde edilen hidrolizatların (< 3 kDa) en yüksek ADE inhibe edici aktiviteye sahip oldukları saptanmıştır. Hipotansif etkileri klinik denemelerle gösterilen antihipertansif peptit içeren birkaç ticari ürün piyasaya sürülmüştür.

Yumurta, tıp ve gıda endüstrisinde kullanılabilir birçok biyoaktif peptidin önemli bir kaynağı olarak kabul edilmiştir (Wu vd., 2010; Zambrowicz vd., 2011; Bhat vd., 2015). Majumder vd. (2015) yumurta ovotransferrinini enzimatik olarak hidrolize etmişler ve *in vitro* ADE inhibe edici etki gösteren üç tane tripeptit saptamışlardır. Bunlar Ile-Arg-Trp, Ile-Gln-Trp ve Leu-Lys-Pro aminoasit dizinine sahiptir. Ile-Gln-Trp ve Leu-Lys-Pro tripeptitlerini hipertansif sıçanlara oral yolla vermişler ve her ikisinin de tansiyon düşürücü etki gösterdiğini saptamışlardır.

Çözünür ve çözünmez balık (leatherjacket, *Meuschenia* sp) proteinlerinin papain, bromelain ve flavourzyme enzimleri ile farklı sürelerde hidrolize edildiği bir çalışmada elde edilen fraksiyonların ADE enzimini inhibe etme özellikleri araştırılmıştır. Fraksiyonların ADE'yi

inhibe etme özelliklerinin değişkenlik gösterdiği ve papainle 6 saat, bromelain ve flavourzyme ile 2 saat süre ile hidrolizasyon sonucu elde edilen 5 kDa'dan küçük fraksiyonların fonksiyonel gıda üretiminde kullanılma potansiyeli taşıdıkları bildirilmiştir (Salampessy vd., 2017).

Baklagiller zengin protein içerikleri sebebiyle önemli biyoaktif peptit kaynağı olarak nitelendirilmektedir. Kuru fasulye, barbunya ve mercimeğin kullanıldığı bir çalışmada 121 °C'de 50 dakika süren bir ısıl işlemin, üç örnekte de ADE inhibitör aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir (Akıllıoğlu ve Karakaya 2009). Kuru fasulye ile yapılan başka bir çalışmada ise 15 dakika boyunca kaynatılarak elde edilen hidrolizatların, ısıl işlem uygulanmayan hidrolizatlara göre çok daha yüksek ADE inhibitör aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Rui vd., 2012). Soya fasulyesi, ADE inhibitörlerinin değerli bir kaynağıdır ve bazı ADE inhibitörü peptitler hali hazırdaki hidrolizatlardan ve fermente edilmiş soya fasulyesi kaynaklı ürünlerden izole edilmiştir. ADE inhibitörü peptitler, *Monascus* ve *Aspergillus* gibi mantarlarla fermente edilen bir soya küspesi olan tofuyo'dan izole edilmiştir (Wu vd., 2010).

### ANTIOKSİDAN AKTİVİTE

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerin üretimi ve antioksidatif savunmalar arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Yapılan araştırmalar oksidatif stresle kanser, diyabet, eklem iltihabı, Alzheimer, şizofreni gibi pek çok hastalık ve rahatsızlıklar arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Antioksidanlarca zengin gıdaların tüketilmesi ile oksidatif stres azaltılabilir. Antioksidanlar, oksitlenebilir bir substrata kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda, substratın oksidasyonunu geciktirebilir veya önleyebilirler (Chakrabarti vd., 2014; Li ve Yu, 2015; Pisoschi ve Pop, 2015; Liu vd., 2016). Farklı gıdalardan elde edilen peptitlerin antioksidan aktivite gösterdiği çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Nongonierma vd., 2015; Safitri vd., 2017).

Aguilar-Toalá vd. (2017) *Lactobacillus plantarum* suşları kullanarak fermente edilmiş sütlerden elde ettikleri ham ekstrakt ve peptit fraksiyonlarını biyolojik aktiviteler açısından değerlendirilmişler

ve *L. plantarum* 55 suşu kullanılarak elde edilen ham ekstrakt ve peptit fraksiyonlarının antioksidan aktivitesinin diğer suşlarla elde edilenlere göre çok daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. İbrahim vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada deve sütü kazeini ve deve sütü peynir altı suyu proteinleri pepsin enzimi kullanılarak hidroliz edilmiştir. Hidroliz sonrası elde edilen peptitler RP-HPLC kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmıştır. Peptitlerin antioksidan aktiviteleri, süper oksit anyon üreten ksantin oksidaz (XOD) ve 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil (DPPH) giderme deney sistemleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Deve sütü kazeini ve peynir altı suyundan elde edilen peptitler, maya hücrelerinin peroksit kaynaklı oksidatif strese karşı toleransını önemli ölçüde arttırmıştır. Sonuçlar, deve sütü kazeini ve peynir altı suyu proteinlerinin önemli radikal giderici aktiviteleri olan biyoaktif peptitlere sahip olduğunu ve böylece oksidatif strese ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel peptitler olabileceklerini göstermiştir.

Zambrowicz vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, yumurta sarısı proteinine ait peptitler çeşitli aktiviteler açısından değerlendirilmiştir. Peptitleri elde etmek için pepsin ile hidroliz işlemi yapılmış, ardından iyon değişim kromatografisi ve ters fazlı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak fraksiyonlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen peptitler arasında YINQMPQKSRE'nin çok güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Liu vd. (2015) *Mactra veneriformis* protein hidrolizatından elde edilmiş antioksidan aktivite gösteren peptitleri tanımlamak için UHPLC Q-TOF MS/MS yöntemini geliştirmişlerdir. Kullanılan bu yöntemle, *Mactra veneriformis* protein hidrolizatından yüksek antioksidan aktivite gösteren 5 farklı peptit (Thr-Asp-Tyr, Leu-Asp-Tyr, Trp-Asp-Asp-Met-Glu-Lys, Trp-Gly-Asn-Val-Ser-Gly-Ser-Pro, Leu-Tyr-Glu-Gly-Tyr) elde edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada polen kaynaklı peptitler alkalaz enzimi kullanılarak elde edilmiştir. Enzimatik hidrolizin ardından SEC yöntemi ile saflaştırılmıştır. Polen kaynaklı

antioksidan aktiviteye sahip olan peptitler RP-HPLC yardımıyla fraksiyonlarına ayrılmıştır. Elde edilen fraksiyonların DPPH radikali giderme aktivitesi %66.61 olarak bulunmuştur (Maqsoodlou vd., 2018). Öztürk (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, geleneksel yöntemlerle üretilmiş keçi ve inek tulum peynirlerine ait peptitlerin çeşitli biyoaktif özellikleri ile birlikte antioksidan aktivite özellikleri incelenmiştir. DPPH ve ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite sonuçları olgunlaşma süresi ile antioksidan aktivitenin arttığını göstermiştir. DPPH yönteminde en yüksek antioksidan aktivite keçi tulum peynirinden elde edilen peptit ekstraktlarında, ABTS yönteminde ise en yüksek antioksidan aktivite inek tulum peynirinden elde edilen peptit ekstraktlarında belirlenmiştir.

Feng vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ceviz unu proteinlerinin hidrolizatlarından antioksidan peptitler izole edilip, tanımlanmıştır. Hidrolizatlar ultrafiltrasyon, jel filtrasyonu ve RP-HPLC ile ardışık olarak saflaştırılmış ve UPLC-QTOF-MS kullanılarak 6 önemli peptit (VRN, NPAN, AHSVGP, SSE, TY ve SGGY) elde edilmiştir. TY ve SGGY, diğer dört peptitle karşılaştırıldığında daha güçlü ABTS radikal süpürücü aktivite ve daha yüksek ORAC değeri göstermiştir. Agrawal vd. (2016) tarafından antioksidatif özellik gösteren peptitleri tanımlamak amacıyla tripsin enzimi kullanarak enzimatik hidroliz gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen peptitin farklı antioksidatif potansiyeli, DPPH radikali, ABTS radikali, hidroksil radikali analizleri ile değerlendirilmiştir. Jel filtrasyon kromatografisi ile ayrılan biyoaktif peptit, farklı serbest radikaller tarafından test edildiğinde yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

### ANTİKANSEROJEN AKTİVİTE

Biyoaktif peptitlerin pek çok kanser hücre hattına sitotoksik etki gösterme potansiyeli ortaya konmuştur. Peptitler, sitotoksik ajanlar olarak doğrudan kullanılabilirler veya belirli kanser hücrelerini hedefleyen sitotoksik ajan ve radyoizotop taşıyıcıları olarak işlev gösterebilirler. Düşük toksisite ve küçük boyutları nedeniyle yüksek doku penetrasyonu, hücre difüzyonu ve geçirgenliği avantajlarıdır. Kanser oluşumunda rol

oynayan bir veya daha fazla spesifik moleküler yolları da etkileyebilirler ve genellikle genotoksik özelliğe sahip değillerdir. Ana etki mekanizmaları, hücre migrasyonunun inhibisyonu, tümör kan damarlarının oluşumunun inhibisyonu, antioksidan aktivite, gen transkripsiyonu/hücre çoğalmasının inhibisyonu, apoptosisin indüksiyonu ve tubulin yapısı ve sitotoksitenin disorganizasyonudur. Potansiyel sitotoksik aktiviteye sahip biyoaktif peptitler bitkiler, süt, yumurta ve deniz organizmalarından elde edilebilir (Su vd., 2014; Cicero vd., 2017).

Guzel-Seydim vd. (2006) süt, yoğurt ve kefir örneklerinin antitümör aktiviteyi karşılaştırmışlardır. Kefir ekstraktı, metil metanosülfat, sodyum azid ve aflatoxin B1 ile indüklenen mutajeniteyi önemli ölçüde azaltırken, yoğurt ekstraktı ve süt, mutajeniteyi daha az düşürmüştür. Yapılan başka bir çalışmada deve sütünden elde edilen bir probiyotik olan *Lactobacillus plantarum* KX881772 kullanılarak fermente edilmiş deve sosisleri ile sığır sosisleri çeşitli biyolojik aktiviteler açısından karşılaştırılmıştır. Fermente deve sosisi peptitlerinin sitotoksik aktivitelerinin %70'e kadar yükseldiği gözlenmiştir. Bu bulgular probiyotikler tarafından fermente edilmiş deve sosislerinin yeni bir fonksiyonel gıda olabileceğini göstermektedir (Ayyash vd., 2018). *Lactococcus lactis* KX881782 ve *Lactobacillus acidophilus* DSM9126 kullanılarak deve ve sığır sütlerinin fermente edildiği bir çalışmada Caco-2, MCF-7 ve HELA hücrelerinin proliferasyonları fermente edilmiş deve sütünün suda çözünür özütleri kullanıldığında daha fazla inhibisyona uğramıştır (Ayyash vd., 2018).

Ayyash vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada buğday, kinoa ve acı baklayı, *Bifidobacterium* spp., *B. animalis*, *B. breve* ve *B. longum* türleri kullanılarak 37 °C'de 72 saat boyunca fermente etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda fermente acı baklanın sahip olduğu sitotoksik aktivitenin fermente kinoa ve fermente buğdaya kıyasla kolon kanser hücresine ve meme kanseri hücresine karşı sırasıyla 5 ve 3 kat daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

González-Montoya vd. (2018) simüle edilmiş gastrointestinal sindirimden sonra elde edilen anti-kanser ve anti-enflamatuvar aktivitelere sahip bir peptit kaynağı olarak çimlendirilmiş soya fasulyesi proteinlerinin potansiyelini araştırmışlardır. Çimlendirilmiş soya fasulyesinden elde edilen protein hidrolizatları pepsin / pankreatin ile hidrolize edilmiş ve ultrafiltrasyon yöntemi kullanılarak fraksiyonlarına ayrılmıştır. Tüm fraksiyonların (<5, 5–10 ve > 10 kDa) Caco-2, HT-29, HCT-116 insan kolon kanseri hücrelerinde sitotoksitete neden olduğu bildirilmiştir. Soya ürünleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, bu ürünlerden fermentasyon veya ısı işlem yolu ile elde edilen düşük molekül ağırlıklı peptitlerin birçok kanser hücresine sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir (Otağ ve Hayta, 2013).

Sütün fermentasyonu ile bağışıklık sistemi düzenleyici peptitlerin oluştuğu ve bu peptitlerin alerjik reaksiyonları azalttığı, gastrointestinal sistemdeki mukozal bağışıklığı artırdığı, dolayısıyla yenidoğanlarda bağışıklık sisteminin gelişmesine katkı sağladığı bildirilmiştir. Fermentasyon sırasında oluşan immün düzenleyici peptitler antitümör aktiviteye de katkıda bulunmaktadır. Ayrıca peynir altı suyunda bulunan biyoaktif peptitlerin kolon kanseri, lenf kanseri ve beyin tümörüne karşı koruyucu etki gösterdiği hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Otağ ve Hayta, 2013). Chi vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada kanlı ıstiridye (*Tegillarca granosa*) kasının protein hidrolizatlarından büyüklükleri sırasıyla 398.44 Da ve 243.23 Da olan iki peptit (Trp-Pro-Pro (BCP-A) ve Gln-Pro (BCP-B)) tanımlanmıştır. Bu peptitlerden Trp-Pro-Pro, PC-3, DU-145, H-1299 ve HeLa'nın hücre hatlarına doza bağlı olarak güçlü sitotoksitete gösterdiği bulunmuştur. Bu peptitin (Trp-Pro-Pro), serbest radikalleri temizleyerek ve kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyerek kanser tedavisi için de kullanılabileceği bildirilmiştir.

### **KOLESTEROL DÜŞÜRÜCÜ VE ANTİOBEZİTE AKTİVİTE**

Obezite insan ömrünü kısaltması ve ortaya çıkardığı yan etkilerle de yaşam kalitesini bozması nedeniyle bir hastalık olarak kabul edilmektedir

(Yardım vd., 2017). Obezitenin hipertansiyon, kalp hastalığı ve diyabet riskini artırdığına dair bulgular vardır. Plazmada kolesterolün ve/veya trigliseritlerin artması veya yüksek yoğunluklu lipoprotein seviyelerinin azalması ateroskleroz gelişimine katkıda bulunur. Belirli peptit dizini içeren protein hidrolizatlarının *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* çalışmalarda lipit düşürücü (hipolipidemik) etki gösterdiği belirlenmiştir. Hipolipidemik peptitler safra asitlerini bağlayarak, kolesterol misellerini bozarak ve absorpsiyonlarını inhibe ederek etki gösterirler. Ayrıca, karaciğer ve yağ hücresi enzimlerinin aktivitelerini etkileme ve lipogenik proteinlerin, reseptörlerinin ve 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA redüktaz enziminin gen ekspresyonunu aktive etme özellikleri de bulunmaktadır. 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA redüktaz enzimi kolesterol biyosentezindeki ana regülasyon enzimidir. Kolesterol biyosentez hızını azaltmak için bu enzimin inhibisyonu ana hedefdir (Mazorra-Manzano vd., 2017).

Nagaoka vd. (2001) süt proteini olan  $\beta$ -laktoglobulinin triptik hidrolizatlarından hipokolesterolemik bir peptit tanımlamıştır. Bu peptidin Caco-2 hücreleri (kolon adenokarsinoma hücreleri) tarafından kolesterol emilimini durduğu bildirilmiştir. Prados vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, zeytin tohumu proteinlerinden alkalaz enzimi kullanılarak lipit düşürme kapasitesine sahip on farklı peptit elde edilmiştir. Peptitler, hiperlipidemiyle eş zamanlı olarak, kolesterolün çözünürlüğünün azaltılması, kolesterol esteraz enziminin inhibisyonu ve lipaz enzimlerinin inhibisyonu gibi farklı yollarla kolesterol düşürücü etki göstermişlerdir. En aktif peptitler, 5 kDa'dan yüksek molekül ağırlığına sahip fraksiyonlarda görülmüştür. Bu fraksiyondaki peptitlerin, yüksek miktarda glutamik asit, aspartik asit ve bunların amidleri, glutamin ve asparajin içerdiği belirlenmiştir. Siow vd. (2016) kimyon tohumu peptitlerinin (KTP) *in vitro* fizyolojik özelliklerini değerlendirmişler, elde edilen KTP1 ve KTP2 peptitlerinin, çeşitli hidrofilik ve hidrofobik etkileşimlerle lipaz aktif bölgesine inhibitör etkisi yarattığını ve pankreatik lipaz aktivitesini yaklaşık %50 oranında inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir.

*B. subtilis* A26 (CTM 50700) ve *B. amyloliquefaciens* An6 proteolitik mikroorganizmaları kullanarak sardunya fermantasyonu gerçekleştirilmiştir. Fermente sardunya protein hidrolizatlarının, vücut ağırlığı artışını baskılayabildiği ve toplam kolesterol, trigliserit ve LDL-c serum düzeylerini azaltabildiği, yüksek yağ ve früktoz diyetiyle beslenen sıçanlarda HDL-c düzeyini artırabildiği bulunmuştur. Fermente sardunya protein hidrolizatlarının, fermente edilmemiş proteinlere kıyasla yüksek hipolipidemik aktivite gösterdiği bulunmuştur. Yüksek hipolipidemik etkinliğe sahip biyoaktif peptitlerin, fermantasyon sırasında enzimatik hidrolizin ardından üretildiği gözlenmiştir (Jemil vd., 2017). Yapılan bir çalışmada, beta-laktoglobulinin triptik hidrolizatından hipokolesterolemik bir peptit (Ile-Ile-Ala-Glu-Lys) tespit edilmiştir. Bu peptidin *in vitro* Caco2 hücreleri tarafından kolesterol emilimini baskıladığı ve peptit çözeltisinin sıçanlara ağız yoluyla verilmesiyle *in-vivo* hipokolesterolemik aktivite sergilediği gözlenmiştir (Semen ve Altıntaş, 2015).

Singh vd. (2014) soya glisininden aminoasit dizisi (LPYP) ile bir tetrapeptit izole etmişler ve elde edilen peptidin hipokolesterolemik etkisinin N ucundaki bir lüsin kalıntısı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Soya proteini proteaz hidrolizatlarının, hipokolesterolemik etkisi hakkında sınırlı bilgi bulunmakla birlikte soya proteinlerinin bileşenlerini veya aktif peptit segmentlerini tanımlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Nongonierma vd. (2015) kolesterolün misel çözünürlüğünün bastırılmasının serum kolesterolünün düşürülmesi ile yakından ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Alkalaz ile hazırlanan soya proteini hidrolizatının en iyi hipokolesterolemik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Fareler üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar sonucunda da farelerde, toplam serum kolesterol ve LDL miktarının sırasıyla % 24 ve % 34 oranında azaldığı görülmüştür.

#### ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE

*In vivo* olarak parazitler de dahil bakteriler, küfler ve virüslere karşı antimikrobiyal aktivite gösteren peptitler çeşitli kaynaklardan elde edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivitenin peptit büyüklüğü, aminoasit bileşimi, hidrofobisite ve ikincil yapı gibi özelliklere olduğu kadar mikroorganizmaya göre de değiştiği bildirilmiştir. Antimikrobiyal peptitlerin bazı ortak özellikleri 50'den daha az aminoasit içermeleri ve bu aminoasitlerin yaklaşık % 50'sinin hidrofobik olmasıdır. Fermente gıdalarda laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen antimikrobiyal özelliğe sahip biyoaktif peptitler gıda katkıları olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Antimikrobiyal peptitlerin, kimyasal koruyuculara göre daha az yan etkilerinin olması, düşük yoğunlukta ısıl işlem gerektirmeleri ve gıdanın duyuşsal ve besin değerlerinin korunması gibi avantajları vardır (Kannan vd., 2012).

Nedjar-Arroume vd. (2008) pepsin enzimi kullanarak sığır hemoglobininin antimikrobiyal aktivite gösteren 30 yeni peptit elde etmişler ve elde edilen peptitlerin 24'ünün  $\alpha$  zinciri içerisinde, 6'sının ise  $\beta$  zinciri içerisinde yer aldığını bildirmişlerdir. Jang vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada farklı ticari enzimler (termolizin+proteinaz A, tripsin, proteinaz K, tirozinaz, pepsin, papain ve proteaz) kullanılarak, sığır sarkoplazmik proteinlerinden elde edilen peptitlerden Gly-Leu-Ser-Asp-Gly-Glu-Trp-Gln peptidinin *Salmonella* Typhimurium, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* üzerine, Gly-Phe-His-Ile peptidinin *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine, Phe-His-Gly peptidinin *P. aeruginosa* üzerine ve Asp-Phe-His-Ile-Asn-Gly peptidinin *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada sığır ve insan laktoferrini pepsin ile enzimatik hidrolize tabi tutulmuş ve hidroliz sonrası elde edilen peptitlerin bakterisidal aktivitesinin, hidrolize uğramamış laktoferrinden 100-1000 kat daha etkili olduğu belirlenmiştir (Semen ve Altıntaş, 2015).

Singh vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, soya sütününün *Lactobacillus plantarum* C2 suşu ile fermentasyonu sonucu elde edilen biyoaktif peptitlerin antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Biyoaktif peptit fraksiyonlarının antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyonu yöntemi ile kontrol edilmiş, 5 kDa büyüklüğündeki

peptitlerin, *E. coli* ( $12 \pm 0.57$ ), *S. dysenteriae* ( $11 \pm 0.57$ ), *L. monocytogenes* ( $10 \pm 0.57$ ) ve *B. cereus* ( $10 \pm 0.57$  mm) patojenlerine karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Pepsin kullanılarak sığır hemoglobininin hidroliz yolu ile antimikrobiyal peptitlerin elde edildiği çalışmada, elde edilen peptidin  $\alpha$ -hemoglobin içerisinde yer alan 107-136 (<sup>107</sup>Val-Thr-Leu-Ala-Ser-His-Leu-Pro-Ser-Asp-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Asn-Val-Ser-Thr-Val-Leu<sup>136</sup>) aralığındaki aminoasit dizisine karşılık geldiği bildirilmiştir. Bu peptit zincirinin test edilen bütün bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve *M. luteus* A270, *Listeria innocua*, *E. coli* ve *S. enteritidis* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesinin daha güçlü olduğu belirlenmiştir (Şimşek ve Kılıç, 2016). *Spirulina platensis*'ten, alkalın proteaz ve papain enzimleri kullanılarak enzimatik hidroliz yoluyla antibakteriyel peptit elde edilmiştir. Elde edilen bu peptidin minimum inhibe edici konsantrasyonunun, *Escherichia coli* için 8 mg/mL ve *Staphylococcus aureus* için 16 mg/mL olduğu bulunmuştur (Yüçetepe ve Özçelik, 2016).

Pei vd. (2017)'nin yaptığı bir çalışmada, pepsin hidroliziyle elde edilen atık Tibet öküzü süt protein hidrolizatlarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Arg-Val-Met-Phe-Lys-Trp-Ala ve Lys-Val-Ile-Ser-Met-Ile olmak üzere iki adet antimikrobiyal peptit elde edilmiş ve aminoasit dizinleri belirlenmiştir. Arg-Val-Met-Phe-Lys-Trp-Ala'nın, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* ve *Salmonella* Paratyphi'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, Lys-Val-Ile-Ser-Met-Ile'nin ise sadece bakterilerin değil mantarların da gelişmesini inhibe ettiği belirlenmiştir.

#### ANTİDİYABETİK AKTİVİTE

Diyabet, pankreasın insülin üretimindeki yetersizliği veya salgılanan insülinin etkisizliği nedeniyle ortaya çıkan en yaygın bulaşıcı olmayan hastalıktır. Bu tür bir yetersizlik kan şekerinin artmasına neden olur ve kan damarları ve sinirler başta olmak üzere vücut dokusuna zarar verir. Dünyadaki diyabetli hasta sayısı 1980'de 108 milyon iken, 2014'te 422 milyona çıkmıştır

(Agarwa ve Gupta, 2016; Arrutia vd., 2016; Anonymous, 2017; Brown vd., 2017).

Farmakolojik müdahalelerde bir başka cazip seçenek kan şekeri seviyesini düzenleyen anahtar enzimleri (örneğin Dipeptitil peptitaz IV (DPP-IV) ve alfa-glikozidaz) inhibe etme özelliğine sahip biyoaktif peptitlerin kullanılmasıdır. DPP-IV (EC 3.4.14.5) bağırsak sindirim ve absorpsiyon mekanizmalarında anahtar enzimdir. Bu enzimin aktivitesi, glukagon benzeri peptit (GLP-1) ve gastrik inhibe edici peptit (GIP) gibi inkretinlerin yıkımı ile ilişkilidir. GLP-1 ve GIP peptitleri besin alımının ilk dakikalarında sindirim kanalında glikoz homeostazının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Protein hidrolizatlarında DPP-IV'ü *in vitro* inhibe edebilen ve *in vivo* kan glikoz seviyesini düşürebilen biyoaktif peptitlerin varlığı, antidiyabetik aktiviteye sahip hidrolizat üretimini teşvik etmiştir. Mikrobiyal, hayvansal ve bitkisel proteazlar kullanarak DPP-IV'ü inhibe etme özelliğine sahip biyoaktif peptit içeren süt protein hidrolizatları üretilmiştir (Mazorra-Manzano vd., 2017).

Hall vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada kriketler (*Gryllos sigillatus*), % 15 ile % 85 arasında değişen bir hidroliz derecesine kadar alkalaz ile hidrolize edilmiştir. Kriket proteini hidrolizatlarının çeşitli biyoaktif özellikleri ile birlikte DPP-IV inhibisyonu özelliği, model gastrointestinal sistemde sindirim öncesi ve sonrası değerlendirilmiştir. Peptitlerin DPP-IV inhibisyonu etkisinin % 60-85 hidroliz derecesinde en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. *Spirulina platensis*'in antidiyabetik özelliği *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen verilere göre, karaciğerde heksokinaz aktivitesi önemli ölçüde azalırken, glikoz-6-fosfataz aktivitesi diyabetik kontrolde belirgin olarak artmıştır (Yücepe ve Özçelik, 2016).

## SONUÇ

Farklı bitkisel ve hayvansal ürünlerden proteolitik enzimler ve fermentasyonla biyolojik aktivite gösteren peptit eldesi üzerinde yoğun bir ilgi vardır. Farklı kaynaklardan biyoaktif peptit elde etme ve fonksiyonlarını belirleme üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Peptitlerin biyoaktif

özellikleri ve bileşimleri arasındaki ilişki henüz saptanamamıştır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalarda farklı kaynaklardan elde edilen peptitlerin antimikrobiyal, antitrombotik, antidiyabetik, antihipertansif, opioid, immünomodülatör, antikanserojen, kolesterol düşürücü, mineral bağlayıcı ve antioksidatif özellikler gösterdikleri ortaya konmuştur. Biyoaktif peptitlerin çeşitli hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki etki mekanizmaları ve potansiyel rolleri üzerine çok sayıda araştırma yürütülmüştür. Peptitlerin antikanserojen etkileri çeşitli kanser hücre hatlarında ve hayvan modellerinde araştırılmıştır. Ancak, faz I klinik denemeleri sınırlı sayıdadır. Hipotansif etkileri klinik denemelerle gösterilen antihipertansif peptit içeren birkaç ticari ürün piyasaya sürülmüştür. Hiç kuşku yok ki gelecekte bu tür ticari ürünlerin sayısı artacaktır.

## KAYNAKLAR

Agarwa, P., Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Res Rev J Med Health Sci*, 5: 1-8.

Agrawal, H., Joshi, R., Gupta, M. (2016). Isolation, purification and characterization of antioxidative peptide of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) protein hydrolysate. *Food Chem*, 204: 365-372

Aguilar-Toalá, J. E., Santiago-López, L., Peres, C. M., Peres, C., Garcia, H. S., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A. (2017). Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. *J. Dairy Sci*, 100(1): 65-75.

Akilloğlu, H. G., Karakaya, S. (2009). Effects of heat treatment and *in vitro* digestion on the Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of some legume species. *Eur Food Res Technol*, 915-921

Anonymous (2017). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> 15/12/2017.

Arrutia, F., Puente, Á., Riera, F. A., Menéndez, C., González, U. A. (2016). Influence of heat pre-treatment on BSA tryptic hydrolysis and peptide release. *Food Chem*, 202: 40-48.

- Ayyash, M., Johnson, S. K., Liu, S. Q., Al-Mheiri, A., Abushelaibi, A. (2018). Cytotoxicity, antihypertensive, antidiabetic and antioxidant activities of solid-state fermented lupin, quinoa and wheat by *Bifidobacterium* species: In-vitro investigations. *LWT-Food Sci Technol*, 95: 295-302.
- Ayyash, M., Liu, S. Q., Al Mheiri, A., Aldhaheri, M., Raeisi, B., Al-Nabulsi, A., Olaimat, A. (2018). In vitro investigation of health-promoting benefits of fermented camel sausage by novel probiotic *Lactobacillus plantarum*: A comparative study with beef sausages *LWT-Food Sci Technol*, 99: 346-354.
- Ayyash, M., Al-Dhaheri, A. S., Al Mahadin, S., Kizhakkayil, J., Abushelaibi, A. (2018). In vitro investigation of anticancer, antihypertensive, antidiabetic, and antioxidant activities of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. *J Dairy Sci*, 101(2): 900-911.
- Bhat, Z. F., Kumar, S., Bhat, H. F. (2015). Bioactive peptides from egg: a review. *Nutr Food Sci*, 45: 190–212.
- Brown, A., Anderson, D., Racicot, K., Pilkenton, S. J., Apostolidis, E. (2017). Evaluation of chemical phytochemical enriched commercial plant extracts on the *in vitro* inhibition of  $\alpha$ -glucosidase. *Front Nutr*, 4: 1-8.
- Chakrabarti, S., Jahandideh, F., Wu, J. (2014). Food-Derived Bioactive Peptides on Inflammation and Oxidative Stress. *BioMed Res Int*, pp. 12.
- Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Li, T., Ding, G. F. (2015). Antioxidant and anticancer peptides from the protein hydrolysate of blood clam (*Tegillarca granosa*) muscle. *J Funct Foods*, 15: 301-313.
- Cicero, A. F. G., Fogacci, F., Colletti, A. (2017). Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: a narrative review. *Br J Pharmacol*, 174: 1378–1394.
- Corrons, M. A., Liggieri, C. S., Trejo, S. A., Bruno, M. A. (2017). ACE inhibitory peptides from bovine caseins released with peptidases from *Maclura pomifera* latex. *Food Res Int*, 93: 8–15.
- Esmailpour, M., Ehsani, M. R., Aminlari, M., Shekarfroush, S., Hoseini, E. (2016). Antimicrobial activity of peptides derived from enzymatic hydrolysis of goat milk caseins. *Comp Clin Pathol*, 25(3): 599-605.
- Feng, L., Peng, F., Wang, X., Li, M., Lei, H., Xu, H. (2018). Identification and characterization of antioxidative peptides derived from simulated in vitro gastrointestinal digestion of walnut meal proteins. *Food Res Int*. doi:10.1016/j.foodres.2018.08.068
- Fitzgerald, R. J., Murray, B. A. (2006). Bioactive peptides and lactic fermentations. *Int. J Dairy Technol*, 59: 118-125.
- Fujita, A., Sarkar, D., Genovese, M. I., Shetty, K. (2017). Improving anti-hyperglycemic and anti-hypertensive properties of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) using lactic acid bacterial fermentation. *Process Biochem*, 59: 133-140.
- González-Montoya, M., Hernández-Ledesma, B., Silván, J. M., Mora-Escobedo, R., Martínez-Villaluenga, C. (2018). Peptides derived from in vitro gastrointestinal digestion of germinated soybean proteins inhibit human colon cancer cells proliferation and inflammation. *Food Chem*, 242: 75-82.
- Guzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., Tas, T. (2006). Determination of antimutagenic properties of some fermented milks including changes in the total fatty acid profiles including CLA. *Int J Dairy Technol*, 59: 209–215.
- Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K., Seydim, A. C. (2011). Functional properties of kefir. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 51(3): 261-268.
- Hall, F., Johnson, P. E., Liceaga, A. (2018). Effect of enzymatic hydrolysis on bioactive properties and allergenicity of cricket (*Gryllobates sigillatus*) protein. *Food Chem*, 262: 39-47.
- Hartmann, R., Meisel, H. (2007). Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Curr Opin Biotechnol*, 18: 163–169.
- Hayes, M., Mora, L., Hussey, K., Aluko, R.E. (2016). Boarfish protein recovery using the pH-shift process and generation of protein

- hydrolysates with ACE-I and antihypertensive bioactivities in spontaneously hypertensive rats. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 37: 253–260.
- Ibrahim, H. R., Isono, H., Miyata, T. (2018). Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. *Anim Nutr*, 273–280.
- Jang, A., Jo, C., Kang, K. S., Lee, M. (2008). Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Food Chem*, 107(1): 327–336.
- Jemil, I., Abdelhedi, O., Nasri, R., Mora, L., Marrekchi, R., Jamoussi, K., Nasri, M. (2017). Hypolipidemic, antiobesity and cardioprotective effects of sardinelle meat flour and its hydrolysates in high-fat and fructose diet fed Wistar rats. *Life Sci*, 176: 54–66.
- Kannan, A., Hettiarachchy, N., Marshall, M. (2012). Food Proteins and Peptides as Bioactive Agents. *Bioactive Food Proteins and Peptides: Applications in Human Health*, Eds: N. S. Hettiarachchy. CRC Press, Taylor And Francis Group, Boca Raton, pp. 1–27.
- Li, Y., Yu, J. (2015). Research progress in structure-activity relationship of bioactive peptides. *J Med Food*, 18: 147–156.
- Li, Y., Zheng, Y., Zhang, Y., Liu, L., Zhao, S. (2016). Purification, characterization, synthesis, in vivo and in vitro antihypertensive activity of bioactive peptides derived from coconut (*Cocos nucifera* L.) cake globulin hydrolysates. *RSC Advances*, 6(95): 92688–92698.
- Lin, K., Zhang, L., Han, X., Zhaoxu Meng, Z., Zhang, J., Yifan Wu, Y., Chen, D. (2018). Quantitative Structure–Activity Relationship Modeling Coupled with Molecular Docking Analysis in Screening of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides from Qula Casein Hydrolysates Obtained by Two-Enzyme Combination Hydrolysis. *J Agric Food Chem*, 66: 3221–3228.
- Liu, R., Zheng, W., Li, J., Wang, L., Wu, H., Wang, X., Shi, L. (2015). Rapid identification of bioactive peptides with antioxidant activity from the enzymatic hydrolysate of *Mactra veneriformis* by UHPLC–Q-TOF mass spectrometry. *Food Chem*, 167: 484–489.
- Liu, R., Xing, L., Fu, Q., Zhou, G. H., Zhang, W. G. (2016). A review of antioxidant peptides derived from meat muscle and by-products. *Antioxid*, 5(3): 32.
- Majumder, K., Chakrabarti, S., Morton, J. S., Panahi, S., Kaufman, S., Davidge, S. T., Wu, J. (2015). Egg-derived ACE-inhibitory peptides IQW and LKP reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Funct Foods*, 13: 50–60.
- Maqsoudlou, A., Mahoonak, A. S., Mora, L., Mohebodini, H., Toldrá, F., Ghorbani, M. (2018). Peptide identification in alcalase hydrolysed pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly. *Food Res Int*, doi:10.1016/j.foodres.2018.09.027.
- Mazorra-Manzano, M. A., Ramírez-Suarez, J. C., Yada, R. Y. (2017). Plant proteases for bioactive peptides release: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1–17.
- Miralles, B., Amigo, L. ve Recio, I. (2018). Critical Review and Perspectives on Food-Derived Antihypertensive Peptides. *J Agric Food Chem*, 66: 9384–9390.
- Moller, N. P., Scholz-Ahrens, K. E., Roos, N., Schrenzenmeir, J. (2008). Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur J Nutr*, 47: 171–182.
- Muhialdin, B. J., Alboory, H. L. (2018). Identification of low molecular weight antimicrobial peptides from Iraqi camel milk fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Pharma Nutr*, 6(2): 69–73.
- Nagaoka, S., Futamura, Y., Miwa, K., Awano, T., Yamauchi, K., Kanamaru, Y., Kuwata, T. (2001). Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk  $\beta$  lactoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun*, 281(1): 11–17.
- Nedjar-Arroume N, Dubois-Delval V, Adje E.Y, Traisnel J, Krier F, Mary P, Kouach M, Briand G, Guillochon D. (2008). Bovine hemoglobin: An



- attractive source of antibacterial peptides. *Peptides*, 29: 969-977.
- Nongonierma, A. B., Maux, S. L., Dubrulle, C., Barre, C., FitzGerald, R. J. (2015). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein hydrolysates with *in vitro* dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory and antioxidant properties. *J Cereal Sci*, 65: 112–118.
- Ohata, M., Uchida, S., Zhou, L., Arihara, K. (2016). Antioxidant activity of fermented meat sauce and isolation of an associated antioxidant peptide. *Food Chem*, 194: 1034–1039.
- Otağ, F. B., Hayta, M. (2013). Gıdalarda Biyoaktif Peptid Oluşumu ve Aktivitesi Üzerine Isıl İşlem Ve Fermantasyonun Etkileri. *GIDA*, 38(5).
- Öztürk, H. İ. (2015). Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin, biyoaktif peptid içeriklerinin ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Pei, J., Jiang, H., Li, X., Jin, W., Tao, Y. (2017). Antimicrobial peptides sourced from post-butter processing waste yak milk protein hydrolysates. *AMB Express*, 7(1): 217.
- Pisoschi, A. M., Pop, A. (2015). The role of antioxidantss in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*, 97: 55-74.
- Prados, I. M., Marina, M. L., García, M. C. (2018). Isolation and identification by high resolution liquid chromatography tandem mass spectrometry of novel peptides with multifunctional lipid-lowering capacity. *Food Res Int*, 111: 77-86.
- Rui, X., Boye, J. I., Simpson, B. K., Prashe., S. O. (2012). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of *Phaseolus vulgaris* bean hydrolysates: Effects of differentthermal and enzymatic digestion treatments. *Food Res Int*, 49: 739–746.
- Safitri, N. M., Herawati, E. Y., Hsu, J. L. (2017). Antioxidant Activity of Purified Active Peptide Derived from *Spirulina platensis* Enzymatic Hydrolysates. *Res J Life Sci*, 4(2): 119-128.
- Salampessy, J., Reddy, N. Phillips, M., Kailasapathy, K. (2017). Isolation and characterization of nutraceutically potential ACE-Inhibitory peptides from leatherjacket (*Meuschenia* sp.) protein hydrolysates. *LWT-Food Sci Technol*, 80: 430-436.
- Sanjukta, S., Rai, A. K. (2016). Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends Food Sci Technol*, 50: 1-10.
- Semen, Z., Altıntaş, A. (2015). Sütte biyoaktif peptitler ve biyolojik önemi. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 3-4.
- Sila, A., Bougatef, A. (2016). Antioxidant peptides from marine by-products: Isolation, identification and application in food systems. A review. *J Funct Foods*, 21: 10–26.
- Singh, B. P., Vij, S., Hati, S. (2014). Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, 54: 171–179.
- Singh, B. P., Vij, S., Hati, S., Singh, D., Kumari, P., Minj, J. (2015). Antimicrobial activity of bioactive peptides derived from fermentation of soy milk by *Lactobacillus plantarum* C2 against common foodborne pathogens. *Int J Ferment Foods*, 4(2): 77.
- Siow, H. L., Choi, S. B., Gan, C. Y. (2016). Structure–activity studies of protease activating, lipase inhibiting, bile acid binding and cholesterol-lowering effects of pre-screened cumin seed bioactive peptides. *J Funct Foods*, 27: 600-611.
- Su, X., Dong, C., Zhang, J., Su, L., Wang, X., Cui, H., Chen, Z. (2014). Combination therapy of anti-cancer bioactive peptide with Cisplatin decreases chemotherapy dosing and toxicity to improve the quality of life in xenograft nude mice bearing human gastric cancer. *Cell Biosci*, 4: 7.
- Şimşek, A., Kılıç, B. (2016). Et Kaynaklı Biyoaktif Peptitler ve Fonksiyonel Özellikleri. *GIDA* 41(4): 267-274
- Wu, J., Majumder, K., Gibbons, K. (2010). Bioactive proteins and peptides from egg proteins. In: Mine, Y., Li-Chan, E., Jiang, B., (eds), *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals*, 247–263.

Yardım, N., Kocadağ, S., Kelat, E. Z., Adıgüzel, Ö. S., Atabey, M., Saygı, M. (2017). *Birinci Basamak Sağlık Kurumları İçin Obezite ve Diyabet Klinik Rehberi*. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Yayın No 1070.

<https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-i-beslenme-hareketli-hayat-db/Diyabet/diyabet-rehberleri/Obezite-ve-Diyabet-Klinik-Rehberi.pdf>.

Yaya, H., Lujuan, X., Guanghong, Z., Wangang, Z. (2015). Effect of extraction methods on the antioxidant activity of crude peptides from Jinhua ham. *Sci Technol Food Ind*, 36: 115–118.

Yüçetepe, A., Özçelik, B. (2016). Bioactive Peptides Isolated from Microalgae *Spirulina platensis* and their Biofunctional Activities. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 14(4).

Zambrowicz, A., Żelazko, M., Trziszka, T. (2011). Hen egg proteins: precursors of bioactive peptides. *Medycyna Weterynaryjna*, 67(3): 157-161.

Zambrowicz, A., Pokora, M., Setner, B., Dąbrowska, A., Szoltysik, M., Babij, K., Chrzanowska, J. (2015). Multifunctional peptides derived from an egg yolk protein hydrolysate: isolation and characterization. *Amino acids*, 47(2): 369-380.

Zheng, Y., Li, Y., Zhang, Y., Ruan, X., Zhang, R. (2017). Purification, characterization, synthesis, in vitro ACE inhibition and in vivo antihypertensive activity of bioactive peptides derived from oil palm kernel glutelin-2 hydrolysates. *J Funct Foods*, 28: 48-58.

## ***Helicobacter pylori* ENFEKSİYONUNDA PROBİYOTİKLERİN ROLÜ**

**Vildan Akdeniz\*, Elif Özer, A. Sibel Akalın**

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

Geliş / Received: 13.06.2018; Kabul / Accepted: 02.11.2018; Online baskı / Published online: 24.11.2018

Akdeniz, V., Özer, E., Akalın, A.S. (2018). *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda probiyotiklerin rolü. GIDA (2018) 43 (6): 943-956 doi: 10.15237/gida.GD18062

Akdeniz, V., Özer, E., Akalın, A.S. (2018). Role of probiotics in *helicobacter pylori* infection. GIDA (2018) 43 (6): 943-956 doi: 10.15237/gida.GD18062

### **ÖZ**

Dünya Sağlık Örgütü tarafından kanserojen grupta sınıflandırılan *Helicobacter pylori* enfeksiyonu yüksek tekrarlanma sıklığı ile hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. *H. pylori*'nin mide mukozasında kolonize olarak kronik gastritin ana nedenini oluşturduğu bilinmektedir. Mide mikrobiyotası *H. pylori*'nin sebep olduğu hastalıkların oluşmasında ve gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Beslenme düzenindeki değişimlerle gastrik mukozadaki *H. pylori* yoğunluğunda azalma sağlanması, *H. pylori* ile ilişkili peptik ülser, kronik gastrit, mide adenokarsinoması, mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve duodenal ülser hastalığı gibi hastalıkların ortaya çıkma riskini azaltmaya yardımcı olacaktır. *H. pylori* enfeksiyonunda antibiyotik tedavisi uygulanmakta, fakat bu süreçte antibiyotik direnci ve antibiyotik tedavisinin yan etkileri görülebilmektedir. Yapılan çalışmalar bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etkiye sahip olan probiyotiklerin; *H. pylori* enfeksiyonu tedavisinde eradikasyon oranını arttırdığını, hasta klinik belirtilerini iyileştirdiğini ve tedaviye bağlı antibiyotik ile ilişkili yan etkileri azaltarak hasta uyumunu arttırdığını belirtmektedir.

**Anahtar kelimeler:** *Helicobacter pylori*, probiyotik, antibiyotik tedavisi

## **ROLE OF PROBIOTICS IN *Helicobacter pylori* INFECTION**

### **ABSTRACT**

*Helicobacter pylori* infection which is recognized as carcinogen by WHO is a major public health problem in both developing and developed countries with high prevalence. It is well known that *H. pylori* causes mainly to chronic gastritis colonising in the gastric mucosa. Gastric microbiota is important in the occurrence and development of diseases caused by *H. pylori*. Nutritional modification providing a reduction in the population of *H. pylori* at the gastric mucosa will help to decrease the risk of *H. pylori*-associated diseases including peptic ulcer, chronic gastritis, gastric adenocarcinoma, mucosa associated lymphoid tissue lymphoma and duodenal ulcer disease. Antibiotic therapy is applied in this infection, but meanwhile it's side effects and antibiotic resistance be seen. Studies indicate that probiotics which have positive effects on intestinal microbiota increase eradication rates of *H. pylori*, improve patient clinical symptoms and improve patient compliance by reducing side effects associated with antibiotic treatment.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, probiotic, antibiotic treatment

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

vildan.akdeniz@ege.edu.tr

© (+90) 232 311 27 33/ 4471,

☎ (+90) 232 342 5713

## GİRİŞ

*H. pylori*; her yerde bulunabilen, mide mukozasında yaşayan, spiral şekilli, Gram negatif, kamçılı bir bakteri olup çeşitli gastrointestinal problemlerde önemli rolü olan dünya çapında nüfusun %50'sinden fazlasını, gelişmekte olan ülkelerde ise nüfusun %70-90'ını enfekte edebilen bir patojendir (Horie vd., 2004; Khalil vd., 2015; Lü vd., 2016; Çekin vd., 2017). Asidik mide ortamını nötralize ederek mide epiteline yapışmayı ve kolonizasyonunu sağlamakta ve amonyak üreten yüzey üreaz enzimi sebebiyle peptik ülser hastalığı, kronik gastrit, mide adenokarsinoması, mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve duodenal ülser hastalığından sorumlu tutulmaktadır. Bu hastalıkların tedavi edilebilmesi için *H. pylori*'nin yok edilmesi (eradikasyonu) gerekmektedir (Lionetti vd., 2010; Sachdeva vd., 2014; Hu vd., 2017; Wang vd., 2017a).

*H. pylori* enfeksiyonu ortadan kaldırılması zor olan ve tedavisinde 30 yılı aşkın deneyime rağmen, başarı oranı düşük, ideal tedavi rejimi henüz belirlenememiş ve tedavisinin yan etkileri olan bir hastalıktır. Uygulanan tedavilerin başarısız olma sebepleri antibiyotik direnci, artmış bakteri virülansı (bakterinin hastalık oluşturma derecesindeki artış), istenmeyen ilaç reaksiyonları, çeşitli farmakokinetik ve farmakodinamik faktörleri içermektedir. *H. pylori* eradikasyon oranını arttırmak ve tedavinin yan etkilerini azaltmak için yeni terapötik tedavilere veya yardımcı tedavilere ihtiyaç duyulmakta ve probiyotik kullanımı gibi *H. pylori* eradikasyonunu arttırabilecek etkenlere karşı artan bir ilgi bulunmaktadır (Boltin ve Consultant, 2016; Alvi vd., 2017; Wang vd., 2017a).

Probiyotikler, bağırsak enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde yararlı mikroorganizmalar olarak kabul edilmektedir. Bağırsakların uygun bir probiyotik suş ile kolonizasyonu; gastrointestinal sistemde normal, sağlıklı ve dengeli bir mikrobiyotayı desteklemekte ve bağırsıklık sistemini düzenleyici bir etki göstermektedir (Bortoli vd., 2007; Alvi vd., 2017).

Kontrollü klinik çalışmalar probiyotiklerin; iltihabi bağırsak hastalığı, huzursuz bağırsak

sendromu, akut gastroenterit, antibiyotik ile ilişkili diyare, gezgin ishali, ülseratif kolit, kronik kabızlık, *H. pylori* kaynaklı kronik gastrit ve bağırsak virüsü enfeksiyonları gibi patolojik durumlarda etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır (Hamilton-Miller, 2003; Bortoli vd., 2007; Domingo, 2017).

Bu derlemede, *H. pylori* kaynaklı enfeksiyonları iyileştirmede probiyotiklerin rolü ve potansiyeli ortaya konarak klinik çalışma bulgularıyla desteklenmiştir. Bu kapsamda probiyotiklerin *H. pylori* eradikasyonu üzerine etkisi ile etki mekanizması ve antibiyotik tedavisinin yan etkilerine karşı probiyotiklerin rolü incelenmiştir.

## *H. pylori* ENFEKSİYONU VE KULLANILAN TEDAVİ REJİMLERİ

*H. pylori* enfeksiyonu insanlarda sık görülen kronik bakteriyel bir enfeksiyondur ve *H. pylori* Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1. sınıf kanserojen olarak kabul edilmektedir (IARC, 2012). *H. pylori*, üreaz enzimi sayesinde midedeki üreyi karbondioksit ve amonyağa parçalayarak kendisinin hayatta kalabileceği bir ortam oluşturmaktadır. *H. pylori*'nin, epitel hücrelere immünolojik protein sağlayarak mide epitelinin kaplayan mukus tabakasına açtığı tüneller hem bağırsıklık hem de inflamatuvar tepkileri aktive etmektedir (Fahey vd., 2015). Midedeki *H. pylori* kolonizasyonunun yoğunluğu bakteri ile ilişkili hastalıkların oluşmasında önemlidir (Sakamoto vd., 2001; Pan vd., 2016). Organizmanın gastroduodenal mukozadaki kolonizasyonunun ana faktörünün *H. pylori* üreaz enzimi olduğu düşünülmektedir (Horie vd., 2004).

*H. pylori* enfeksiyonunda en yaygın olarak kullanılan tedavide; hastanın 7 gün boyunca günde iki kez iki antibiyotik (amoksisilin, klaritromisin ve metronidazolden ikisi) ve bir proton pompa inhibitörünün (omeprazol, lansoprazol ve pantoprazolden birisi) kullanıldığı standart üçlü tedavi rejimidir ve bu tedavinin eradikasyon başarısızlık oranının %30'un üzerinde olduğu bildirilmektedir (Bortoli vd., 2007; Haghdoost vd., 2017). Tedavinin başarısız olmasının nedenleri net olarak belirlenemese de artan antibiyotik direncinin ve hasta uyumsuzluğunun ana faktörler olduğu düşünülmektedir. İshal,

bulantı ve ağızda metalik tat gibi yan etkilerin ortaya çıkması hastanın öngörülen antibiyotik tedavisini kesmesine ve böylece bakteriyel dirence yol açmakta ve antibiyotiklere karşı direncin artmasıyla birlikte eradikasyon hızı zamanla azalmaktadır (Bortoli vd., 2007; Çekin vd., 2017; Oh vd., 2016; Haghdoost vd., 2017; Zhu ve Liu, 2017). Ayrıca antibiyotiğe dirençli suşların hızlı gelişimi kısa sürede bu tedavilerin başarı oranını düşürmektedir (Felley ve Michetti, 2003; Alvi vd., 2017).

Standart üçlü tedavinin başarısının düşük olması sebebiyle, *H. pylori* eradikasyon oranını arttırmak için ardışık tedavi, dördütlü tedavi, hibrid tedavi, bizmut bazlı dördütlü tedavi gibi alternatif tedavi rejimleri daha uzun süre uygulanmış, böylece eradikasyon oranlarının %75-90'a çıkması sağlanmıştır (Çekin vd., 2017). Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda artan antibiyotik direncinin yanı sıra uzun süreli tedavinin istenmeyen yan etkilerinin görülme sıklığının artması sebebiyle alternatif tedavi rejimlerinde de eradikasyon oranının azaldığı saptanmıştır (Khalil vd., 2015; Cindoğlu vd., 2017; Çekin vd., 2017). Bu bağlamda yaygın olarak önerilen birçok tedavinin etkinliği kabul edilemeyecek kadar düşük seviyelere gerilemiştir ve alternatif tedavilere eğilimler söz konusudur (Dang vd., 2014). Birçok çalışma probiyotiklerin, patojen kolonizasyonuna müdahale ederek ve bakteriyosin, kısa zincirli yağ asitleri, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi antimikrobiyal moleküllerin üretimini sağlayarak, doğrudan *H. pylori* ile rekabet edebileceğine dair kanıt sağlamış ve ayrıca probiyotiklerin *H. pylori*'yi *in vitro* ve *in vivo* koşullarda inhibe ettiği ve eradikasyon terapisinde rol oynadığını göstermiştir (Canducci vd., 2000; Bortoli vd., 2007; Dore vd., 2015; Grgov vd., 2016; Alvi vd., 2017; Haghdoost vd., 2017; Lee vd., 2017).

## **PROBİYOTİKLERİN *H. pylori* ÜZERİNE ETKİSİ**

### **Probiyotikler**

Bağırsak mikrobiyotası 400'den fazla bakteri türünün bulunduğu tahmin edilen, insan sağlığı üzerindeki etkisinin giderek daha iyi anlaşıldığı çok çeşitli ve nispeten istikrarlı aynı zamanda karmaşık ve dinamik bir mikrobiyal ekosistemdir

(Domingo, 2017). İntestinal ve mukozal mikrobiyotanın iyileştirilmesi, bağırsakların gastrointestinal bölgede bulunan patojen bakterilere karşı koruma sağlayan bariyer fonksiyonu için temel oluşturmaktadır. Beslenme biçimimiz, bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve işlevselliği üzerinde önemli bir etki göstererek sağlık durumumuzu etkiler (Akalin ve Ünal, 2005; Ceapa vd., 2013). Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre probiyotikler, yeterli miktarlarda alındığında vücuda yararlı olduğu kanıtlanmış canlı mikroorganizmalardır. Bağırsak sisteminde mikrobiyal dengenin korunmasını ve yenilenmesini sağlayarak konakçının bağırsak sağlığının ve bağışıklık sisteminin güçlenmesine yardımcı olmaktadır (Akalin ve Erisir, 2008; Pan vd., 2016; Haghdoost vd., 2017; Mantegazza vd., 2018).

Probiyotiklerin temel özellikleri ise; bakteri ve maya gibi mikrobiyal organizmalar olmaları, üretim ve depolama sırasında istikrarlı bir şekilde canlı ve değişmeden kalabilmeleri, mide, safra ve pankreas enzimlerine karşı dayanıklı olmaları, kişinin bağırsak sistemine girerek doğal ve sistemik bağışıklık sistemini etkilemeleri ve tüketildiği zaman konağa fonksiyonel veya klinik bir yarar sağlamalarıdır (FAO/WHO, 2001). Mevcut verilere göre piyasada bilinen probiyotiklerin gıdalarda kullanımının güvenli olduğu yönünde uzun bir geçmişe sahip olduğu, yeni suşların ve özellikle genetik olarak modifiye edilenlerin güvenlik testlerinin titizlikle yapılması gerektiği bildirilmektedir (Gueimonde vd., 2004).

Bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu etkiye sahip olan probiyotiklerin; protein ve vitamin metabolizmasını iyileştirmesi, antimikrobiyal etki göstermesi, ishal ve kabızlığı önlemesi, laktoz kullanımını iyileştirmesi, serum kolesterol düzeyini azaltması ve antikarsinogenik aktivite göstermesi gibi sağlık üzerine birçok yararı bulunmaktadır (Akalin ve Ünal, 2005). Bu yararların yanısıra probiyotikler, bağırsak metabolizmasına etki ederek konağın mukozal ve sistemik immün cevabını tetiklemekte, mikrobiyal ve besinsel dengeyi sağlamakta ve bağırsak mikrobiyotasını düzenlemektedir. Yapılan araştırmalar probiyotiklerin gastrik epitel

hücrelerin *H. pylori* kolonizasyonunu modüle ettiğini göstermektedir. Probiyotikler tarafından üretilen laktik asit mide pH'sını düşürerek *H. pylori* üreazını, bakteriyosin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üreterek *H. pylori*'yi inhibe etmektedir. Probiyotik bakterilerin rekabeti sonucu *H. pylori*'nin mide epitel hücrelerine yapışması önlenmekte, münin üretimindeki artışa bağlı olarak bağırsak bariyer fonksiyonu gelişmekte ve immünolojik yanıtın modülasyonu sağlanarak *H. pylori*'nin eradikasyonuna katkı sağlanmaktadır. Bununla birlikte probiyotikler antibiyotik tedavisinin yan etkilerini azaltmakta, hasta uyumunu arttırmakta ve *H. pylori* ile yeniden enfeksiyon riskini azaltmaktadır (Yaşar vd., 2010, Patel vd., 2014; Oh vd., 2016; Alvi vd., 2017; Lee vd., 2017; Mathipa ve Thantsha, 2017; Wen vd., 2017).

#### **Probiyotiklerin *H. pylori* üzerindeki etki mekanizması**

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasını ve bazı sitokin profillerini değiştiren biyolojik ajanlar olduklarından gastrointestinal hastalıklarda iyileşme sağlamaktadırlar (Domingo, 2017). Probiyotiklerin etki mekanizması bağırsak mikrobiyotasının içeriğinin değiştirilmesi, bağırsak bariyerinin bütünlüğünün korunması, akut translokasyonun önlenmesi ve bağışıklık sistemi tarafından lokal immün yanıtın modülasyonu yoluyla gerçekleştirilmektedir (Şekil 1).

#### ***Patojenlerle etkileşim***

*H. pylori* muhtemelen salgı bileşenleri aracılığıyla veya yapışmanın bir sonucu olarak mide mukozasında epitel hücrelerle etkileşir. Epitel hücrelere yapışması, *H. pylori* ile ilişkili hastalıkların sonucunun belirlenmesinde önemlidir (Khalil vd., 2015). Probiyotik bakterilerin bağırsak bölgesine kolonize olmak için diğer mikroorganizmalarla rekabet etmesi, probiyotiklerin rekabete açık bağlanma mekanizmaları ve münin üretimindeki artış sayesinde *H. pylori*'nin inhibisyonu ve probiyotiklerin bağırsak duvarının iç kısmına yapışması sağlanmaktadır (Akalın ve Ünal, 2005; Lee vd., 2017). *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus johnsonii* gibi asit ortamına oldukça dirençli probiyotik bakterilerin

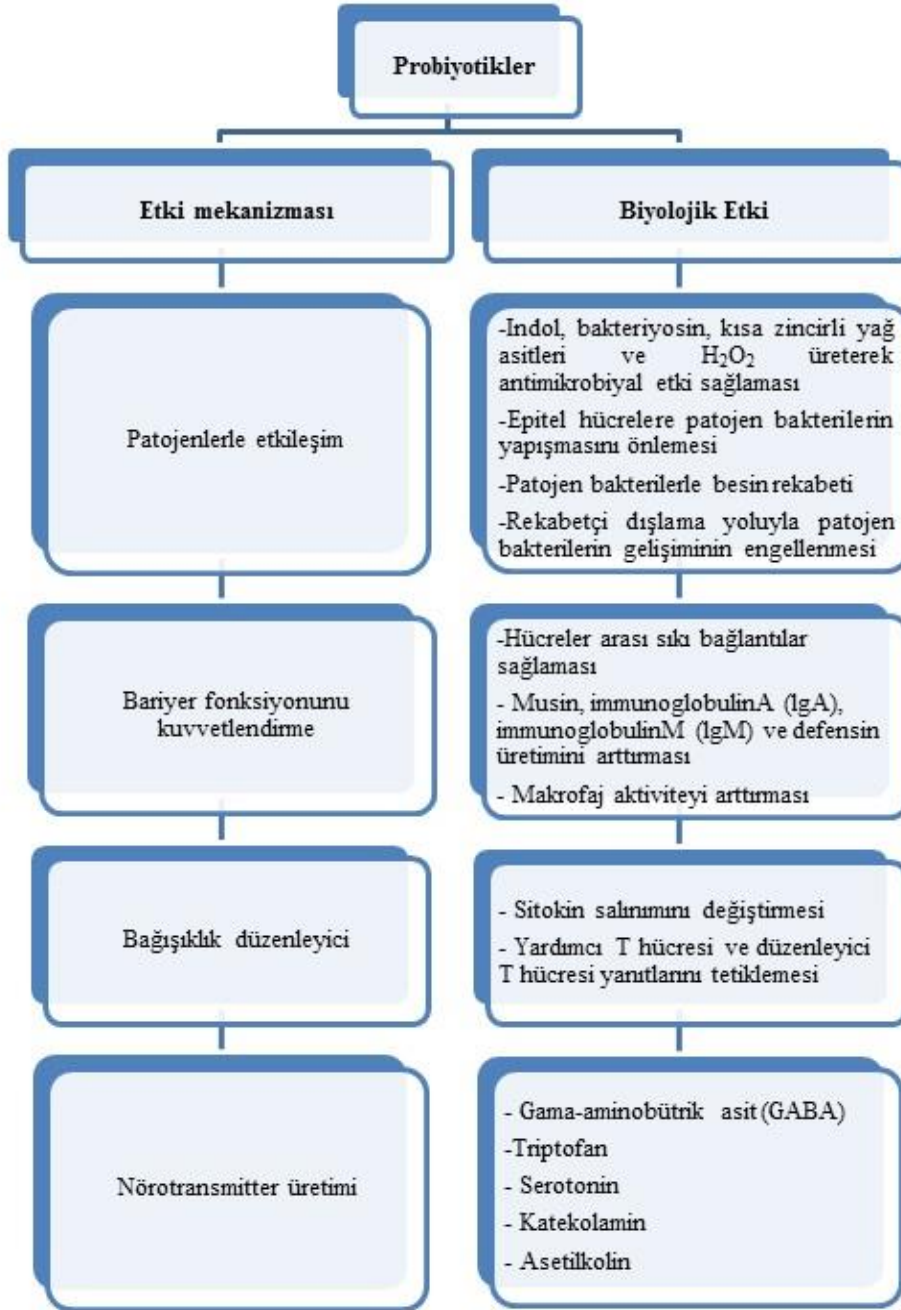
yapışma bölgeleri için *H. pylori* ile rekabet ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Cats vd., 2003; Felley ve Michetti, 2003; Pantoflickova vd., 2003). Aynı zamanda probiyotikler, bağırsak duvarında toksik etkilerin sebep olduğu sızıntı ve yarıkları doldurarak antijenlerin zarar verici etkilerini azaltmaktadır (Akalın ve Ünal, 2005). Bağırsakta probiyotik bakteriler tarafından üretilen kısa zincirli yağ asitleri ve bakteriyosinler *H. pylori*'nin inhibisyonunda rol oynamaktadır. Probiyotik bakterilerin karbonhidrat metabolizmasının sonucunda formik asit, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve laktik asit gibi yağ asitleri üretilerek pH'nın düşmesi sağlanmakta ve yüksek miktarda laktik asit üreten probiyotik bakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri de üreaz enzimini inhibe etmektedir (Vitor ve Vale, 2011; Lee vd., 2017; Wen vd., 2017).

#### ***Bariyer fonksiyonunu kuvvetlendirme ve bağışıklık düzenleyici etki***

Probiyotikler, bağırsak mukozası ile ilişkili lenf dokusu için olgunlaşma sinyalleri sağlayarak ve doğal bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan *H. pylori* tarafından tetiklenen sitokinlerin bağırsakta oluşmasını dengeleyerek bağırsak bariyerinin olgunlaşmasını sağlamakta, bağırsak mikrobiyal çevresinin ve ince bağırsağın bariyerinin geçirgenliğini dengede tutmaktadırlar. Probiyotiklerin bu etkisi, bağırsak mukozasında İmmunoglobulin (Ig) A ve M salgısını arttırmasına bağlı olarak immünolojik bariyeri güçlendirilmesiyle açıklanmaktadır (Vitor ve Vale, 2011; Özdemir, 2015; Boltin ve Consultant, 2016).

#### ***Nörotransmitter üretimi***

Probiyotikler; makrofaj aktiviteyi arttırarak, yardımcı T hücrelerinin (Th1/Th2) dengesini sağlayarak ve düzenleyici T hücrelerinin farklılaşmasını başlatarak immün bozuklukların baskılanmasında rol oynamakta ve nörotransmitter üretimini arttırmaktadır (Vitor ve Vale, 2011; Özdemir, 2015).



Şekil 1. Probiyotiklerin Etki Mekanizması (Mantegazza vd., 2018)

Seçilen probiyotik şus ve uygulama dozu bahsedilen tüm bu etkiler üzerinde etkilidir (Patel vd., 2014; Mathipa ve Thantsha, 2017; Mantegazza vd. 2018). En yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerine ait bakteriler ile

mayalardan *Saccharomyces boulardii*'dir (Vitor ve Vale, 2011; Ahmad vd., 2013; Dang vd., 2014; Emara vd., 2016). Sonuç olarak; probiyotikler laktik asit salgılayarak *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkili hipoklorhidriyi (mide asitliği eksikliğini) hafifletmekte, lümen pH'sını azaltarak *H. pylori*

ürezini inhibe etmekte, bağışıklık reaksiyonlarını hafifleterek bağırsak mukozasının zarar görmesine neden olan antijenlere karşı koruma sağlayan Ig A antikorunu üretmek için mukozal B hücrelerinin klonal genişlemesini uyarmakta ve mide savunma mekanizmasını düzeltmeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca laktik asit doğrudan bakteriyosidal bir etkiye sahiptir (Yaşar vd., 2010; Boltin ve Consultant, 2016). *Lactobacillus acidophilus* gibi bazı probiyotik bakteri suşları pH düzeyi ile laktik asit sekresyonundan bağımsız bir mekanizmayla *in vitro* ortamda *H. pylori* üreaz aktivitesini inhibe etmekte (Coconnier vd., 1998; Canducci vd., 2000) ve bazı *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşları bakteriyosin ve organik asit üreterek *H. pylori*'yi inhibe etmektedir (Khalil vd., 2015; Mathipa ve Thantsha, 2017).

### Probiyotiklerin *H. pylori* eradikasyonu üzerine etkisi

#### Tek başına probiyotik tedavisinin *H. pylori* eradikasyonu üzerine etkisi

*H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde potansiyel ajanlar olarak kabul edilen probiyotiklerin tek başına kullanıldığında *H. pylori* enfeksiyonunun yoğunluğunu azalttığı saptanmıştır (Cats vd., 2003; Pantoflickova vd., 2003; Emara vd., 2016; Namkin vd., 2016). Gastrik mukozada artan *H. pylori* yoğunluğu daha şiddetli gastrite, artan peptik ülserlere ve muhtemelen atrofik gastrit ve gastrik

adenokarsinoma sebep olacağından, yoğunluğun azalması bu hastalıkların ortaya çıkma olasılığını düşürmektedir. *H. pylori* enfeksiyonu gastrik adenokarsinom ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfomasının görülme riskini 3-6 kat arttırmaktadır (Fahey vd., 2015; Emara vd., 2016).

Çizelge 1'de belirtilen çalışmalarda *H. pylori* pozitif hastalara çeşitli probiyotikler ile tedavi uygulanarak probiyotiklerin *H. pylori* yoğunluğu üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmalarda probiyotikler farklı formlarda, farklı zaman aralıklarında ve farklı dozlarda uygulandığından karşılaştırma yapmak güç olsa da elde edilen bulgular *H. pylori* tedavisinde tek başına probiyotik kullanımının *H. pylori* yoğunluğunda azalma sağladığını bildirmektedir (Cats vd., 2003; Pantoflickova vd., 2003; Boltin ve Consultant, 2016; Namkin vd., 2016). Ayrıca Losurdo vd. (2018) tek başına probiyotik tedavisinin, inceledikleri vakalarının %14'ünde *H. pylori* eradikasyonunu sağladığını saptamışlardır. Bazı probiyotik suşlarının *H. pylori* gelişimini inhibe ettiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur ve probiyotik bakteriler tarafından salgılanan otolisinlerin ve laktat gibi fermentasyon ürünlerinin üretiminin *H. pylori* gelişimini inhibe ettiği düşünülmektedir (Apostolidis vd., 2011; Schulz vd., 2015; Lee vd., 2017).

Çizelge 1. *H. pylori* tedavisinde probiyotiklerin tek başına kullanıldığı klinik çalışmalar

Hasta Grubu (Tedavi/Kontrol)	Çalışma Metodu	Hedef	Sonuçlar	Referans
<i>H. pylori</i> pozitif olan 31 hasta	8 haftalık 2 grup; 1. grup: Günde 2 kez 90g yoğurt 2. grup: Günde 2 kez 90g yoğurt + probiyotik ( <i>Lactobacillus gasseri</i> OGLL2716)	Probiyotik takviyesinin <i>H. pylori</i> 'nin eradikasyon oranı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	Tedavinin 2. aşamasında probiyotik takviyesinin <i>H. pylori</i> kolonizasyon oranını önemli oranda düşürdüğü ve tedavi kaynaklı mide rahatsızlıklarının daha az görüldüğü belirlenmiştir.	Sakamoto vd., 2001
<i>H. pylori</i> pozitif olan 14 hasta	3 haftalık 2 grup; 1.grup: Günde 3 kez <i>L. casei</i> içeren fermente süt ile tedavi 2.grup: Kontrol grubu	<i>L. casei</i> 'nin üreaz aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>L. casei</i> takviyesi uygulanan 14 hastadan 9'unda (%64) kontrol grubundaki 6 kişiden 2'sinde (%33) üreaz aktivitesinin azaldığı belirlenerek <i>L. casei</i> 'nin <i>in vivo</i> olarak <i>H. pylori</i> üzerindeki baskılayıcı etkisine yönelik bir eğilim saptanmıştır.	Cats vd., 2003



Çizelge 1. Devam

Hasta Grubu (Tedavi/Kontrol)	Çalışma Metodu	Hedef	Sonuçlar	Referans
<i>H.pylori</i> pozitif olan 50 hasta (25/25)	16 haftalık 2 grup; 1.grup: İlk 3 hafta günde 2 kez, 13 hafta günde 1 kez <i>L. johnsonii</i> içeren fermente süt ile tedavi 2.grup: <i>L. johnsonii</i> içermeyen plasebo fermente süt ile tedavi	Antibiyotik alımı olmaksızın <i>L. johnsonii</i> içeren fermente sütün <i>H.pylori</i> yoğunluğu üzerine etkisinin belirlenmesi	Antrumda <i>H. pylori</i> yoğunluğu, 3 haftalık <i>L. johnsonii</i> içeren fermente süt alımından sonra deneklerin %75'inde azalırken, plasebo grubundaki azalma %38'dir. 16 haftalık <i>L. johnsonii</i> içeren fermente süt alımından sonra da <i>H. pylori</i> yoğunluğunda azalma ve antral gastritin şiddeti ve etkinliğinde azalma saptanmıştır.	Pantoflickova vd., 2003
<i>H.pylori</i> pozitif olan 28 çocuk (9-12 yaşları arasında) (14/14)	1 aylık 2 grup; 1.grup: Günde 1 kez 250mg <i>Saccharomyces boulardii</i> içeren probiyotik kapsülü 2.grup: Günde 1 kez plasebo	<i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin <i>H. pylori</i> 'nin kolonizasyonu üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin insan gastrointestinal sistemindeki <i>H. pylori</i> kolonizasyonunu azaltmada olumlu bir etkiye sahip olduğu ancak tek başına tedavi olarak kullanıldığında eradikasyon üzerine önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır.	Namkin vd., 2016
<i>H.pylori</i> pozitif olan 50 hasta (25/25)	4 haftalık 2 grup; 1.grup: Günde 2 kez <i>L.acidophilus</i> , <i>L.rhamnosus</i> ve <i>L. sporogenes</i> içeren probiyotik kapsülü 2.grup: Günde 2 kez probiyotik (ksilooligosakkarit ve inülin) içeren plasebo	Probiyotiklerin <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranında 2 grup arasında önemli bir fark bulunamamakla birlikte bu sonucun plasebonun içerdiği probiyotiklerin kontrol grubunun eradikasyon oranını arttırmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca probiyotiklerin bulunduğu 1. grupta yan etkilerin görülme sıklığı daha düşük bulunmuştur.	Lee vd., 2017

**Probiyotik ile takviye edilen tedavi rejimlerinin *H. pylori* eradikasyonu üzerine etkisi**

*H. pylori* enfeksiyonunda antibiyotik bazlı tedaviler başlangıçta etkili olmasına rağmen, amoksisilin, klaritromisin, metronidazol gibi yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı *H. pylori*'nin antibiyotik dirençli kolonizasyon suşlarının hızlı gelişimi kısa sürede bu tedavilerin başarı oranını düşürmekte ve antibiyotik tedavisi, antibiyotik direnci potansiyeli olan *H. pylori*'yi her zaman inhibe edememektedir. *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik direncinin üstesinden gelmek için antimikrobiyal stratejiler gereklidir ve bu bağlamda probiyotiklerin kullanılması umut vericidir (Lionetti vd., 2010; Apostolidis vd., 2011;

Lü vd., 2016; McFarland vd., 2016; Haghdoost vd., 2017; Mathipa ve Thantsha, 2017).

Çizelge 2'de belirtilen çalışmalarda *H. pylori* pozitif hastaların tedavi rejimleri probiyotikler ile takviye edilerek probiyotiklerin hem *H. pylori*'nin eradikasyon oranlarına hem de tedavinin yan etkilerine etkisi incelenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda probiyotikler ile takviye edilen tedavilerin (standart üçlü, ardışık tedavi vb.) *H. pylori*'nin eradikasyon oranlarını iyileştirdiği (Emara vd., 2016; McFarland vd., 2016; Feng vd., 2017; Haghdoost vd., 2017; Zhu ve Liu, 2017) ve tedavinin sebep olduğu ishal, bulantı, kusma, tat bozukluğu, metalik tat, ağız iltihabı, kabızlık, karın ağrısı ve şişliği gibi yan etkileri azaltarak hasta uyumunu arttırdığı saptanmıştır (Yaşar vd.,

2010; Emara vd., 2016; Feng vd., 2017; Haghdoost vd., 2017). Probiyotik takviyesi hem tedavi sırasında hem de *H. pylori*'nin yok edilmesinden sonra gözlemlenen bağırsak

mikrobiyota bileşiminin dengesizliğini azaltarak komplikasyon gelişmesini engellemekte ve hasta uyumunda önemli bir rol oynamaktadır (Boltin ve Consultant, 2016; Lü vd., 2016).

Çizelge 2. *H.pylori* eradikasyon tedavisinde probiyotik ile takviye edilen tedavi rejimlerinin uygulandığı klinik çalışmalar

Hasta Grubu (Tedavi /Kontrol)	Çalışma Metodu	Hedef	Sonuçlar	Referans
<i>H.pylori</i> pozitif olan 120 hasta (60/60)	7 günlük 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi + probiyotik ( <i>L.acidophilus</i> ) 2.grup: Standart üçlü tedavi	Probiyotiklerin <i>H. pylori</i> eradikasyon oranı üzerine etkisinin belirlenmesi	Probiyotik ile takviye edilen tedavinin <i>H. pylori</i> eradikasyon oranını önemli ölçüde arttırdığı (%88'e karşı %72) ve antibiyotik tedavisinin karın ağrısı, bulantı, ishal gibi yan etkilerini azalttığı saptanmıştır.	Canducci vd., 2000
<i>H.pylori</i> pozitif olan 86 çocuk hasta (39/47)	7 günlük 2 grup; 1. grup: Standart üçlü tedavi + probiyotik ( <i>Lactobacillus casei</i> DN-114 001) içeren fermente süt 2. grup: Standart üçlü tedavi	Probiyotik fermente içeceğin <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon oranı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranı probiyotik fermente içeceğin olduğu 1. grupta daha yüksek bulunmuştur ve probiyotik takviyesinin antibiyotik tedavisi dolayısıyla gelişen gastrit rahatsızlığını tedavi edici etkisi olduğu belirlenmiştir.	Sykora vd., 2005
<i>H.pylori</i> pozitif olan 206 hasta (105/101)	8 haftalık 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi + probiyotik + sığır laktoferrin (bLf) 2.grup: Standart üçlü tedavi	Probiyotik + bLf'nin <i>H. pylori</i> eradikasyon hızı ve yan etkiler üzerine etkisinin belirlenmesi	Üçlü tedavi + bLf+Pb grubunun <i>H.pylori</i> eradikasyon oranı daha yüksek bulunmuştur ve bu gruptaki yan etkiler hem tedavi sırasında hem de sonrasında daha az görülmüştür.	Bortoli vd., 2007
<i>H.pylori</i> pozitif olan 76 hasta (38/38)	14 günlük 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi+ <i>Bifidobacterium</i> içeren probiyotik yoğurt 2.grup: Standart üçlü tedavi+Plasebo	Probiyotik yoğurdun <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranı probiyotik yoğurdun olduğu 1. grupta daha yüksek saptanmış (%66,2'ye karşı %53) ve tedavinin yan etkilerinden ağız iltihabı ve kabızlık sıklığında önemli ölçüde azalma belirlenmiştir.	Yaşar vd., 2010

Çizelge 2. Devam

Hasta Grubu (Tedavi / Kontrol)	Çalışma Metodu	Hedef	Sonuçlar	Referans
<i>H.pylori</i> pozitif olan 66 çocuk hasta (33/33)	4 haftalık 2 grup; 1. grup: Standart üçlü tedavi + Probiyotik ( <i>L.acidophilus</i> , <i>L.casei</i> , <i>L.rhamnosus</i> , <i>B. breve</i> , <i>L.bulgaricus</i> , <i>B.infantis</i> , ve <i>S.thermophilus</i> ) 2.grup: Standart üçlü tedavi + Plasebo	Probiyotiklerin <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon oranı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranı probiyotiklerin olduğu 1. grupta (%90,9) 2. gruba (%69,7) kıyasla önemli derecede ( $p < 0.05$ ) yüksek bulunmuştur. Ayrıca bulantı, kusma ve ishal yan etkilerinin azaldığı belirlenmiştir.	Ahmad vd., 2013
<i>H.pylori</i> pozitif olan 167 hasta (90/77)	4 haftalık 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi+ probiyotik ( <i>L.Rosell-52</i> , <i>L.Rosell-11</i> , <i>B.Rosell-1755</i> , <i>S.boulardii</i> ) 2.grup: Standart üçlü tedavi	Probiyotiklerin <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	Probiyotik ile takviye edilen tedavinin <i>H. pylori</i> eradikasyon oranını önemli derecede arttırdığı (%93,3'e karşı %81,8) ve antibiyotik tedavisinin yan etkilerini azalttığı belirlenmiştir.	Grgov vd., 2016
<i>H.pylori</i> pozitif olan 6 hasta	2 haftalık 2 grup; 1. grup: Standart üçlü tedavi 2. grup: Standart üçlü tedavi + probiyotik ( <i>Streptococcus faecium</i> + <i>Bacillus subtilis</i> )	Probiyotiklerin <i>H. pylori</i> tedavisinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	Standart üçlü tedavi grubuna kıyasla, standart üçlü tedavi + probiyotik grubunun gastrointestinal semptomların yanında, deri tahrişi, baş ağrısı ve dönmesi, rahatsızlık hissi gibi yan etkileri azalttığı belirlenmiştir.	Oh vd., 2016
<i>H.pylori</i> pozitif 112 hasta	7 ya da 14 günlük 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi+ Probiyotik ( <i>Saccharomyces boulardii</i> kapsülü) 2.grup: Standart üçlü tedavi+Plasebo	Probiyotiklerin <i>H.pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisi	Standart üçlü tedavi + probiyotik grubunda %100 tedavi oranı sağlanmış ve tedavinin yan etkilerinde azalma görülmüştür.	Chotivitayatarakorn vd., 2017
<i>H.pylori</i> pozitif 159 hasta	2 haftalık 3 grup; 1.grup: Ardışık tedavi + Probiyotik ( <i>B. animalis subsp. lactis</i> ) 2.grup: Ardışık tedavi + Plasebo 3. grup: Ardışık tedavi	Probiyotiklerin <i>H. pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	Ardışık tedavi grubuna kıyasla, ardışık tedavi + probiyotik grubunun <i>H. pylori</i> eradikasyon oranı daha yüksektir (%86,8'e karşı %70,8) ve ardışık tedavi + probiyotik grubunda yan etkiler daha az görülmüştür.	Çekin vd., 2017

Çizelge 2. Devam

Hasta Grubu (Tedavi / Kontrol)	Çalışma Metodu	Hedef	Sonuçlar	Referans
<i>H. pylori</i> pozitif olan 176 hasta (88/88)	10 günlük 2 grup; 1.grup: Standart üçlü tedavi + Probiyotik 2.grup: Standart üçlü tedavi + Plasebo	Probiyotiklerin <i>H. pylori</i> 'nin eradikasyon hızı ve tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranı probiyotik takviyeli 1. grupta (%78,4) 2. gruba (%64,8) kıyasla yüksek bulunmuştur. Ayrıca 1. grupta yan etkilerin ve görülme sıklığının önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır.	Haghdoost vd., 2017
<i>H. pylori</i> pozitif olan 50 çocuk hasta (25/25)	4 haftalık 2 grup; 1. grup: Standart üçlü tedavi + Probiyotik ( <i>Lactobacillus reuteri</i> ) 2. grup: Standart üçlü tedavi	Probiyotik takviyesinin <i>H. pylori</i> tedavisinde eradikasyon oranını etkileyip etkilemediğinin belirlenmesi	<i>H. pylori</i> eradikasyon oranı 1. grupta (% 88) 2. gruba (%76) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu gruptaki yan etkiler hem tedavi sırasında hem de sonrasında daha az görülmüştür.	Shahraki vd., 2017
<i>H. pylori</i> pozitif olan 30 hasta (10/10/10)	2 haftalık 2 grup, 4 haftalık 1 grup; 1. grup: İlk 14 gün konkomitant tedavi + <i>Saccharomyces boulardii</i> içeren probiyotik takviyesi 2. grup: İlk 14 gün konkomitant tedavi + 15-28. günler <i>S. boulardii</i> içeren probiyotik takviyesi 3. grup: İlk 14 gün konkomitant tedavi	En etkili <i>H. pylori</i> tedavisinin belirlenmesi, probiyotiklerin tedavinin yan etkileri üzerine etkisinin belirlenmesi	En etkili eradikasyon yöntemi antibiyotik + probiyotik (1-14. günler arası) uygulaması olarak belirlenmiştir.	Wang vd., 2017b

Standart Üçlü Tedavi: Günde 2 kez 1 adet Proton Pompa İnhibitörü (PPI) + 2 adet antibiyotik (Amoksisilin, Klaritromisin, Metronidazol vb.)

Ardışık Tedavi: İlk hafta: Proton Pompa İnhibitörü (PPI) + Amoksisilin;

İkinci hafta: PPI + Klaritromisin+Metronidazol

Konkomitant Tedavi: Günde 2 kez 1 adet Proton Pompa İnhibitörü (PPI) + 3 adet antibiyotik (Amoksisilin, Klaritromisin, Tinidazol vb.)

### Probiyotiklerin *H. pylori* tedavisinin yan etkileri üzerine etkisi

*H. pylori* eradikasyonu zorlu ve uzun süreli bir tedavi süreci gerektirmektedir. Bu nedenle tedavide birçok yan etki görülebilmektedir. Özellikle çocuklar yoğun antibiyotik tedavisinden önemli oranda etkilenebilmektedir. Probiyotik takviyesinin eradikasyon oranını etkilemenin yanında yan etkileri azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Zhu vd., 2014; Aiba vd., 2015; Lü vd., 2016; Oh vd., 2016). Probiyotik takviyesinde

dikkat edilmesi gereken önemli noktalar; zamanlama ve uygulamanın sürekliliğidir. Probiyotüğün türü ve dozu, uygulanan yaş aralıkları ve coğrafi bölgeler sağlanan faydanın oranı üzerinde etkili olabilecek diğer faktörlerdir. Özellikle çocukların, probiyotik ve antibiyotik kombinasyonundan oluşan tedaviye hem tedavinin hızı hem de yan etkilerin azaltılması bakımından olumlu yönde cevap verdikleri görülmüştür (Ahmad vd., 2013; Shahraki vd. 2017).

## SONUÇ

İnsan gastrointestinal mikrobiyotasının etki mekanizması tam olarak anlaşılammakla birlikte insan sağlığında önemli bir rol oynadığı ve bazı gastrointestinal hastalıklardan sorumlu olduğu açıktır. *H. pylori* enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılan standart antibiyotik tedaviler, dirençli suşlar ve yan etkiler sebebiyle hastanın tedaviyi tamamlamadaki isteksizliği gibi nedenlerle zaman geçtikçe daha az etkili olmakta, *H. pylori* eradikasyonunda bu tedavi süreçlerinin sonuçları öngörülemede ve büyük oranlarda başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu sebeple *H. pylori* enfeksiyonunu tedavi etmek için alternatif yaklaşımların belirlenmesi zorunluluğu doğmuştur. Yapılan çalışmalar probiyotiklerin, tek başına kullanıldıklarında *H. pylori* enfeksiyonunun yoğunluğunu azalttığını, antibiyotik tedavisine takviye olarak kullanıldığında hem antibiyotiklerin etkinliğini arttırdığını hem de çeşitli etki mekanizmalarıyla *H. pylori* eradikasyon oranlarını iyileştirdiğini ayrıca tedaviye bağlı yan etkileri, yan etkilerin görülme sıklığını ve hastalığa bağlı birçok klinik semptomu azalttığını göstermektedir. Bu bağlamda *H. pylori* enfeksiyonlarının tedavisinde hem antibiyotik direncinin üstesinden gelmek hem de yan etkiler kaynaklı hasta uyumsuzluğunu azaltmak için probiyotiklerin kullanılması alternatif bir strateji olarak umut vericidir.

## KAYNAKLAR

Ahmad, K., Fatemeh, F., Mehri, N., Maryam, S. (2013). Probiotics for the Treatment of Pediatric *Helicobacter pylori* Infection: A Randomized Double Blind Clinical Trial. *Iran J Pediatr*, 23(1): 79-84.

Aiba, Y., Nakano, Y., Koga, Y., Takahashi, K., Komatsu, Y. (2015). A highly acid-resistant novel strain of *Lactobacillus jensenii* No.1088 has antibacterial activity, including that against *Helicobacter pylori*, and inhibited gastrin-mediated acid production in mice. *Microbiologyopen*, 4:465-474.

Akalın, A.S., Erişir, D. (2008). Effects of Inulin and Oligofructose on the Rheological Characteristics and Probiotic Culture Survival in Low-Fat Probiotic Ice Cream. *J Food Sci*, 73(4): 184-188, doi:10.1111/j.1750-3841.2008.00728.x.

Akalın, A.S., Unal, G. (2005). Probiyotikler ve Allerji. *GIDA*, 30(1): 43-48.

Alvi, S., Javeed, A., Akhtar, B., Sharif, A., Akhtar, M.F. (2017). Probiotics for cure of *Helicobacter pylori* infection: A review. *Int J Food Prop*, 20(10): 2215–2222, doi: 10.1080/10942912.2016.1233432.

Apostolidis, E., Kwon, Y.I., Shinde, R. Ghaedian, R., Shetty, K. (2011). Inhibition of *Helicobacter pylori* by fermented milk and soymilk using select lactic acid bacteria and link to enrichment of lactic acid and phenolic content. *Food Biotechnol*, 25:58–76, doi:10.1080/08905436.2011.547118.

Boltin, D., Consultant, M. (2016). Probiotics in *Helicobacter pylori*-induced peptic ulcer disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 30: 99-109, doi:10.1016/j.bpg.2015.12.003

Bortoli N, Leonardi G, Ciancia E, Merlo, A., Bellini, M., Costa, F., Mumolo, M.G., Ricchiuti, A., Cristiani, F., Santi, S., Rossi, M., Marchi, S. (2007). *Helicobacter pylori* eradication: A randomized prospective study of triple therapy versus triple therapy plus lactoferrin and probiotics. *Am J Gastroenterol*, 102: 951–956, doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01085.x.

Canducci, F., Armuzzi, A., Cremonini, F., Cammarota, G., Bartolozzi, F., Pola, P., Gasbarrini, G., Gasbarrini, A. (2000). A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther*, 47(7): 1625-1629.

Cats, A., Kuipers, E. J., Bosschaert, M. A. R., Pot, R. G. J., Vandenbrouckegrauls, C. M. J. E., Kusters, J. G. (2003). Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containingmilk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Aliment Pharmacol Ther*, 17: 429–435, doi: 10.1046/j.0269-2813.2003.01452.x.

Ceapa, C., Rezaiki, L., Kleerebezem, M., Knol, J., Oozeer, R. (2013). Influence of fermented milk products, prebiotics and probiotics on microbiota composition and health. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 27: 139–155, doi:10.1016/j.bpg.2013.04.004.

- Chotivitayatarakorn, P., Siramolpiwat, S., Chonprasertsuk, S., Kanokwanvimol, A., Anupong Tangaroonsanti, A., Bhanthumkomol, P., Bubpha Pornthisarn, B., Mahachai, V., Vilaichone, R.K. (2017). Effectiveness of 7-Day and 14-Day Moxifloxacin-Dexlansoprazole Based Triple Therapy and Probiotic Supplement for *Helicobacter pylori* Eradication in Thai Patients with Non-Ulcer Dyspepsia: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Study. *Gastroenterology*, 152(5): 250, doi:10.1016/S0016-5085(17)31129-0.
- Cindoğlu, Ç., Uyanıkoğlu, A., Sert, U., Yenice, N. (2017). *Helicobacter pylori* eradikasyonunda ardışık 5+5 (10) günlük ve ardışık 7+7 (14) günlük tedavilerin karşılaştırılması. *Akad Gastroenterol Derg*, 16(3): 91-96, doi:10.17941/agd.351642.
- Coconnier, M.H., Lievin, V., Hemery, E., Servin, A.L. (1998). Antagonistic Activity against *Helicobacter* Infection *In Vitro* and *In Vivo* by the Human *Lactobacillus acidophilus* Strain LB. *Appl Environ Microbiol*, 64(11): 4573–4580.
- Çekin, A.H., Şahintürk, Y., Harmandar, F.A., Uyar, S., Yolcular, B.O., Çekin, Y. (2017). Use of probiotics as an adjuvant to sequential *H. pylori* eradication therapy: impact on eradication rates, treatment resistance, treatment-related side effects, and patient compliance. *Türk J Gastroenterol*, 28: 3-11.
- Dang, Y., Reinhardt, J.D., Zhou, X., Zhang, G. (2014). The Effect of Probiotics Supplementation on *Helicobacter pylori* Eradication Rates and Side Effects during Eradication Therapy: A Meta-Analysis. *Plos One*, 9(11): 111030, doi: 10.1371/journal.pone.0111030.
- Domingo, J.J.S. (2017). Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults. *Gastroenterol Hepatol*, 40(6): 417-429.
- Dore, M.P., Goni, E., Di Mario, F. (2015). Is There a Role for Probiotics in *Helicobacter pylori* Therapy?. *Gastroenterol Clin N Am*, 44: 565–575, doi:10.1016/j.gtc.2015.05.005.
- Emara, M.H., Elhawari, S.A., Yousef, S. Radwan, M.I., Abdel-Aziz, H.R. (2016). Emerging Role of Probiotics in the Management of *Helicobacter pylori* Infection: Histopathologic Perspectives. *Helicobacter*, 21: 3–10, doi: 10.1111/hel.12237.
- Fahey, J.W., Stephenson, K.K., Wallace, A.J. (2015). Dietary amelioration of *Helicobacter* infection. *Nutr Res*, 35: 461-473, doi:10.1016/j.nutres.2015.03.001.
- FAO/WHO (2001). Report on Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. FAO/WHO Report No. 10-1-2001, Cordoba, Argentina.
- Felley, C., Michetti, P. (2003). Probiotics and *Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 17(5): 785–791, doi:10.1016/S1521-6918(03)00070-2.
- Feng, J.R., Wang, F., Qiu, X., McFarland, L.V., Chen, P.F., Zhou, R., Liu, J., Zhao, Q., Li, J. (2017). Efficacy and safety of probiotic-supplemented triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in children: a systematic review and network meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*, 73: 1199–1208, doi:10.1007/s00228-017-2291-6.
- Grgov, S., Tasic, T., Radovanovic-Dinic, B., Benedeto-Stojanov, D. (2016). Can probiotics improve efficiency and safety profile of triple *Helicobacter pylori* eradication therapy? A prospective randomized study. *Vojnosanit Pregl*, 73(11): 1044–1049, doi:10.2298/VSP150415127G.
- Gueimonde, M., Ouwehand, A.C., Salminen, S. (2004). Safety of probiotics. *Scand J Nutr*, 48(1): 42-48, doi:10.1080/11026480410026447.
- Haghdoust, M., Taghizadeh, S., Montazer, M., Poorshahverdi, P., Ramouz, A. and Fakour, S. (2017). Double strain probiotic effect on *Helicobacter pylori* infection treatment: A double-blinded randomized controlled trial. *Caspian J Intern Med*, 8(3): 165-171, doi:10.22088/cjim.8.3.165.
- Hamilton-Miller, J.M.T. (2003). The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection, *Int J Antimicrob Agents*, 22: 360-366, doi:10.1016/S0924-8579(03)00153-5.

- Horie, K., Horie, N., Abdou, A.M., Yang, J.O., Yun, S.S., Chun, H.N., Park, C.K., Kim, M., Hatta, H. (2004). Suppressive effect of functional drinking yogurt containing specific egg yolk immunoglobulin on *Helicobacter pylori* in humans. *J Dairy Sci*, 87(12): 4073-4079.
- Hu, Y., Zhu, Y., Lu, N.H. (2017). Novel and Effective Therapeutic Regimens for *Helicobacter pylori* in an Era of Increasing Antibiotic Resistance. *Front Cell Infect Microbiol*, 7:168, doi: 10.3389/fcimb.2017.00168
- IARC (2012). IARC (International Agency for Research on Cancer) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/> (Erişim tarihi: 01.10.2018).
- Khalil, M.A., El-Sheekh, M.M., El-Adawi, H.I., El-Deeb, N.M., Hussein, M.Z. (2015). Efficacy of microencapsulated lactic acid bacteria in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Res Med Sci*, 20: 950-957, doi: 10.4103/1735-1995.172782.
- Lee, C.Y., Shih, H.C., Yu, M.C., Lee, M.Y., Chang, Y.L., Lai, Y.Y., Lee, Y.C., Kuan, Y.H., Lin, C.C. (2017). Evaluation of the Potential Inhibitory Activity of a Combination of *L. Acidophilus*, *L. Rhamnosus* and *L. Sporogenes* on *Helicobacter pylori*: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Chin J Integr Med*, 23(3): 176-182, doi:10.1007/s11655-016-2531-0.
- Lionetti, E., Indrio, F., Pavone, L., Borrelli, G., Cavallo, L., Francavilla, R. (2010). Role of Probiotics in Pediatric Patients with *Helicobacter pylori* Infection: A Comprehensive Review of the Literature. *Helicobacter*, 15: 79-87.
- Losurdo, G., Cubisino, R., Barone, M. Principi, M., Leandro, G., Ierardi, E., Leo A.D. (2018). Probiotic monotherapy and *Helicobacter pylori* eradication: A systematic review with pooled-data analysis. *World J Gastroenterol*, 7; 24(1): 139-149, doi:10.3748/wjg.v24.i1.139.
- Lü, M., Yu, S., Deng, J., Yan, Q., Yang, C., Xia, G., Zhou, X. (2016). Efficacy of Probiotic Supplementation Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Plos One*, 11(10): e0163743, doi:10.1371/journal.pone.0163743.
- Mantegazza, C., Molinarib, P., D'Auriaa, E., Sonnino, M., Morellib, L., Zuccottia G.V. (2018). Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: A review and new evidence on *Lactobacillus rhamnosus* GG during and after antibiotic treatment. *Pharmacol Res*, 128: 63-72, doi:10.1016/j.phrs.2017.08.001.
- Mathipa, M.G., Thantsha, M.S. (2017). Probiotic engineering: towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens. *Gut Pathog*, 9:28, doi: 10.1186/s13099-017-0178-9.
- McFarland, L.V., Huang, Y., Wang, L., Malferteiner, P. (2016). Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events. *United European Gastroenterol J*, 4(4): 546-561, doi:10.1177/2050640615617358.
- Namkin, K., Zardast, M., Fatemeh Basirinejad, F. (2016). *Saccharomyces boulardii* in *Helicobacter pylori* Eradication in Children: A Randomized Trial From Iran. *Iran J Pediatr*, 26(1): e3768, doi:10.5812/ijp.3768.
- Oh, B., Kim, J.W., Kim, B.S. (2016). Changes in the Functional Potential of the Gut Microbiome Following Probiotic Supplementation during *Helicobacter pylori* Treatment. *Helicobacter*, 21: 493-503, doi:10.1111/hel.12306.
- Özdemir, Ö. (2015). Prebiyotikler, Probiyotikler ve Alerji. [https://www.researchgate.net/profile/Oner\\_Ozdemir/publication/307210567\\_Prebiyotikler\\_Probiyotikler\\_ve\\_Alerji/links/57c4881a08aeb04914357df7/Prebiyotikler-Probiyotikler-ve-Alerji.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Oner_Ozdemir/publication/307210567_Prebiyotikler_Probiyotikler_ve_Alerji/links/57c4881a08aeb04914357df7/Prebiyotikler-Probiyotikler-ve-Alerji.pdf) (Erişim tarihi: 20.04.2018).
- Pan, M., Wan, C., Xie, Q., Huang, R., Tao, X. Shah, N.P., Wei, H. (2016). Changes in gastric microbiota induced by *Helicobacter pylori* infection and preventive effects of *Lactobacillus plantarum* ZDY 2013 against such infection. *J Dairy Sci*, 99(2):970-981, doi:10.3168/jds.2015-10510.

- Pantoflickova, D., Corthesy-Theulaz, I., Dorta, G., Stolte, M., Isler, P., Rochat, F., Enslin, M., Blum, A. L. (2003). *Lactobacillus johnsonii* on *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Aliment Pharmacol Ther*, 18: 805–813, doi:10.1046/j.0269-2813.2003.01675.x.
- Patel, A., Shah, N., Prajapati, J.B. (2014). Clinical application of probiotics in the treatment of *Helicobacter pylori* infection: A brief review. *J Microbiol Immunol Infect*, 47: 429–437, doi:10.1016/j.jmii.2013.03.010.
- Sachdeva, A., Rawat, S., Nagpal, J. (2014). Efficacy of fermented milk and whey proteins in *helicobacter pylori* eradication: A review. *World J Gastroenterol*, 20(3): 724–737, doi:10.3748/wjg.v20.i3.724.
- Sakamoto I., Igarashi M., Kimura K., Takagi A., Miwa T., Koga, Y., (2001). Suppressive effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716(LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J Antimicrob Chemother*, 47: 709–710.
- Schulz, C., Koch, N., Schütte, K. Pieper, D.H., Malferteiner, P. (2015). *H. pylori* and its modulation of gastrointestinal microbiota. *J Dig Dis*, 16: 109–117, doi:10.1111/1751-2980.12233.
- Shahraki, T., Shahraki, M., Shahri, E.S., Mohammadi, M. (2017). No significant impact of *Lactobacillus reuteri* on eradication of *Helicobacter pylori* in children (Double blind randomized clinical trial). *Iran Red Crescent Med J*, 19(3):e42101, doi: 10.5812/ircmj.42101.
- Sykora, J., Valeckova, K., Amlerova, J., Siala, K., Dedek, P., Watkins, S., Varvarovska, J., Stozicky, F., Pazdiora, P., Schwarz, J. (2005). Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic *Lactobacillus casei* DN- 114 001 and the eradication of *H. pylori* in children, A prospective randomized double-blind study. *J Clin Gastroenterol*, 39(8): 692–698.
- Vitor, J.M.B., Vale, F.F. (2011). Alternative therapies for *Helicobacter pylori*: probiotics and phytomedicine. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 63: 153–164, doi: 10.1111/j.1574-695X.2011.00865.x.
- Wang, F., Feng, J., Chen, P. Liu, X., Ma, M., Zhou, R., Chang, Y., Liu, J., Li, J., Zhao, Q. (2017a). Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: Systematic review and network meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 41: 466–475, doi: 10.1016/j.clinre.2017.04.004.
- Wang, Z.J., Chen, X.F., Zhang, Z.X., Li, Y.C., Deng, J., Tu, J., Song, Z.Q., Zou, Q.H. (2017b). Effects of anti-*Helicobacter pylori* concomitant therapy and probiotic supplementation on the throat and gut microbiota in humans. *Microb Pathog*, 109: 156–161, doi:10.1016/j.micpath.2017.05.035.
- Wen, J. Peng, P., Chen, P., Zeng, L., Pan, Q., Weil, W., He1, J. (2017). Probiotics in 14-day triple therapy for Asian pediatric patients with *Helicobacter pylori* infection: a network meta-analysis. *Oncotarget*, 8,(56): 96409–96418.
- Yaşar, B., Abut, E., Kayadibi, H., Toros, B., Sezikli, M., Akkan, Z., Keskin, Ö., Övünç Kurdaş, O. (2010). Probiyotiklerin *Helikobakter pilori* eradikasyon tedavisindeki etkinliği. *Türk J Gastroenterol*, 21(3): 212–217, doi:10.4318/tjg.2010.0090.
- Zhu, X.Y., Liu, F. (2017). Probiotics as an adjuvant treatment in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Dig Dis*, 18: 195–202, doi:10.1111/1751-2980.12466.



**MICROENCAPSULATION OF BERGAMOT PEEL ESSENTIAL OIL WITH GUM ARABIC AND MALTODEXTRIN BLENDS: STABILITY AND RELEASE CHARACTERISTICS OF THE ESSENTIAL OIL COMPOUNDS**

**Kübra Sultan Özdemir<sup>1\*</sup>, Negin Azarabadi<sup>2</sup>, Ayhan Topuz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Konya Food and Agriculture University, Meram, Konya, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Akdeniz University, Antalya, Turkey

Received / Geliş: 05.07.2018; Accepted / Kabul: 06.10.2018; Published online / Online baskı: 30.11.2018

Özdemir, K.S., Azarabadi, N., Topuz, A. (2018). Microencapsulation of bergamot peel essential oil with gum arabic and maltodextrin blends: stability and release characteristics of the essential oil compounds. GIDA (2018) 43 (6): 957-970 doi: 10.15237/gida.GD18093

Özdemir, K.S., Azarabadi, N., Topuz, A. (2018). Bergamut uçucu yağının arap zamkı ve maltodekstrin karışımları kullanılarak mikroenkapsülasyonu: uçucu yağ bileşenlerinin stabilite ve salınım özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2018) 43 (6): 957-970 doi: 10.15237/gida.GD18093

**ABSTRACT**

Bergamot peel essential oil is a high value product which can be used in food, beverage, confectionary, and cosmetic industries. Bergamot essential oil has high volatility, so it could be easily affected by environmental factors so it should be protected with further techniques to increase its shelf-life. The aim of this study was to examine the effect of different wall material compositions on the product yield, encapsulation efficiency, physical and chemical properties of encapsulated oil powders. For this purpose, bergamot essential oil was encapsulated with gum arabic and maltodextrin (DE 12) in varying concentrations (100:0, 0:100, 25:75, 75:25, 40:60, 60:40). Then, physical and chemical (terpenoid composition) characteristics of microcapsules were evaluated. The microcapsules were stored at 25°C for 20 days and the content and stability of main aroma compounds were determined after storage. The encapsulation yield was increased when the maltodextrin ratio was increased however, gum arabic provided greater protection of essential oil composition.

**Keywords:** Bergamot (*Citrus bergamia*), essential oil, aroma, microencapsulation, gum arabic, maltodextrin, spray drying

**BERGAMUT UÇUCU YAĞININ ARAP ZAMKI VE MALTODEKSTRİN KARIŞIMLARI KULLANILARAK MİKROENKAPSÜLASYONU: UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN STABİLİTE VE SALINIM ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**ÖZ**

Bergamut uçucu yağı, gıda, içecek, şekerleme ve kozmetik endüstrilerinde kullanımı olan değeri yüksek olan bir uçucu yağdır. Yüksek uçuculuğu ve çevresel etkilere karşı duyarlılığı nedeniyle, bergamut uçucu yağının raf ömrü boyunca stabilitesini korumak için koruyucu önlemler alınması gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı, farklı taşıyıcı materyallerle kapsüllenmesi, ve bu materyallerin mikrokapsüllerde ürün verimi, kapsülleme verimi, fiziksel ve kimyasal özellikler üzerine etkilerinin incelenmesidir. Bu amaçla, farklı konsantrasyonlarda (100: 0, 0: 100, 25:75, 75:25, 40:60, 60:40) arap zamkı ve maltodekstrin (DE 12) kullanılarak bergamut uçucu yağı kapsüllemiştir. Elde edilen bergamut uçucu yağı mikrokapsüllerinin fiziksel ve kimyasal (terpenoid kompozisyonu) özellikleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, mikrokapsüller 25°C'de 20 gün boyunca depolanmış ve depolamadan sonra önemli uçucu yağ bileşenlerinin içeriği ve stabilitesi belirlenmiştir. Emülsiyonlarda, maltodekstrin oranı arttığında ürün verimi artmıştır ancak arap zamkı, uçucu yağ bileşiminin daha iyi korunmasını sağlamıştır.

**Anahtar kelimeler** Bergamut (*Citrus bergamia*), kabuk uçucu yağı, aroma, kapsülleme, arap zamkı, maltodekstrin, püskürterek kurutma

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ kubra.ozdemir@gidatarim.edu.tr,

☎ (+90) 332 223 5447

☎ (+90) 332 223 5490

## INTRODUCTION

Bergamot (*Citrus Bergamia*) is a citrus plant and it is extensively cultivated as evergreen ornamental tree in Mediterranean Region of Turkey. Peels of ripe bergamot fruit are mainly used in jam and essential oil production. The essential oil is a high value product and it is widely used in food, beverage, confectionary, perfumery and cosmetic for its fragrance and freshness (Navarra et al., 2015). Nowadays it is a valuable essential oil due to its hypolipidemic and hypoglycaemic activity (Mollace et al., 2011), as well as anti-inflammatory (Impellizzeri et al., 2015) and anti-cancer properties (Navarra et al., 2015; Visalli et al., 2014).

Bergamot essential oil has high volatility, so it could be easily affected by environmental factors so it should be protected with further techniques to increase its bioavailability, functional properties and shelf-life. Microencapsulation is the most commonly used technique to protect various types of food ingredients, such as essential oils, flavors, vitamins, pigments etc. from detrimental conditions (i.e. light, heat, moisture). Numerous encapsulation techniques have been developed, but spray drying is the most widespread one for the production of dry flavorings (Jafari et al., 2008; Roos and Karel, 1991). An emulsion composed of water, carrier, and flavor is prepared and then atomized into a stream of hot air. The atomized particles are rapidly dried in a drying chamber. The volatile constituents are trapped inside the droplets during the process (Reineccius, 2004). Encapsulation efficiency could be affected from drying conditions, wall materials and core material properties such as viscosity and concentration (Jafari et al., 2008).

Composition of wall materials and drying operational conditions directly influence the final product. There are lots of wall materials such as; mono and disaccharides, hydrolysed starches (maltodextrins and corn syrup solids), chemically modified (emulsifying) starches, gums and proteins (Jafari et al., 2008; Turchiuli et al., 2005). Among these wall materials, gum arabic (acacia gum) is the most widely used for encapsulating

flavors and oils. It could protect volatiles during spray drying processes (Fuchs et al., 2006). However, it has some problems; such as; high cost and stickiness during spray drying etc. On the contrary, maltodextrin offers many advantages such as low viscosity, low cost, bland flavor, high water solubility (Carneiro et al., 2013; Jafari et al., 2008). But it has low emulsification capacity. So, using maltodextrin in combination with gum arabic could provide an effective microencapsulation by spray drying.

There are several studies on bergamot peel essential oil composition and its antimicrobial properties (Costa et al., 2010; Ghabraie et al., 2016; Ribes et al., 2017; Yang et al., 2018). In an only study, carried out by Penbunditkul et al. (2012), shows that high pressure homogenization process with modified starch were not suitable to prepare bergamot oil emulsion. However, to our knowledge, there is no any other study on bergamot essential oil microencapsulation to achieve high microencapsulation efficiency and stable product. Therefore, the scope of this study included: (a) determining the aroma composition of bergamot essential oil obtained from the fruits grown in the region Antalya-Turkey, (b) investigating the most appropriate gum arabic and maltodextrin composition on the behalf of encapsulation and product efficiency, (c) determining the effect of encapsulation process on the chemical composition of bergamot essential oil, (d) testing physical properties of bergamot essential oil microcapsules and (e) evaluating the aroma stability of obtained microcapsules after 20 days of storage at 25°C.

## MATERIALS AND METHODS

### Wall and core materials

Gum arabic (AG) and Maltodextrin Glucidex with a dextrose equivalent of 12 (MD) were purchased from Sigma-Aldrich (Germany) and Roquette (France), respectively. Bergamot fruits were randomly picked up in fully mature state from the orchard of West Mediterranean Research Institute (Antalya, Turkey), and their flavedo parts were grated by hand grater. The grated bergamot rinds were used for essential oil production.

**Methods**

***Extraction of bergamot essential oil***

The oil was obtained by steam distillation of the grated bergamot rinds. The obtained oils were stored in air-tightly sealed amber vials at -18 °C until analyses and spray drying microencapsulation process.

***Preparation of Emulsions***

Emulsions were prepared according to procedure of (Turchiuli et al., 2005). Emulsions of the bergamot essential oil were prepared in six different AG/MD blends given in Table 1. The

blends of gum arabic (AG) and maltodextrin (MD) were dissolved in distilled water at a concentration of 30g/100mL. The essential oil (5% w/w of the dry matter) and Tween 80 (1% v/w dry matter) were added into the hydrated wall material solutions. Tween 80 added as an emulsifier to increase emulsion stability. The dispersions were magnetically stirred for 5 min to form a coarse pre-emulsion then they were homogenized using an UltraTurrax homogenizer (TA 25, IKA, Janke & Kunkel GmbH&Co, Germany) at 13000 rpm for 4 min.

Table 1 Composition of the emulsions used in the microencapsulation processes

Emulsions	AG:MD ratios	Wall materials (%)	Core: Wall material ratios (w/w)
B1	100:0	30	5:100
B2	0:100	30	5:100
B3	25:75	30	5:100
B4	75:25	30	5:100
B5	40:60	30	5:100
B6	60:40	30	5:100

***Microencapsulation Process by Spray Drying***

The emulsions were spray-dried using a co-current Mini Spray Dryer B-290 (BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland) equipped with a two-fluid nozzle atomizer. Operation conditions were: atomization air flow rate of 500 L/h (5 bar), inlet air temperature of 200°C and outlet air temperature of 110°C. Emulsions were fed to spray dryer at room temperature and at adjusted flow rate between 450-750 mL/ hour to keep constant outlet temperature. The microcapsules obtained from each experiment were collected from collection vessel.

***Characterization of the microcapsules***

***Moisture content and water activity***

Moisture content of the microcapsules was determined by the toluene distillation method (Bertolini et al., 2001). Eight grams of powder were added to 200 mL toluene in 250 ml flask and distilled for 3 hours. The volume of collected water was read directly from graduated side and results were calculated as percentage of microcapsules' weight.

Water activity of the microcapsules was determined by using water activity meter (TESTO650). Two grams of powder was placed into sample holder of the device. After moisture equilibration at room temperature (25°C±1) water activity value was recorded.

***Bulk density***

Bulk density was determined by the tapping method (Beristain et al.,2001). Two grams of the microcapsules weighed into 20 mL graduate cylinder and the cylinder was tapped automatically for 20 times. The final volume of the microcapsules was recorded and bulk density was calculated by dividing the sample weight by the volume.

***Particle size distribution of the microcapsules***

Particle size distribution of the microcapsules was determined by light scattering technique using a particle size analyser (Mastersizer 2000, Malvern, Worcestershire, UK) equipped with a dry powder dispersion unit (Scirocco 2000). Particle size distributions of the microcapsules were

determined as volume-based D(0.5) and D(0.9) values which represent 50 % and 90 % of the total particle population, respectively (Zhang et al., 2012).

#### **Encapsulation efficiency and yield**

In order to determine the encapsulation efficiency, the essential oil was recovered from the microcapsules by steam distillation method (Bousbia et al., 2009). Ten grams of the powder was dissolved in 150 mL distilled water. Then the solution was distilled for 3 hours to carry over the recovered essential oil to the graduated arm. The recovered essential oil volume was recorded and converted to weight by its density. The encapsulation efficiency (EE) and encapsulation (product) yield (EY) were determined as follows:

#### ***M oil encapsulated***

$$EE = \frac{\text{M oil to be encapsulated}}{\text{M oil to be encapsulated}} \times 100\%$$

#### ***M oil to be encapsulated***

$$EY = \frac{M \text{ microcapsules}}{M \text{ total}} \times 100\%$$

where *M oil encapsulated* is the actual amount of encapsulated bergamot essential oil (g), *M oil to be encapsulated* is the theoretical mass of bergamot essential oil to be encapsulated in the emulsions, *M microcapsules* is the mass of final product (g), *M total* is the total mass of initial wall and core materials (g).

#### **Effect of microencapsulation on the chemical composition of bergamot essential oil**

The composition of the bergamot essential oil was determined before and after the spray drying process according to the method used by Verzera et al. (2003). The analyses were performed on a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) (Shimadzu QP 2010) equipped with fused silica capillary column (30 m × 0.25 mm i.d., coated with TRB 5 MS, 0.25 μm film thickness). The column temperature was programmed to rise from 40 to 240 °C at constant rate of 3 °C/min. The carrier gas was He with a linear flow rate of 42.7 cm/s (90 kPa). The essential oil was diluted in hexane (1:25, v/v) and 1 μL of this solution was injected into the injection port maintained at 250 °C. The injection mode was split with the ratio of 1:25; MS scanning was

accomplished at 250 °C, ionizing voltage was 70 eV and mass scan range was 40–400 D, m/z.

Chromatograms were automatically integrated by ignoring small peaks that less than 100.000 mV. Identification was performed by GC–MS analysis, mass spectra for each peak were compared with those in the published index data library FFNSC GC/MS Library ver. 1.2. of the GC–MS equipment. All compounds were confirmed with retention indices of published mass spectra (Verzera et al., 2003).

#### **Stability of major essential oil components in the microcapsules**

Ten grams of microcapsules was weighed into a petri dish and placed in desiccators which has maintained to 33 % RH at 25°C by magnesium chloride. The desiccators were sealed and held in an incubator at 25°C for 20 days. After 20 days of storage, the essential oil in the microcapsules was recovered and its composition was analysed by GC-MS. The main monoterpenes (α-pinene, myrcene, limonene, γ-terpinene, linalool, α-terpineol, geranyl acetate) of the recovered essential oils were detected and quantified.

#### **Statistical Analysis**

The experiment was designed as a randomized plot. The microencapsulation processes were carried out in two replicates and analyses were performed in duplicates. Results were presented as mean values with standard deviations (mean ± SD). Statistical significance ( $P < 0.05$ ) was determined with one-way analysis of variance and differences between mean values were evaluated by using Duncan's multiple range test (ANOVA) using the SAS software (SAS institute, Cary, NC, USA).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Chemical composition of the bergamot essential oil before and after microencapsulation**

Thirty compounds were identified and quantified in the bergamot essential oil soon after distillation (Table 2). The main compounds detected in bergamot essential oil were; limonene (40.92%), linalyl acetate (19.20 %), linalool (17.41 %), γ-terpinene (6.21 %), β-pinene (4.47%), alpha-terpineol (2.13%), myrcene (1.70%), geranyl

acetate (1.08%),  $\alpha$ - pinene (1.04%) and neryl acetate (0.94%). Similar to our results, Sawamura et al. (2006) detected; linalyl acetate (30.1%), limonene (37.2%),  $\gamma$ -terpinene (6.8%), linalool (8.8%), and  $\beta$ -pinene (6.12%) as main components in cold-pressed bergamot oil. The ratio of linalool to linalyl acetate is known as “essence degree” and it is one of the quality parameter of bergamot essential oil. The essence degree was 0.90 in the present study but has been reported to be approximately 0.3 in bergamot oil

produced in Reggio Calabria which is known for its high quality (Sawamura et al., 1999). This could be related with the region, harvest time and distillation technique. Eleni et al. (2009) reported that the degree was 0.38-0.59 in cold pressed oil while it was 2.96 in hydrodistilled oil. Similarly, Bousbia et al. (2009) found the value of this ratio is 0.6 in hydrodistilled Tunisian *Citrus bergamia* peel oil and reported that the oil presented better essence degree than Calabria essential oil.

Table 2 Composition of the bergamot essential oil

Peak #	RI	Compound	Retention time (min)	Q*(%)	Area(%)
1	926	$\alpha$ - Thujene	9.305	98	0.26
2	933	$\alpha$ -Pinene	9.540	98	1.04
3	971	Sabinene	11.305	99	0.76
4	973	$\beta$ -Pinene	11.383	98	4.47
5	992	Myrcene	12.214	98	1.70
6	1003	$\alpha$ - Phenalldrelene	12.725	85	0.05
7	1012	Hexyl acetate	13.037	90	0.04
8	1018	$\alpha$ -terpinene	13.289	96	0.28
9	1023	p- Cymene	13.659	98	0.59
10	1030	Limonene	13.992	96	40.92
11	1039	(Z) - $\beta$ -Ocimene	14.428	92	0.15
12	1049	(E)- $\beta$ -Ocimene	14.901	98	0.43
13	1058	$\gamma$ -Terpinene	15.327	97	6.21
14	1087	Terpinolene	16.689	97	0.38
15	1103	Linalool	17.453	98	17.41
16	1105	Nonanol	17.575	90	0.06
17	1175	Terpinen-4-ol	20.868	93	0.18
18	1189	$\alpha$ - Terpeneol	21.529	97	2.13
19	1206	Decanal	22.331	94	0.03
20	1214	Caprylyl acetate	22.703	98	0.09
21	1228	Nerol	23.359	98	0.36
22	1240	Neral	23.888	96	0.27
23	1259	Linalyl acetate	24.780	97	19.20
24	1270	Geranial	25.266	97	0.39
25	1349	Terpinyl acetate	28.743	97	0.14
26	1366	Neryl acetate	29.479	98	0.94
27	1385	Geranyl acetate	30.305	98	1.08
28	1417	$\beta$ -Caryophyllene	31.657	89	0.14
29	1436	trans- $\alpha$ -Bergamotene	32.433	97	0.14
30	1509	Bisabolene <beta->	35.420	97	0.19

Table 3 shows the composition of essential oils recovered from the microcapsules. The main compounds were limonene (39.39-43.58%), linalool (18.37-22.68%),  $\gamma$ -terpinene (6.20-6.61

%), sabinene+ $\beta$ -pinene (3.75-4.68 %),  $\alpha$ -terpineol (3.30-5.26%), geranyl acetate (2.29-3.09%) myrcene (1.86-2.29 %) and neryl acetate (1.60-2.03%). These results clearly showed that

some essential oil components markedly changed depending on the wall material composition. This notable difference was particularly determined in linalyl acetate content. This component was 19.20 % in the bergamot essential oil, however; it ranged between 5.42% and 13.33% in the powders as jointly determined with geraniol. Geraniol, which could not be detected at the beginning in bergamot essential oil, was determined significant amount in the essential oil recovered from the microcapsules. This difference could be explained with partial decomposition of linalyl acetate to geraniol due to the thermal degradation during spray drying. Linalyl acetate degraded with thermal effect and lead to linalyl, geranyl and neryl carbocation which activates considerable

rearrangement reactions and form linalool, geraniol and nerol. Moreover, linalyl acetate can be changed into geranyl acetate and neryl acetate and converted into acyclic monoterpene hydrocarbons such as myrcene, cis- and trans- $\beta$ -Ocimenes by elimination (Casabianca et al.,1998; Mastelic and Jerkovic, 2003). According to our results, the highest geraniol+ linalyl acetate content were determined in B5 (13.33 %, AG:MD;40:60) sample, followed by B1 (11.89 %, AG:MD;100:0) and B4 (10.38 %, AG:MD;75:25) samples. The amount of myrcene, neryl acetate and geranyl acetate contents also increased in all the microcapsules in comparison to the bergamot essential oil.

Table 3 Composition of the bergamot essential oils recovered from the microcapsules

NO	Compound name	Microcapsules					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
1	$\alpha$ - Thujene	0.22	0.14	0.16	0.19	0.20	0.18
2	$\alpha$ - Pinene	0.90	0.75	0.74	0.83	0.80	0.81
3	Sabinene + $\beta$ -pinene	4.68	3.75	3.87	4.50	4.37	4.14
4	Myrcene	1.86	2.21	2.21	2.03	1.92	2.29
5	$\alpha$ -Phellandrene	0.06	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06
6	$\alpha$ - Terpinene	0.29	0.38	0.35	0.31	0.31	0.36
7	p-Cymene	0.60	0.76	0.75	0.81	0.74	0.99
8	Limonene	43.22	41.62	40.19	39.70	39.39	41.87
9	(Z) - $\beta$ -Ocimene	0.34	0.45	0.45	0.39	0.36	0.48
10	(E)- $\beta$ -Ocimene	0.79	1.01	1.02	0.90	0.86	1.08
11	$\gamma$ -Terpinene	6.59	6.49	6.22	6.20	6.62	6.43
12	Terpinolene	0.53	0.75	0.69	0.59	0.59	0.69
13	Linalool	18.37	20.99	22.25	21.01	19.01	22.76
14	Nonanal	-	-	0.04	-	-	-
15	Terpinen-4-ol	0.21	0.48	0.42	0.31	0.26	0.38
16	$\alpha$ -Terpineol	3.30	5.41	5.26	4.34	3.54	4.67
17	Decanal	0.04	0.06	0.06	0.05	0.06	0.05
18	Capryl acetate	0.11	0.13	0.14	0.13	0.15	0.13
19	Nerol	0.58	0.92	1.01	0.81	0.70	0.80
20	Neral	0.28	0.31	0.35	0.32	0.35	0.28
21	Geraniol +Linalyl acetate	11.89	7.46	6.95	10.38	13.33	5.42
22	Geraniol	0.42	0.46	0.50	0.45	0.50	0.38
23	Terpinyl acetate	0.19	0.17	0.19	0.21	0.24	0.17
24	Neryl acetate	1.60	1.83	2.03	1.99	2.03	1.89
25	Geranyl acetate	2.29	2.75	3.09	2.89	2.76	2.90
26	$\beta$ -Caryophyllene	0.20	0.19	0.20	0.23	0.27	0.21
27	Bergamotene $\alpha$ - trans	0.21	0.19	0.20	0.22	0.27	0.23
28	$\beta$ -Bisabolene	0.27	0.26	0.27	0.30	0.37	0.30

\*Q: Similarity ratio.

Linalyl acetate also produces monocyclic monoterpenes hydrocarbon—terpinolene— as the main product from linalyl acetate via the  $\alpha$ -terpinyl cation and terpinene-4-yl cation.  $\alpha$ -terpineol and then 1,8-cineole can be formed by hydration of the  $\alpha$ -terpinyl cation. Besides, terpinene-4-ol can be formed by the hydration of the terpinene-4-yl cation. After encapsulation, terpinolene, terpinene-4-ol and  $\alpha$ -terpineol increased in all microcapsules. These changes can be proportional increases, which can be related with removal of the other components during the process. The oil compositions detected in B4 (AG:MD; 75:25) and B5 (AG:MD; 40:60) microcapsules were the least affected from encapsulation process. The ratio of  $\alpha$ -terpineol in

microcapsules obtained with both only maltodextrin and gum arabic/maltodextrin (25:75) blend was determined two times higher than that of bergamot essential oil. Similar to our results, Penbuditkul et al. (2012) reported that different wall materials and saturation of wall materials affected the flavour retentions and surface oil content of encapsulated multi-flavour bergamot oil.

**Encapsulation yield and efficiency**

The effect of gum arabic and maltodextrin concentrations on encapsulation yield (EY) and encapsulation efficiency (EE) is shown in Figure 1.

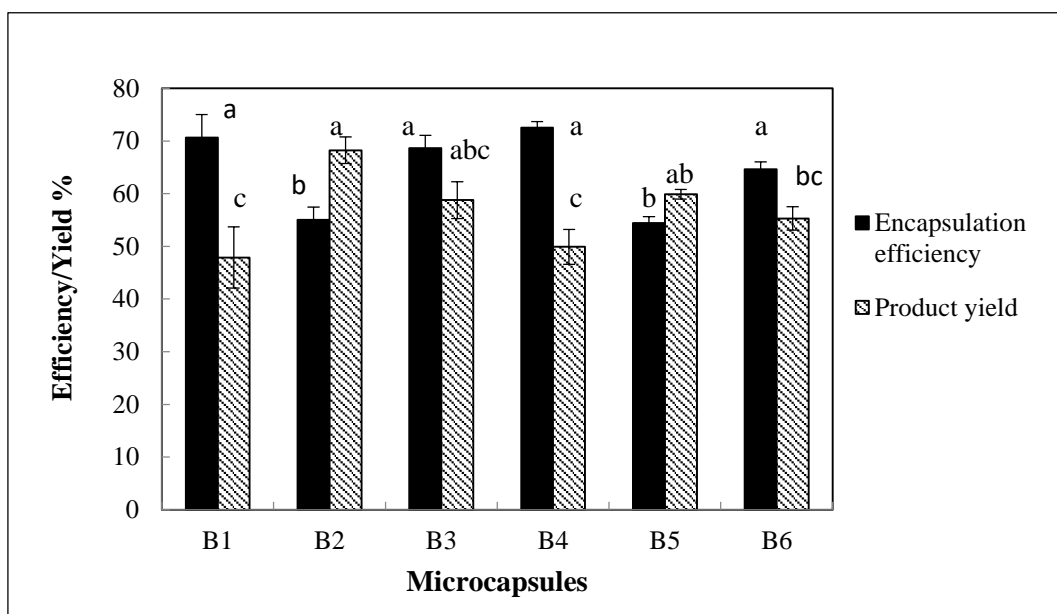


Figure 1. Encapsulation efficiency and encapsulation (product) yield of the microcapsules

The encapsulation yield changed between 47.89 % to 68.24 % according to the emulsion compositions. As the maltodextrin concentration increased in the feed emulsions, encapsulation yield significantly ( $P < 0.05$ ) increased. The decrease in EY percentage was reasoned by stickiness during spray drying. It was observed that some part of the emulsions stuck on the dryer walls during spray drying. Stickiness during spray drying depends on the surface temperature, water content and glass transition temperatures of the

dried product (De Oliveira et al., 2009). Glass transition temperatures of maltodextrin DE 12 and gum arabic are 164°C and 102 °C, respectively (Roos and Karel, 1991). Present stickiness phenomenon in spray drying process can be explained by lower glass transition temperature of gum arabic than that of maltodextrin. A few degrees above the glass transition temperature, the particle surface reaches rubbery state and the particles begin to collapse. So, the encapsulation yield of B1 emulsion (AG:MD, 100:0) was significantly lower than other emulsions.

Moreover, the higher viscosity could affect the later formation of the dry surface and so the higher percentage of feed solids could stick on the dryer wall (Goula and Adamopoulos, 2004).

Encapsulation efficiencies of emulsions were determined in range of 54 % to 72 % depending on the emulsion composition. The highest efficiency of microcapsules was obtained from the emulsion prepared with 75:25 AG:MD. Similarly, in many researches stated gum arabic mixtures with maltodextrin and modified starch provided better encapsulation efficiency than pure gum arabic (De Araujo Santiago et al., 2016; De Barros et al., 2014; Przybysz et al., 2016).

The differences in encapsulation efficiencies can also be related to the emulsion viscosity. Emulsion viscosity is higher in pure gum arabic than gum arabic -maltodextrin mixtures. So, the crust formation is happened in a shorter time and

resulted in higher retention of components. (Jafari et al., 2008).

#### **Moisture content and water activity**

The moisture content and water activity values of the microcapsules were given in Table 4. They changed between 1.91-2.83 % , and 0.120-0.145, respectively. The moisture content and water activity values were related to the drying operation conditions, such as inlet temperature and outlet temperature (Nadeem et al., 2011). The moisture content of dried product is also relevant to the temperature and humidity of the air leaving the drying process (Goula and Adamopoulos, 2008). In the present study, both inlet and outlet air temperatures were maintained at as possible as constant temperatures for obtain identical moisture content in all samples. The temperatures were constant and set by changing the flow rate of the feed emulsion during the drying processes. As a result, moisture content and water activities of the samples did not vary significantly ( $P > 0.05$ ).

Table 4 Moisture content and water activity of different ratio combinations of arabic gum and maltodextrin.

Wall material (AG:MD)	Moisture content (mL/100 g)	Water activity ( $a_w$ )
100:0	2.71 ± 0.21 <sup>*a</sup>	0.145 ± 0.01 <sup>*a</sup>
0:100	2.82 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.130 ± 0.03 <sup>a</sup>
25:75	1.91 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.120 ± 0.02 <sup>a</sup>
75:25	2.83 ± 0.49 <sup>a</sup>	0.123 ± 0.02 <sup>a</sup>
40:60	2.39 ± 0.38 <sup>a</sup>	0.138 ± 0.01 <sup>a</sup>
60:40	2.55 ± 0.58 <sup>a</sup>	0.134 ± 0.01 <sup>a</sup>

\* The values are given in mean ± standard errors.(n=3)

Different superscripts letters in each column indicate statistical differences ( $P < 0.05$ ).

#### **Bulk density and particle size distributions**

Bulk densities of the powders varied significantly ( $P < 0.01$ ) between 364 kg/m<sup>3</sup> to 417 kg/m<sup>3</sup> according to the emulsion composition (Table 5). Bulk density increased significantly as the concentration of the gum arabic increased in the emulsions. Conversely, when the ratio of maltodextrin increased, bulk density decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Thus, the highest bulk density obtained when the ratio of AG:MD was 100:0 (w/w) in the feed emulsion. This could be related to feed composition. When gum arabic

was used, the viscosity of feed emulsion increased due to the higher viscosity effect of gum arabic. Higher infeed viscosity increased the feed rate to obtain a constant outlet temperature. At the higher feed rate, the shorter time required for particle film formation and this situation could affect the powder properties (Goula and Adamopoulos, 2004). When the feed flow rate increased, particle size of the microcapsules decreased, thereby bulk density of the powder increased.



## Microencapsulation of bergamot peel essential oil aroma compounds

Table 5 Bulk density and particle size characteristics of the essential oil microcapsules produced with gum arabic and maltodextrin

Wall material (AG:MD)	Bulk density (kg/m <sup>3</sup> )	D50(μm)	D90(μm)
100:0	417.7 <sup>a</sup> ± 10.36 <sup>*</sup>	8.87 <sup>a</sup> ± 0.07	23.19 <sup>a</sup> ± 0.99
0:100	364.6 <sup>c</sup> ± 4.1	7.65 <sup>c</sup> ± 0.24	16.51 <sup>c</sup> ± 0.66
25:75	380.9 <sup>c</sup> ± 10.76	7.85 <sup>bc</sup> ± 0.31	17.94 <sup>c</sup> ± 0.78
75:25	382.32 <sup>bc</sup> ± 2.41	8.51 <sup>ab</sup> ± 0.16	22.09 <sup>ab</sup> ± 0.66
40:60	378.7 <sup>c</sup> ± 4.31	8.14 <sup>abc</sup> ± 0.11	19.43 <sup>bc</sup> ± 0.35
60:40	403.53 <sup>ab</sup> ± 5.22	8.71 <sup>a</sup> ± 0.39	22.83 <sup>ab</sup> ± 2.24

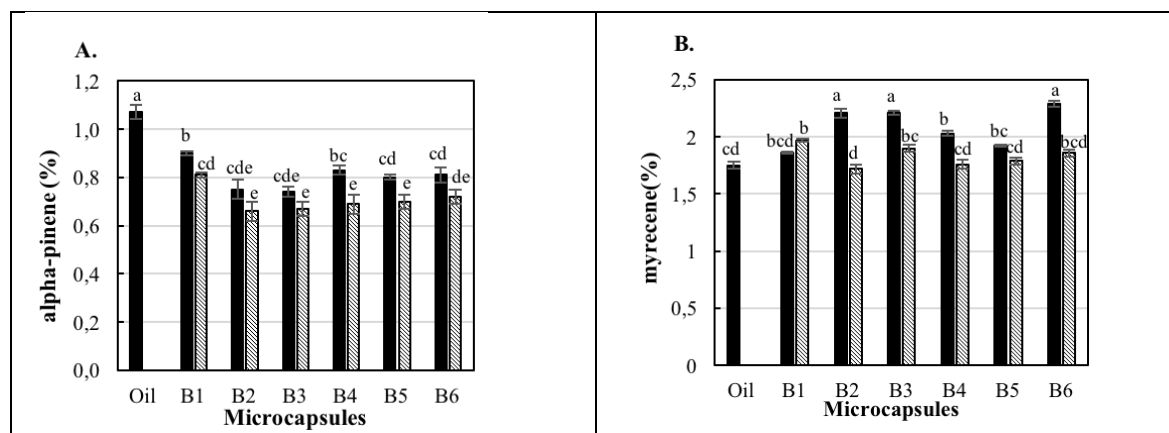
\* The values are mean ± standard errors (n=3)

Different superscripts letters in each column indicate statistical differences \*(*P*<0.01).

Table 5 also shows the particle size distribution of the powder particles. The particles' median diameters (D0,5) were changed between 7.65 and 8.87μm. Particles size increased when only gum arabic was used in the emulsion. When the bulk density and particle size results were compared, unlike expected, there was no such a negative correlation between bulk density and particle size. This can be related to hygroscopic properties of gum arabic. Indeed, gum arabic is more hygroscopic than maltodextrin. The powders produced with gum arabic were more hygroscopic so that these powders became damp and the particles grew. Thus, Jaya and Das (2004) used maltodextrin to overcome the stickiness problem of the mango powder and to get less hygroscopic powder. Feed flow rate could also be a reason of the stickiness problem. Higher feed flow rate can cause collision of small droplets and so the particle size of dried particles could be increased (Al-Asheh et al., 2003; Wang et al., 2015).

### *Effect of wall material composition on the retention of major essential oil compounds in microcapsules after storage*

The important monoterpenes ( $\alpha$ -pinene, myrcene, limonene,  $\gamma$ -terpinene, linalool,  $\alpha$ -terpineol, geranyl acetate) composition of the essential oil recovered from the microcapsule were analysed after 20 days of the storage at 25°C. The results estimated in the % area of the components in GC chromatograms of the samples are shown in Figure 2. It can be clearly seen that there were losses of some components during the spray drying process. The losses of the volatiles during the spray-drying process can be explained by selective diffusion theory relevant to selective permeability. The theory presumed that the retention of the compound in the atomized drop is related to the relative volatility of the compounds (Bertolini et al., 2001).



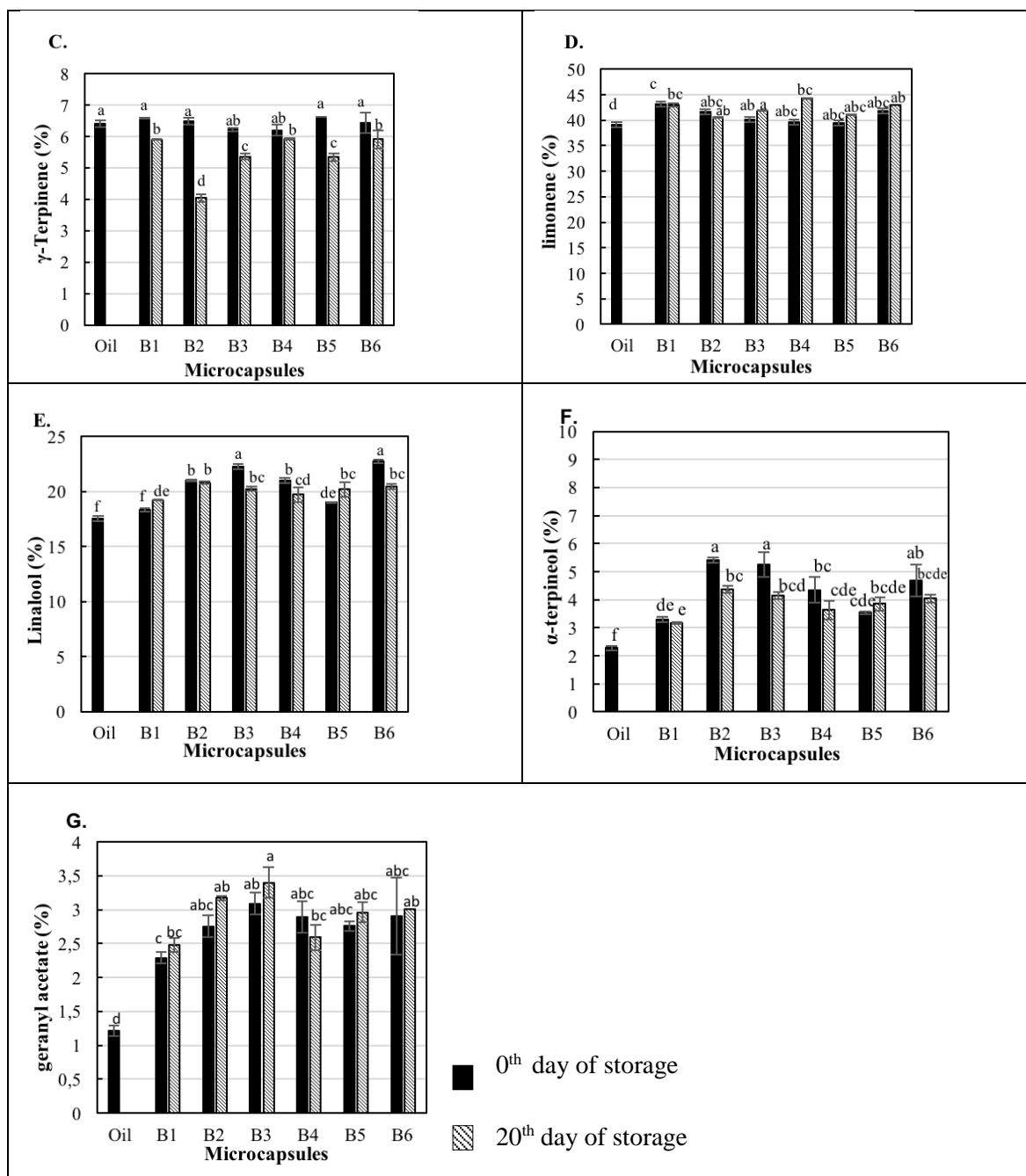


Figure 2. Main components in essential oil recovered from the microcapsules at 0<sup>th</sup> day and 20<sup>th</sup> day of storage (A. alpha-pinene; B.myrcene; C.  $\gamma$ -Terpinene; D.limonene; E.linalool; F.  $\alpha$ -terpineol; G.geranyl acetate).

Emulsion compositions and storage had significant effects on the percentage of  $\alpha$ -pinene in the microcapsules (Fig. 2A). The greater stability of  $\alpha$ -pinene in both encapsulation

process and storage was detected in samples produced with only gum arabic.

According to the results, myrcene percentage significantly increased ( $P < 0.05$ ) in all

microcapsules except produced with only gum arabic (B1 microcapsules) and 40:60 AG:MD microcapsules (Fig. 2B). Besides, myrcene percentage decreased significantly after 20 days of storage excluding microcapsules produced by gum arabic. Myrcene content not significantly changed in microcapsules produced with higher amount of gum arabic. The slight increase in myrcene percentage in some microcapsules could be related with linalyl acetate conversion in to  $\beta$ -myrcene by the elimination of acetate group at high temperatures (200 °C) during the drying process.

It can be observed in Fig. 2C that the percentage of  $\gamma$ -Terpinene did not significantly ( $P > 0.01$ ) changed after the encapsulation. Emulsion composition also did not affect to the stability of  $\gamma$ -Terpinene in the microcapsules. However, wall material composition in the emulsion had a significant effect on  $\gamma$ -Terpinene retention during the storage. Retention of  $\gamma$ -Terpinene increased as the level of gum arabic was increased in the emulsions. Just like the myrcene, the lowest  $\gamma$ -Terpinene retention was detected in the microcapsules produced with only maltodextrin.

Limonene was the main component of the bergamot essential oil and its percentage was 40.92. (Fig. 2D) Limonene also did not significantly affect by emulsion composition and storage period of the microcapsules ( $P > 0.01$ ). This could be related to its high boiling point (175-176 °C) so its volatility is lower than the other components.

As shown in Fig. 2E, percentage of linalool increased significantly in the microcapsules produced by all emulsions except B1 ( $P < 0.05$ ). From these results, it was evident that gum arabic provided best protection of linalool than maltodextrin alone and the gum arabic and maltodextrin blends. Increment of linalool percentage in the microcapsules could be related with releasing of other minor components during the drying process. In terms of the essential oil components, there was no significant difference among the microcapsules produced with the gum arabic and maltodextrin mixtures after 20 days'

storage ( $P > 0.05$ ). However, linalool percentage increased significantly ( $P < 0.05$ ) in the microcapsules produced by AG:MD 100:0 and 40:60 blends while it decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in 25:75, 75:25 and 60:40 blends.

In Fig. 2F, it was shown that the percentage of  $\alpha$ -terpineol increased significantly after the encapsulation. The increment of  $\alpha$ -terpineol could be related to high volatility of the other components during drying process. Indeed, the boiling point of  $\alpha$ -terpineol is higher (219°C) than that of others major components.

Geranyl acetate percentage increased significantly after the encapsulation of oil in all microcapsules (Fig. 2G). This could be related with thermal degradation of linalyl acetate during the drying and distillation processes. Linalyl acetate undergoes thermal degradation in the presence of water leading to linalyl, geranyl, and neryl carbocation, which induce considerable rearrangement reactions as Babu and Singh (2010) reported. Thus, the percentage of neryl acetate and geranyl acetate were dramatically higher in the microcapsules.

Encapsulation process had minor effects on most of components in bergamot essential oil while it had major effect for some of them, during the process and storage depending on wall material compositions. As a result, a mixture of AG:MD could be suggested as a good wall material for encapsulation of bergamot essential oil encapsulation which could result better for protection of essential oil components against thermal degradations and oxidation effects during the drying process and storage.

### CONCLUSION

In this study, different combinations of gum arabic and maltodextrin were evaluated in the microencapsulation of bergamot essential oil by spray drying. All the obtained powders had almost same moisture contents and water activity values. The encapsulation yield and efficiency were significantly affected by the wall materials composition. Although there is no statistical differences between encapsulation efficiencies of B1, B3, B4 and B6 microcapsules, the AG:MD

blend at the ratio of 75:25 (B4) provided the highest value (72.57%). Findings suggested that bergamot essential oil can be encapsulated without thermal degradation, oxidation reactions and releasing of components from powders. As a result, a new food-flavouring ingredient in powder form was produced successfully for using in many food formulations such as bakery, cake, salad dressings and beverages.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank The Scientific Research Projects Coordination Unit of Akdeniz University (Antalya, Turkey) for financial support (Project Number: 2009.02.0121.018).

#### REFERENCES

- Al-Asheh, S., Jumah, R., Banat, F., Hammad, S. (2003). The use of experimental factorial design for analysing the effect of spray dryer operating variables on the production of tomato powder. *Food Bioprod Process*, 81(2), 81-88.
- Babu, G. K., Singh, B. (2010). Characteristics variation of lavender oil produced by different hydrodistillation techniques. *Comprehensive bioactive natural products: Quality control & standardization*, 8, 221-135.
- Beristain, C., Garcia, H., Vernon-Carter, E. (2001). Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *LWT - Food Sci Tech*, 34(6), 398-401.
- Bertolini, A., Siani, A., Grosso, C. (2001). Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. *J Agric Food Chem*, 49(2), 780-785.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Chemat, F. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *J Food Eng*, 90(3), 409-413.
- Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R., Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *J Food Eng*, 115(4), 443-451.
- Casabianca, H., Graff, J.B., Faugier, V., Fleig, F., Grenier C. (1998). Enantiomeric Distribution Studies of Linalool and Linalyl Acetate. A Powerful Tool for Authenticity Control of Essential Oils. *J High Resolut Chromatogr*, 21, 108-112.
- Costa, R., Dugo, P., Navarra, M., Raymo, V., Dugo, G., Mondello, L. (2010). Study on the chemical composition variability of some processed bergamot (*Citrus bergamia*) essential oils. *Flavour Fragr J*, 25(1), 4-12.
- De Araujo Santiago, M. C. P., Nogueira, R. I., Paim, D. R. S. F., Gouvêa, A. C. M. S., de Oliveira Godoy, R. L., Peixoto, F. M., Pacheco, S., Freitas, S. P. (2016). Effects of encapsulating agents on anthocyanin retention in pomegranate powder obtained by the spray drying process. *LWT - Food Sci Tech*, 73, 551-556.
- De Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V., Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydr Polym*, 101, 524-532.
- De Oliveira, M. A., Maia, G. A., De Figueiredo, R. W., De Souza, A. C. R., De Brito, E. S., De Azeredo, H. M. C. (2009). Addition of cashew tree gum to maltodextrin-based carriers for spray drying of cashew apple juice. *Int J Food Sci Technol*, 44(3), 641-645.
- Eleni, M., Antonios, M., George, K., Alexios-Leandros, S., Prokopios, M. (2009). High quality bergamot oil from Greece: Chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the West Nile virus vector. *Molecules*, 14(2), 839-849.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M.-E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M., Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *J Food Eng*, 75(1), 27-35.
- Ghabraie, M., Vu, K. D., Tata, L., Salmieri, S., Lacroix, M. (2016). Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT - Food Sci Tech*, 66, 332-339.

- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. (2004). Spray drying of tomato pulp: effect of feed concentration. *Drying Technol*, 22(10), 2309-2330.
- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. (2008). Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. Powder properties. *Drying Technol*, 26(6), 726-737.
- Impellizzeri, D., Bruschetta, G., Di Paola, R., Ahmad, A., Campolo, M., Cuzzocrea, S., Esposito, E., Navarra, M. (2015). The anti-inflammatory and antioxidant effects of bergamot juice extract (BJe) in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Clin Nutr*, 34(6), 1146-1154.
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technol*, 26(7), 816-835.
- Jaya, S., Das, H. (2004). Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *J Food Eng*, 63(2), 125-134.
- Mastelic, J., Jerkovic I. (2003). Application of co-distillation with superheated pentane vapour to the isolation of unstable essential oils. *Flavour Fragr J*, 18, 521-526.
- Mollace, V., Sacco, I., Janda, E., Malara, C., Ventrice, D., Colica, C., Visalli V., Muscoli, S., Ragusa S., Muscoli, C., Rotiroti, D., Romeo, F. (2011). Hypolipemic and hypoglycaemic activity of bergamot polyphenols: from animal models to human studies. *Fitoterapia*, 82(3), 309-316.
- Nadeem, H. Ş., Torun, M., Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT - Food Sci Tech*, 44(7), 1626-1635.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., Calapai, G. (2015). Citrus bergamia essential oil: from basic research to clinical application. *Front pharmacol*, 6, 36.
- Penbunditkul, P., Yoshii, H., Ruktanonchai, U., Charinpanitkul, T., Assabumrungrat, S., Soottitantawat, A. (2012). The loss of OSA-modified starch emulsifier property during the high-pressure homogeniser and encapsulation of multi-flavour bergamot oil by spray drying. *Int J Food Sci Technol*, 47(11), 2325-2333.
- Przybysz, M. A., Onacik-Gür, S., Majtczak, K., Dłużewska, E. (2016). The stability of spraydried microencapsulated  $\beta$ -carotene in the mixture of gum Arabic, OSA type modified starch and maltodextrin. *Ital J Food Sci*, 28(4), 716-732.
- Reineccius, G. A. (2004). The spray drying of food flavors. *Drying Technol*, 22(6), 1289-1324.
- Ribes, S., Fuentes, A., Talens, P., Barat, J. M., Ferrari, G., Donsì, F. (2017). Influence of emulsifier type on the antifungal activity of cinnamon leaf, lemon and bergamot oil nanoemulsions against *Aspergillus niger*. *Food Control*, 73, 784-795.
- Roos, Y., Karel, M. (1991). Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars. *Biotechnology Prog*, 7(1), 49-53.
- Sawamura, M., Poiana, M., Kawamura, A., Itoh, T., Song, H., Ukeda, H., Mincione, B. (1999). Volatile components of peel oils of Italian and Japanese lemon and bergamot. *Ital J Food Sci*, 11(2), 121-130.
- Sawamura, M., Onishi, Y., Ikemoto, J., Tu, N. T. M., Phi, N. T. L. (2006). Characteristic odour components of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil. *Flavour Fragr J*, 21(4), 609-615.
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M.-E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M., Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innov Food Sci Emerg*, 6(1), 29-35.
- Verzera, A., Trozzi, A., Gazea, F., Ciccirello, G., Cotroneo, A. (2003). Effects of rootstock on the composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. *J Agric Food Chem*, 51(1), 206-210.
- Visalli, G., Ferlazzo, N., Cirmi, S., Campiglia, P., Gangemi, S., Di Pietro, A., Calapai G., Navarra, M. (2014). Bergamot juice extract inhibits proliferation by inducing apoptosis in human colon cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem*

(Formerly *Curr Med Chem Anticancer Agents*), 14(10), 1402-1413.

Wang, W., Dufour, C., Zhou, W. (2015). Impacts of spray-drying conditions on the physicochemical properties of soy sauce powders using maltodextrin as auxiliary drying carrier. *Cyta-J Food*, 13(4), 548-555.

Yang, Y., Zhao, C., Tian, G., Lu, C., Li, C., Bao, Y., Tang, Z., McClements, D.J., Xiao, H., Zheng,

J. (2018). Characterization of physical properties and electronic sensory analyses of citrus oil-based nanoemulsions. *Food Res Int*, 109, 149-158.

Zhang, Z., Song, H., Peng, Z., Luo, Q., Ming, J., Zhao, G. (2012). Characterization of stipe and cap powders of mushroom (*Lentinus edodes*) prepared by different grinding methods. *J Food Eng*, 109(3), 406-413.

## DETECTION OF GENETICALLY MODIFIED MAIZE IN FOODS AND FEEDSTUFF BY PCR METHODS\*

Melike Baran Ekinci<sup>1\*\*</sup>, Filiz Ozcelik<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mehmet Akif Ersoy University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Burdur, Turkey

<sup>2</sup> Ankara University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

Received /Geliş: 11.07.2018; Accepted /Kabul: 12.11.2018; Published online /Online baskı: 05.12.2018

Baran Ekinci, M., Özçelik, F. Detection of genetically modified maize in foods and feedstuff by PCR methods. GIDA (2018) 43 (6): 971-983 doi: 10.15237/gida.GD18071

Baran Ekinci, M., Özçelik, F. Gıda ve yemlerde genetik modifiye mısırın PCR metotları ile tespiti. GIDA (2018) 43 (6): 971-983 doi: 10.15237/gida.GD18071

### ABSTRACT

In this study twenty six maize kernels and 64 processed maize food including maize flour, starch, corn flakes were collected from different markets located in Turkey, analyzed for genetic modification using the polymerase chain reaction. The samples were examined for the presence of genetic elements located in the majority of transgenic crops such as NOS terminator and CaMV 35S promoter using conventional PCR and then verified real time PCR, too. Additionally, Bt11, Bt176, Mon810, CBH351 and T25 events which have been enjoyed, limited data in Turkey, examined in the products using conventional PCR. Then, quantification of the all lines (except CBH351) was performed via real time PCR too. The results indicated that foreign genetic elements were found in analyzed 14 samples raw and processed materials and the quantity in one sample (maize flour) was greater than 0.9%, the limit at which labeling is required by Biosafety Law in Turkey.

**Keywords:** GM maize (corn), feedstuffs, PCR, real-time PCR

## GIDA VE YEMLERDE GENETİK MODİFİYE MISIRIN PCR METOTLARI İLE TESPİTİ

### ÖZ

Bu çalışmada Türkiye piyasasından toplanan ve mısır unu, mısır nişastası, mısır cipsi ve mısır gevreğini içeren 64 adet işlenmiş mısır ürünü ile 19 adet işlenmemiş yemlik tane mısırdaki PCR yöntemi ile genetik modifikasyon araştırılmıştır. Tüm numunelerde, birçok bitkide düzenleyici elementlerden olan 35S promotör ve NOS terminatör taranması önce konvensiyonel PCR ile yapılarak daha sonra real time PCR ile doğrulanmıştır. Ürünlerde, Türkiye’de kısıtlı veriye sahip olan Bt11, Bt176, Mon810, T25 ve CBH351 mısırların varlığı konvensiyonel PCR ile aranmış ve CBH351 hariç adı geçen tüm hatlarda real-time PCR kullanılarak miktar analizi yapılmıştır. Sonuçlar 14 örnekte yabancı genetik element bulunduğunu, bir örneğin (mısır unu) ise Türkiye “Biyogüvenlik Yasası”na göre %0.9 olan etiketleme değerinin üstünde olduğunu göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** GM mısır, yem, konvensiyonel PCR, real-time PCR

\* This study is a part of Ph Thesis of Melike Baran Ekinci / Bu çalışma Melike Baran Ekinci'nin Doktora tezinin bir bölümüdür

\*\* Corresponding author/ Yazışmalardan sorumlu yazar

melikebaran@mehmetakif.edu.tr

☎ (+90) 248 213 2726/ 505 260 0258

☎ (+90) 248 213 2704

## INTRODUCTION

Maize is the most approved GMO crop (at 53 events) (CERA, 2018), followed by cotton (23 events) (James, 2010), canola (15 events), and soybean (11 events) (GM Crop Database, 2010). The United States (U.S.), followed by Argentina, Brazil, Canada, India, and China, are the principal adopters of GM crops (James, 2010). Consumers are concerned about genetically modified (GM) foods due to speculation about potential for danger to health and the environment. The monitoring of GM foods is necessary for public awareness and labeling of GM foods is a significant part of monitoring (IIA.MSU, 2007).

In recent years, many countries have adopted labeling policies for GM food and feed. The first labeling policies were introduced by the European Union (EU) in 1997 (EC., 1997), with marketing authorization for GM organisms controlled by Novel Food Regulation (EC) No. 2003/29 (EC., 2003, OCA, 2005). Since then many other countries have adopted different types of labeling policies for GM foods. The threshold level for labeling of GM ingredients ranges from 0.9% to 5% relative GM content (Guillaume et al., 2007). The U.S., Canada, Argentina and Iceland are among those countries where the authorities do not require GM foods to be labeled at all (Guillaume et al., 2007; Sanhoty et al., 2002; Food Standart Agency 2008).

According to Biosafety Law (No.5977, Biosafety Law, 2010), feeds, foods and additives with more than %0.9 relative amount of genetically modified organisms must be labeled as GMO products and also GM crops can not be planted in Turkey. However there are only ten GM soybean events and 29 maize events are approved to import for feed, nowadays. The other GM events are under consulted to import Turkey (TBDDM, 2018). Ironically, in data from 2003, 81% of 1.8 million tons of maize imported to Turkey came from the U.S. and Argentina (TurkStat, 2010; Baran & Yilmaz, 2008), both among the biggest GM maize and soybean producers (James, 2010). Maize and soybean imported to Turkey have been suspected of being of GM origin. Because of many diverse issues such as potential long-term health problems, environmental risks, socio-economic

concerns, GM products are an issue of some strong debate in Turkey (Baran & Yilmaz, 2008). The aim of this study was to determine using conventional PCR and real-time PCR techniques whether there is any known genetic modification in both raw and processed maize-derived food and feed samples imported into Turkey.

## MATERIALS AND METHODS

### Samples and reference material

Sixty-four samples of commercially available processed maize-based foods, including maize flour, starch, and corn flakes, were randomly collected from different markets located in Turkey. In addition, 7 maize kernels were provided by the Variety Registration and Feed Certification Centre, and 19 feedstuffs as maize kernels were collected by the Turkish Feed Manufacturers' Association from various parts of Turkey. Certified reference materials (CRMs), produced by ERM (European Reference Material), IRRM-Institute Reference Material and Measurements, in Geel, Belgium were used for negative and positive controls in the range of 0-5 %GMO: non-GMO; Bt176 ERM®-BF411a; Bt11 ERM®-BF412a; Mon810 ERM®-BF413a. Additionally, positive controls for T25 and CBH351 were provided from their own commercial kits.

### Extraction of genomic DNA

Three different DNA isolation methods were carried out for DNA extraction using CTAB (Roger & Bendich, 1985), the High Pure DNA Isolation Kit (Roche, USA), and the Prep Plant X DNA Isolation Kit (Sure food, Germany). Maize kernels and other solid samples were ground in an electric mill as part of the sample extraction (GM200, Retsch). Duplicate extractions were done for each sample at least. The quality of nucleic acid extraction was assessed by agarose gel electrophoresis (Gene Genius, Syngene). The concentration of DNA in solution was measured spectrophotometrically with a Lambda EZ-201 system (Perkin-Elmer, USA).

### Primer pairs and PCR conditions

The primer pairs to detect CaMV 35S promoter region (353 and 35S6, Berben, 2001) NOS terminator region (HA-nos-118-f and HA-nos-



118-r) and the conventional PCR conditions used in this study have been already described (Lipp et al., 2001). NOS terminator and CaMV 35S promoter were determined by real-time PCR using commercial kits (Lightcycler GMO Screening Kit, Roche) too.

In addition, plant gene was detected in all samples using GMO Screening kit to prove that DNA extraction was successfully carried out with screening kit. The zein gene was also identified to confirm the presence of maize derivatives in all samples. PCR conditions and the primer pairs specific for probing the zein gene have been described elsewhere (Querci et al., 2002). Commercial kits were purchased from Tepnel Biosystems (GMO Selection Module, U.K.) to detect Bt176, Bt11, CBH351, T25, Mon810 events.

### **GM variety testing for Bt176, Bt11, Mon810, T25 and CBH351 maize lines**

GM variety testing was performed on those samples in which a positive, or trace GM signal was detected. This PCR tests identified specific genes used in GM maize.

Qualitative analysis of positive samples containing Bt176, Bt11, Mon810, T25 and CBH351 maize events were carried out with separate multiplex PCR kits (Tepnel Biosystems, GMO Selection Module, and U.K.). Two genes were detected by all test kits; one of them is a specific gene (e.g Bt176, Bt11, etc.) and the other is the zein gene as a positive control indication of maize in the samples.

### **Quantitative analyses of Bt176, Bt11, Mon810, T25 maize lines**

Positive samples containing Bt176 maize were quantified with absolute and relative quantification methods using commercial kits from Congen Biotechnologie GmbH (Surefood GMO Bt176 Corn Kit-for absolute quantification) and Roche (Bt176 Quantification Kit-for relative quantification), respectively. Quantification of positive samples containing the other maize lines was performed with the absolute quantification method using commercial kits which were purchased from Congen

Biotechnologie GmbH (Surefood GMO Bt111, Mon810, T25). For GMO DNA absolute quantitation in a sample, the Ct or Cp values (Cycle threshold or crossing point) are measured and converted to a corresponding copy number by comparison with a calibration curve generated with standard DNA.

All methods were performed according to manufacturer's instruction on Light Cycler 2.0 (Roche, USA).

### **Statistical analyses of the methods**

Determination of GM percentages of samples (such as maize kernels, maize flours, etc.) was calculated by the average results of replicates. The samples were studied at least duplicate but some processed samples were done multiple. The paired *t* test method (Sheskin, 2000) was used to determine if there was or not significant difference between relative quantification and absolute quantification values for Bt176 ( $p > 0.05$ ).

As described above, both conventional and real-time PCR methods were used to determine 35S promoter and NOS terminator regions for the qualitative assessments. The Cohen's Kappa statistic was applied to the values which were present or absent to evaluate agreement between the methods. Additionally, the Kappa method was applied to the results which were obtained from the qualitative and quantitative test methods to determine agreement between the methods. The results of the Kappa method were evaluated by the kappa scale (Sim & Wright, 2005).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Genomic DNA Extraction**

No significant difference was detected between the results obtained by the commercial kits. The High Pure DNA isolation and Sure Food DNA isolation kits were superior to the use of the CTAB method DNA and were more rapidly completed. While Sure Food DNA isolation kit was used high processed samples (e.g. maize chips and maize cornflakes), The High Pure DNA isolation kit was used the others (e.g. maize granules, maize flours ect.). Other studies also showed that selection of DNA extraction method

was crucial because quantitative PCR results were affected by the DNA extraction method and purification methods used (Demeke & Ratmayaka, 2008; Minegishi et al., 2008; Papazova et al., 2008)

### Sensitivity and spesifity

Collected samples had different processing steps varying from relatively mildly treated ground maize kernels to highly processed products, such as chips and cornflakes. The sensitivity and

spesifity of the methods was summarized in Table 1. The sensitivity of the applied qualitative PCR method by conventional PCR was determined as 0.5% and 0.1% for the determination of 35S promoter and NOS terminator, respectively. On the other hand, the sensitivity of the applied qualitative PCR method by real-time PCR was 0.1% for both 35S promoter and NOS terminator (Table 1). CRM was available as a GM material.

Table 1. Method sensitivity

Methods	LOD of method	LOQ of method	Spesifity testing
<sup>a</sup> Zein Gene	-	-	+
<sup>a</sup> 35S	g0.5	-	+
<sup>a</sup> NOS	g0.1	-	+
<sup>b</sup> 35S	g0.1	-	+
<sup>b</sup> NOS	g0.1	-	+
<sup>a</sup> Bt176	f0.1	-	+
<sup>b</sup> Bt176	f0.1	f0.1	+
<sup>d</sup> Bt176	g0.07	g0.1	+
<sup>a</sup> Bt11	f0.1	-	+
<sup>c</sup> Bt11	f0.01	f0.1	+
<sup>a</sup> Mon810	f0.1	-	+
<sup>c</sup> Mon810	f0.01	f0.1	+
<sup>a</sup> T25	f0.1	-	+
<sup>c</sup> T25	f0.01	f0.1	+
<sup>a</sup> CBH351	f0.1	-	+

<sup>a</sup> Qualitative analysis by conventional PCR

<sup>b</sup> Qualitative analysis by real-time PCR

<sup>c</sup> Absolute quantification by real-time PCR

<sup>d</sup> Relative quantification by real-time PCR

f as the kit supplier (but they were verified too)

g it was determined in raw and semi-processed matrixes (e.g. maize granules and maize flour)

'+' method spesifity was determined by different matrix.

'-' it could not be calculated

Trace (TR) indicates presence of trace amounts of GM DNA, i.e. a very weak signal represents a small amount presenting in some of the PCR reactions. It should be noted that, although some of the signals for the samples marked as '+', they were quite weak. Positive signals were detected for each of the three PCR tests performed, confirming the presence of GM DNA in the samples. DNA was detected in trace positive

samples, so the percentage is simply recorded as trace.

For the transgenic maize lines Bt11, CBH351, Mon810, Bt176 and T25, reference materials were provided with the detection kits and were used for the qualitative methods. The kit supplier indicated a detection limit of 0.1%. For the transgenic maize lines Bt176, LOD (Limit of Detection) and

LOQ (Limit of Quantification) were determined 0.07% and 0.1% by relative quantification, respectively.

Also the LOQ (for the absolute quantification) in the determination of quantitative levels of Bt176, Bt11, Mon810 and T25 was also sensitivity as being 0.1%. Additionally, the quantitation limits were set to 50 copies of target sequence, meaning that target sequences under 50 copies were showed as trace (TR).

### Impact of processing

Sufficient DNA of appropriate quality could be isolated from collected samples using the described extraction procedures. The concentration of extracted DNA among the processed samples varied significantly. As a result of various treatments during food processing, the quantity and quality of extracted DNA is much lower in processed food samples than in raw samples. It has been reported that the heating (Pauli et al., 2000; Bergerova et al., 2008), high

pressure and the other physical actions involved in processing cause degradation of high molecular weight DNA (Pauli et al., 2000; Badulescu et al., 2008).

### The presence of maize in Turkey maize products

The presence of maize was checked with the maize zein specific primer pair Zein3/Zein4 using conventional PCR. Additionally, the zein gene was determined by real-time PCR too. An amplicon of the expected size in raw samples (maize kernels) and flour samples was observed using conventional PCR. The Zein Gene in other samples was not identified by conventional PCR except for two chips samples. In contrast, the Zein Gene was detected (not quantified) using real-time PCR in all samples during the quantitative analyses. No amplification was observed in an extraction negative control, or with a PCR control not containing target DNA. Results are compiled in Table 2.

Table 2. Zein Gene and GM screening test results by conventional and real-time PCR

Samples	Number of Samples	Plant Specific PCR (Positive sample)			GM Screening Test (Positive sample)			
		<i>Zein</i> <sup>a</sup>	<i>Zein</i> <sup>a</sup>	<i>Plant gene</i> <sup>b</sup>	<i>35S</i> <sup>a</sup>	<i>NOS</i> <sup>a</sup>	<i>35S</i> <sup>b</sup>	<i>NOS</i> <sup>b</sup>
Maize flour	16	16	16	16	1	1	5	4
Maize starch	16	-	16	16	-	-	-	1
Imported feed containing maize granules	5	5	5	5	-	-	1	1
Local feed containing maize granules	14	14	14	14	1	1	1	1
Corn flakes	16	-	16	16	-	-	-	3
Corn chips	16	2	16	16	-	-	3	3
Local food products containing maize granules	7	7	7	7	-	-	-	-
Total number of samples	90	44	90	90	2	2	10	13

<sup>a</sup>Conventional PCR

<sup>b</sup>Real-time PCR

### The presence of 35S promoter and NOS terminator in Turkish food and feed samples

Most of the commercialized GM crops contain either a CaMV 35S promoter or a NOS terminator (Tozzini et al., 2000; Kok et al., 2000; BATS, 2003; Abdel-Mawgood et al., 2003). Commonly used screening assays for GM plants are based on detecting CaMV 35S promoter and/or NOS terminator sequences using either conventional or real-time PCR (Ahmed, 2002; Holst-Jensen, 2003). The suitability of the DNA solutions for PCR reactions was examined with a plant gene according to the manufacturer's instructions.

The results indicated that transgenic sequences were found in analyzed raw and processed materials. The CaMV 35S promoter and/or NOS terminator were seen in two samples (2.2%) by conventional PCR and in 14 samples (15.5 %) by real-time PCR (Table 2).

In another study were done by Gurakan et. all in Turkey (Gurakan et al., 2011). Out of 31 samples tested, 11 were CaMV 35S promoter positive. Of these 11 samples, 7 sample were both CaMV 35S promoter and NOS terminator positive. However they could not found any CaMV 35S promoter and NOS terminator positive sample in highly processed maize products such as; maize starch and corn flakes ect. In a study done in maize samples obtained in Poland, 61% of 87 samples were GM-positive using as reference genetic elements the CaMV 35S promoter and NOS terminator (Sieradzki et al., 2006). In another study, three products from 24 food samples were positive with 35S promoter in Egypt (Oraby et al., 2005). Similarly, in a study conducted in Saudi Arabia about detection of GM foods on the market 202 samples were investigated and according to the results, 9% of total samples and %6 of corn and corn products were GM positive (Abdel-Mawgood et al., 2010).

The kappa ( $\kappa$ ) value is a statistically determined indicator of the agreement between methods for the results from the same sample for both the application of conventional PCR and of real-time PCR in the determination of CaMV 35S promoter

and NOS terminator genetic elements. Results are presented in Table 3. For flour samples, according to the NOS terminator results, there is moderate agreement ( $\kappa=0.600$ ) between the two methods for this genetic element, but with the CaMV 35S promoter results shows only fair agreement ( $\kappa=0.256$ ). According to 35S promoter results, there is substantial agreement ( $\kappa=0.642$ ) between the methods when analyzing maize kernels. Because of the inadequate number of positive samples seen with conventional PCR, this statistical analysis could not be applied to other product groups such as chips and cornflakes.

Table 3. Kappa test results to determine method agreements between conventional PCR and real-time PCR methods for 35S promoter and NOS terminator regions ( $n=16$ ; *maize samples*,  $n=16$ ; *maize flour*;  $n=19$ ; *maize kernels*) and kappa test results to determine method agreements between quantitative and qualitative results for Bt176, Bt11, Mon810, T25 lines ( $n=14$ )

Samples	Kappa Value ( $\kappa^a$ )	Approx. Sig.
Maize Flour (NOS)	0.600	0.009
Maize Flour (35S)	0.256	0.126
Maize Kernels (35S)	0.642	0.003
Bt176-1	0.169	0.255
Bt176-2	0.169	0.255
Bt11	0.176	0.469
Mon810	0.553	0.036

$\kappa^a$  ( $\leq 0.10$ ; no agreement, 0.11-0.20; slight agreement, 0.21-0.40; fair agreement, 0.41-0.60; moderate agreement, 0.61-0.80; substantial agreement, 0.81-1; almost perfect agreement)

### The presence of maize lines Bt176, Bt11, Mon810, T25 and CBH351 in Turkish food and feed samples

Using specific kits (Tepnel Biosystems, GMO Selection Module) for conventional PCR in the detection of Bt176, Bt11, Mon810, T25 and CBH351, 14 in 90 samples obtained from different locations in Turkey were found to be GM-positive. The results of the qualitative

analysis for all GM-positive samples are given in Table 2. GM variety testing was performed on those samples in which a positive or trace GM signal was detected. This PCR tests identified specific genes used in GM maize crops.

The amplified sequence of 211 bp in length for Bt176 was observed in two maize flour samples (2.2 %); one of the samples had trace amounts of Bt176 maize as well. Amplicons of size 186 bp for Bt11 was seen in three maize samples, all of which had trace amount of Bt11 as well. For Mon810,

an amplicon of size 203 bp was found in five samples, three of which were also found to have trace amounts of Mon810. The amplified sequences of 243 and 250 bp for T25 and CBH351, respectively, were not observed in any samples (but were observed in positive controls). Of the varieties listed in the categories in Table 4, two (Bt11, Mon810) are approved for food and feed use within the EU (James, 2010; Aguilera et al., 2008; Goerlich et al., 2008, CERA, 2018) and T25 is approved for feed use in the U.S (CERA, 2018).

Table 4. Screening test results by conventional PCR for GM maize variety

Tested raw materials and processed products	Number of samples	Bt176	Bt11	CBH351 (Star-Link™)	Mon810	T25
Maize flour	16	1 <sup>D</sup> ,1 <sup>TR</sup>	-	-	1 <sup>D</sup> ,1 <sup>TR</sup>	-
Maize starch	16	-	-	-	-	-
Imported feed containing maize granules	5	-	-	-	1 <sup>TR</sup>	-
Corn flakes	16	-	1 <sup>TR</sup>	-	-	-
Corn chips	16	-	2 <sup>TR</sup>	-	1 <sup>TR</sup>	-
Local feed containing maize granules	14	-	-	-	1 <sup>D</sup>	-
Local food products containing maize granules	7	-	-	-	-	-
Total number of samples	90	1 <sup>D</sup> ,1 <sup>TR</sup>	3 <sup>TR</sup>	-	2 <sup>D</sup> ,3 <sup>TR</sup>	-

D= GM material detected

TR= Trace amounts of GM material detected

(-) = No GM material detected

Gurakan et. al. (2011) 31 samples analyzed for Bt11 maize using *ivs/pat* region specific primer in Turkey and 8 of them showed an amplicon of 189 bp, confirming the presence of Bt11 maize in Turkey. Sanhoty et al. (2002) reported that 15% of 40 maize samples tested positive for Bt176, and 12.5% were positive for Bt11 maize; additionally, it was found that Bt176, Bt11, and Star- Link™ were present as mixtures in four samples in Egypt market. However, the maize lines T25 and Mon810 were not identified. Several countries used survey studies to monitor the presence of event specific GMO by qualitative analysis. For instance, Trembl and Arisi (2008) detected three Roundup Ready soybeans of 47 meat samples in Brazilian market by nested PCR method. In Singapore, three Bt rice and four LLrice601 were found among 267 imported rice product samples (Wang et al., 2008).

### The quantitative analysis of maize lines Bt176, Bt11, Mon810 and T25

Positive samples were also subjected to quantitative analysis to determine the amount of GM maize DNA present. These results (Table 5 and Table 6) represent the percentage of GM maize DNA relative to non-GM maize DNA in each sample tested. However, due to the limitations of the technology with respect to low levels of target DNA, it was not possible to quantify the amount of GM maize DNA in trace positive samples, so the percentage was simply recorded as trace (TR). For example; the quantitation limits were set to 50 copies of target sequence, meaning that target sequences under 50 copies were showed as trace (TR).

Table 5. General evaluation of the results-1

Samples	<sup>a</sup> Zein Gene	<sup>a</sup> Plant gene	<sup>a</sup> 35S	<sup>a</sup> NOS	<sup>b</sup> 35S	<sup>b</sup> NOS
MF5	+	+	+	+	+	+
MF6	+	+	-	-	+	-
MF8	+	+	-	-	+	+
MF11	+	+	-	-	+	+
MF16	+	+	-	-	+	+
MK16	+	+	+	+	+	+
MK18	+	+	-	-	+	+
MS1	-	+	-	-	-	+
MC2	-	+	-	-	+	+
MC4	-	+	-	-	+	+
MC10	-	+	-	-	+	+
MCo1	-	+	-	-	-	+
MCo5	-	+	-	-	-	+
MCo7	-	+	-	-	-	+

<sup>a</sup> Qualitative analysis by conventional PCR

<sup>b</sup> Qualitative analysis by real-time PCR

<sup>c</sup> Absolute quantification by real-time PCR

<sup>d</sup> Relative quantification by real-time PCR

‘+’ GM material detected

‘-’ no GM material detected

MF=Maize Flour, MK=Maize Kernel, MS=Maize Starch, MC=Maize Chips, MCo=Maize Cornflakes

Table 6. General evaluation of the results-2

Samples	<sup>a</sup> Bt176	<sup>c</sup> Bt176	<sup>d</sup> Bt176	<sup>a</sup> Bt11	<sup>c</sup> Bt11	<sup>a</sup> Mon810	<sup>c</sup> Mon810	<sup>a</sup> T25	<sup>c</sup> T25	<sup>a</sup> CBH351
MF5	+	0.14	0.05	+	1.48	+	2.83	-	0.16	-
MF6	-	-	TR	-	-	-	-	-	-	-
MF8	-	-	TR	-	-	TR	-	-	TR	-
MF11	TR	TR	0.01	-	TR	-	TR	-	-	-
MF16	-	-	TR	-	-	-	-	-	-	-
MK16	-	TR	0.04	-	-	+	TR	-	-	-
MK18	-	TR	TR	-	-	TR	TR	-	-	-
MS1	-	ND	TR	-	-	-	-	-	-	-
MC2	-	TR	ND	TR	-	TR	TR	-	ND	-
MC4	-	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-
MC10	-	ND	ND	TR	-	-	ND	-	ND	-
MCo1	-	ND	ND	TR	-	-	ND	-	ND	-
MCo5	-	-	TR	-	-	-	ND	-	ND	-
MCo7	-	ND	ND	-	-	-	ND	-	ND	-

<sup>a</sup> Qualitative analysis by conventional PCR

<sup>b</sup> Qualitative analysis by real-time PCR

<sup>c</sup> Absolute quantification by real-time PCR

<sup>d</sup> Relative quantification by real-time PCR

‘+’ GM material detected

‘-’ no GM material detected

‘TR’ trace amounts

ND: Not detected (It is not appropriate result or inadequate copy number)

MF=Maize Flour, MK=Maize Kernel, MS=Maize Starch, MC=Maize Chips, MCo=Maize Cornflakes

Two samples of maize kernel for feed (10.5%) were tested positive for Bt176 and Mon810. One of the samples was imported from Ukraine, and the sample had trace amounts of both maize lines. The other sample has Bt176 (0.04% <LOD and LOQ) and a trace amount of Mon810; this sample was found to be domestic maize obtained from Adana, Turkey, which is a region designated for the trial productions of GM maize, cotton, and other crops. The GM maize lines tested were not observed with the other maize kernels.

Five maize flours were tested positive for Bt176 (31.3 % of samples) but the results of the relative and absolute PCR quantification were not similar. For instance, a relative result of 0.14% (>LOQ) and an absolute result of 0.05% (an average being 0.09%, <LOQ) for Bt176 were seen in the same maize flour sample (MF5). Similarly, another maize flour sample (MF8) had a 0.01% (<LOD and LOQ) relative quantification for Bt176, but a trace amount for the absolute quantification. The results were expected to be similar because relative GM content of the samples was obtained by both of the methods. Thus, results for Bt176 absolute and relative quantifications levels were tested using a paired *t* test to assess whether there was any significant difference between methods (the null hypothesis being there is no difference). The paired *t* test results indicate that there is no statistical difference between mean values of relative quantification and the mean values of absolute quantification of the samples (flours, feeds, chips and cornflakes).

Additionally, more than one GM maize line was observed in three samples of maize flours. For example; an average of 0.01% Bt176 (<LOD and LOQ), 1.48% Bt11, 2.83% Mon810 and 0.16% T25, for a total of 4.67% GM maize lines, were tested in the same maize flour sample (MF5). The quantity of the sample was greater than 0.9%, which is the limit at which labeling is required, according to The GM Food and Feed Regulation (EC) No. 1829/2003. Trace amounts of Bt176 (or 0.01% <LOD and LOQ), Bt11, Mon810 and T25 maize line were found in another maize flour sample (MF8). Trace amounts of Bt176 were detected (while the other lines were not) in a

starch sample. One sample of chips had trace amounts of Mon810 and Bt176, while the other samples of chips and corn flakes were negative for GM lines (either the results were not inconclusive and/or adequate copy numbers were not found).

A commonly occurring phenomenon is the occurrence of more than one transformation in the same plant. This is the case, e.g., for several GM maize hybrid currently awaiting marketing approval in the European Union (TemaNord., 2004; GMO-Compass, 2012). Although there are publications about hybrid formation Mon810 and Bt11 with the other events, no hybrid forming between BT11 and Mon810 was recorded (GMO-Compass, 2012). Additionally no hybrid forming was recorded about CBH351, T25 and Bt176 too. Unless a specific marker is introduced in the hybrid between two GM plants, it is not possible to determine whether a given sample contains the hybrid or a mixture between the two plants (TemaNord., 2004).

Aside from the results presented here, the presence of GM elements in sweet corn and popcorn (FSAI, 2004), and tortilla chips and taco shells (FSAI, 2001) were reported for samples found in Ireland: of 26 samples, 19 were positive for presence of GM maize, and trace levels of GM DNA were detected in eight samples. Sanhoty et al. (2002) found levels of 0.1%, 0.3%, 0.6% and 0.8% of StarLink in four samples of 40 maize products in Egypt. In 2007, the Bavarian Health and Food Safety Authority detected transgenes sequences of 63 corn and 19 rape-seed samples below 0.1% (Goerlich et al., 2008). In Romania and Serbia, surveys were conducted especially for RR soybean. In Romania, Zaulet et al. (2008) investigated 118 soybean and foods derived soybean samples by qualitative and quantitative PCR methods. They detected more than 0.9% RRS in 53 samples. In contrast, 12 products of 50 processed meat products gave positive results with 35S promoter but all of them contained RR soya below 0.1% in Serbia (Taski-Ajdukovic et al., 2008).

Turkey, there have only been a few studies to detect GM foods and/or feeds in market-supplied

products. The results indicated that in almost all soy bean products (Aril & Çakır, 2008; Ertugrul et al., 2008; Cetiner, et al., 2009), and some maize products (Ertugrul et al. 2008) were GM positive.

Because there were differences between the quantitative and qualitative results for the methods used to evaluate Bt176, Bt11, Mon810, T25, the agreement between these methods was statistically investigated using the Kappa statistic method (Table 3). According to the Bt176 results, there was slight agreement ( $\kappa = 0.169$ ) between conventional PCR results and both relative and absolute quantification methods. Similarly slight agreement ( $\kappa = 0.176$ ) was found in the methods used to evaluate Bt11. A moderate agreement ( $\kappa = 0.553$ ) was observed between conventional and real-time methods to determine Mon810. Because of inadequate count of positive samples in conventional PCR for evaluating the T25 region, statistical analysis were not done to evaluate method agreement.

## CONCLUSION

In conclusion, the health, socio-economic and environmental issues related to the existence of GM materials in food and feedstuff is discussed major concern of bio-safety in many nations. Labeling of GM products is essential to provide information to consumers where there is no wide consensus about the (long-term) safety of GM products. Maize is important in human nutrition in Turkey, and our results clearly demonstrate the presence of GM maize in the Turkish food market and in feed industry. The strict application of EU directives would have required the labeling of one corn flour sample (MF5) as GM-derived. The others were under the limit required for labeling (0.9%) although GM genetic elements were clearly detected.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by The Scientific and Technologic Research Council of Turkey (Project # 1070001) and Ankara Province Control Laboratory. Authors would like to thank Ozgur Koskan for statistic analyses, Remziye Yilmaz for project preparation and Zeynep Guzel-Seydim for manuscript preparation.

## REFERENCES

- Abdel-Mawgood, A.; Gassem, M. A.; Alsadon, A. A.; Alghamdi, S. S. & Al-Doss, A. A. (2010). Monitoring of genetically modified food in Saudi Arabia. *African Journal of Food Science*, 4(8) pp. 536-540.
- Aguilera, M.; Querci, M.; Balla, B.; Pastor, S.; Ermolli, M. & Van den Eede, G. (2008). Genetic and phenotypic stability of the Mon810 trait in commercial seed maize varieties: qualitative and quantitative approaches. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- Ahmed, F.E. (2002). Detection of genetically modified organisms in food. *Trends in Biotechnol.* 20, 215-223.
- Aril, S. & Çakır, O. (2008). Detection of genetically modified soy in processed foods sold commercially in Turkey by PCR based method. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- Badulescu, L.; Dobrescu, A.; Ispas, D.; Delian, E. & Burzo, I. (2008). The evaluation of test portion and sample soybean matrix influences on the DNA quantification by real-Time PCR. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June, Villa Erba, Como, Italy.
- Baran, M. & Yilmaz, R. (2008). Guest Editorial.. The biosafety policy on genetically modified organisms in Turkey. *Environ. Biosafety Res.*, 7, 57-59.
- BATS (2003). BATS (Centre for biosafety and sustainability) report. Genetically modified (GM) crops: Molecular and regulatory details. 2, pp.192.
- Berben, G. & Dardenne, P. (2001). Traçage et authentification des produits à base d'organismes génétiquement modifiés, Recherches financées par les SSTC dans le cadre du programme de "Recherche pré-nominative dans le secteur alimentaire", CRA-W, rapport finale contract NP/42/026.



- Bergerova, E.; Hrnčirova, Z.; Stankovska, M.; Laposovska, M. & Siekel, P. (2008). Effect of heat on DNA degradation in selected food plant matrices. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June, Villa Erba, Como, Italy.
- Biosafety Commission. (2011). Official Journal. 27827. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/01/20110126-9.htm>
- Biosafety Law. (2010). No. 5977. Official Journal. No. 27533. (26.03.2010). In force 26 September 2010.
- CERA (2018). GM Crop Database; Global status of approved genetically modified plants. *International Life Sciences Institute*. <http://cera-gmc.org>.
- Cetiner, S.; Budak, H. & Ertugrul, A. (2009). A comprehensive survey of genetically modified products in the Turkish market using DNA based qualitative and quantitative techniques. *Abstract Book of 3<sup>rd</sup> International Congress on Food and Nutrition*. 22-25 April. p.56 Antalya, Turkey.
- Demeke, T. & Ratmayaka, I. (2008). Effect of DNA extraction and purification methods on Real-Time quantitative PCR analysis of Roundup Ready soybean. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- EC. (1997). Regulation (EC) No. 258/97 of the European Parliament and of the Council, concerning the novel foods and novel food ingredients. 27 January 1997.
- EC. (2003). Regulation (EC) No. 1830/2003., of the European Parliament and of the Council, concerning the Traceability and Labeling of Genetically Modified Organisms and the Traceability of Food and Feed Products Produced from Genetically Modified Organisms and Amending Directive 2001/18/EC. 15798/1/ 02 REV1. European Council, Brussels. In force 18 April 2004.
- Ertugrul, A.; Budak, H. & Cetiner, S. (2008). The DNA based qualitative and quantitative analysis of genetically modified products in Turkish market. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- Food Standard Agency. (2004). GM Labeling. <http://www.food.gov.uk>
- FSAI (2001). Survey of Tortilla Chips and Taco Shells for Genetically Modified Ingredients. FSAI (The Food Safety Authority of Ireland). Ireland. <http://www.fsai.ie>
- FSAI (2004). GM Maize Survey. Sweet corn and Popcorn. FSAI (The Food Safety Authority of Ireland). Ireland. <http://www.fsai.ie>
- GMO-Compass (2012). GMO database. Genetically modified food and feed: Authorization in the EU. . <http://www.gmo-compass.org/eng/gmo/db/>.
- Goerlich, O.; Müller, A.; Hilten, M. & Busch, U. (2008). Analysis of conventional seed for genetically modified components in Bavaria. *Abstract Book of 1st Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- Guillaume, P. ; Gruère, S. & Rao, R. (2007). A review of international labeling policies of genetically modified food to evaluate India's proposed rule. *AgBioForum*, 10(1), 51-64.
- Gurakan, C.G., Aydın, G. & Yilmaz, R. (2011) Qualitative detection of GM maize (Bt11) in food and feed sold commercially in Turkey by PCR based methods. *Indian Journal of Biotechnology*. 10, 143-146.
- Holst-Jensen A.; Rønning S. B.; Løvseth, A. & Berdal, K. G. (2003). PCR technology for screening and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal. Chem.*, 375, 985-993.
- IIA.MSU (2007). Institute of International Agriculture. Michigan State University. Biosafety and risk assessment in agricultural biotechnology. *A workbook for technical training*. Part 5: Monitoring. <http://www.iaa.msu.edu>.

- James, C. (2010). Brief 42: Global status of commercialized Biotech/GM crops: ISAAA Briefs. Ithaca, NY. (<http://www.isaaa.org>).
- Kok J.E.; Scholtens, I.M.J.; Van Hoef, A.M.A. & Aarts, H.J.M. (2000). Detection of genetically modified DNA in food. 1-3. [www.ifis.org](http://www.ifis.org).
- Lipp, M.; Bluth, A.; Eyguem, F.; Kruse, L.; Schimmel, H.; Van Den Eede, G. & Anklam, E. (2001). Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research and Technology*. 212, 497-504
- Minegishi, Y.; Kurosawa, Y.; Nishikawa, C.; Doi, N.; Kanayama, S.; Kodama, T.; Kasahara, M.; Matsuoka, T.; Watanabe, T.; Akiyama, H.; Teshima, R.; Mano, J.; Furui, S.; Hino, An. & Kitta, K. (2008). Evaluation of a new DNA extraction method for PCR detection of genetically modified soybean. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- OCA. (2005). Organic Consumers Association. Organic Detailed Description on New GMO Labeling Rules in EU. [www.organicconsumers.org](http://www.organicconsumers.org).
- Oraby, H.A.S; Hassan, A.A. & Abou Mossallam, A. A. (2005). Screening food products for the presence of CaMV 35S promoter and NOS terminator. *J. Sci. Food Agric.*, 85, 1974-1980.
- Papazova, N.; Taverniers, I.; Van Houdth, L. & De Loose, M. (2008). Study on parameters influencing the quality of DNA for GMO quantification. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- Pauli, U.; Liniger, M.; Zimmerman, A. & Schrott, (2000). M. Extraction and amplification of DNA from 55 foodstuffs. *Mitt. Lebensm. Hyg.* 91, 491-501.
- Querci, M., Van den Eede, G. & Jermini, M. (2002). The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms. European Commission. *Joint Research Centre Manual*. Part 2, 5-8.
- Roger, S. O. & Bendich, A. J. (1985). Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and plant tissues. *Plant Mol. Biol.* 5, 69-76.
- Sanhoty, R. E.; Broll, H.; Grohmann, L.; Linke, B.; Spiegelberg, A.; K. W. & Zagon, J. (2002). Genetically modified maize and soybean on the Egyptian food market. *Nahrung Food*, 46 (5), 360-363.
- Sheskin, D.J. (2000). Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures, 2<sup>nd</sup> ed. Chapman 8. Hall/CRC.
- Sieradzki, Z.; Walczak, M. & Kwiatek, K. (2006). Occurrence of genetically modified maize and soybean in animal feedingstuffs. *Bull Vet Inst. Pulawy*. 51, 567-570.
- Sim, J. & Wright, C. C. (2005). The Kappa Statistic in reliability studies: Use, interpretation, and sample size requirements. *Physical Therapy*. 85, 257-268.
- Taski-Ajdukovic, K.; Nolic, Z.; Vujokovic, M., Milosevic, M.; Ingjatov, M. & Petrovic, D. (2008). Monitoring of Roundup Ready soybean in processed meat product on the Serbia food market. *Abstract Book of 1<sup>st</sup> Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.
- TBDDM (2018). Türkiye Biyogüvenlik Bilgi Değişim Mekanizması. [www.tbddm.gov.tr](http://www.tbddm.gov.tr)
- TemaNord. (2004). Control of GMO Content in Seed and Feed- possibilities and limitations. TemaNord 2004:541. Nordic Council of Ministers, Copenhagen. 74p.
- Tozzini, A.; Martinez, M. C.; Lucca, M. F.; Rovere, C. & Distefano, A. J. (2000). Semiquantative detection of genetically modified grain based on CaMV 35S promoter amplification. Technical Note. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3, 149-153.
- Treml, D. & Arisi, A. C. M. (2008). Monitoring of Roundup Ready soybean in processed meat

products sold in Brazilian markets from 2007 to 2008. Abstract Book of 1st Global Conference on GMO Analysis. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.

TurkStat. (2010). Turkish Statistical Institute. Foreign trade. No.151. [www.turkstat.gov.tr](http://www.turkstat.gov.tr).

Wang, Z. M.; Koh, M. C.; Teo, E., Liao, S. H.; Chiew, K. T. & Chew, S. T. (2008). A practical analytical approach to screen for GM presence in rice products. Abstract Book of 1st Global Conference on GMO Analysis. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.

Zaulet, M.; Georgescu, S.; Petcu, C.; Popovici, A.; Tanasuica, R. & Rebedea, M. (2008). PCR technology for screening and quantification of genetically modified soybeans from foods. *Abstract Book of 1st Global Conference on GMO Analysis*. (Organized by the Joint Research Centre of the European Commission) 24-27 June. Villa Erba, Como, Italy.

## ŞEKERLEME TEKNOLOJİSİNDE FONKSİYONEL ÜRÜN ÜRETİMİ

Recep Güneş<sup>1\*</sup>, İbrahim Palabıyık<sup>2</sup>, Şefik Kurultay<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tekirdağ, Türkiye

Geliş / Received: 09.08.2018; Kabul / Accepted: 28.10.2018; Online baskı / Published online: 03.12.2018

Güneş, R., Palabıyık, İ., Kurultay, Ş. (2018). Şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi. GIDA (2018) 43 (6): 984-1001 doi: 10.15237/gida.GD18088

Güneş, R., Palabıyık, İ., Kurultay, Ş. (2018). Functional food production in the confectionery technology. GIDA (2018) 43 (6): 984-1001 doi: 10.15237/gida.GD18088

### ÖZ

Şekerleme endüstrisi, listenin neredeyse sınırsız olduğu, her yaş grubu tarafından talep gören, açlık ve susuzluğu gidermenin ötesinde özellikle haz almak amacıyla tüketilen çeşitli ürünleri içermektedir. Söz konusu ürünlerin yüksek kalorili olması, aşırı tüketimlerinin özellikle fazla şeker alımı ile ilişkilendirilebilen çeşitli hastalıklara neden olması ve tüketicilerin daha sağlıklı ürün gruplarına yönelmesi gibi nedenler, diğer gıda sektörlerinde olduğu gibi bu sektörde de üretilen ürünlere yönelik birtakım değişikliklerin yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu bakımdan günümüzde araştırmacılar, sektörde var olan şekerleme ürünlerinin üretiminde ve ürün içeriğinde değişiklikler yapıp, farklı ve yenilikçi yaklaşımlar kullanarak henüz yeni olan fonksiyonel şekerleme ürünlerinin üretimi üzerinde çalışmaktadırlar. Bu çalışma kapsamında, şekerleme endüstrisinde yoğun bir şekilde üretilen ve oldukça rağbet gören, sert şeker, yumuşak şeker, çikolata ve sakız ürünlerine fonksiyonellik kazandırılması amacıyla yapılan bilimsel çalışmalar derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Şekerleme, fonksiyonel şekerleme, sert şekerleme, yumuşak şekerleme, çikolata, sakız

### FUNCTIONAL FOOD PRODUCTION IN THE CONFECTIONERY TECHNOLOGY

#### ABSTRACT

The confectionery industry includes a wide variety of products for which the list is almost endless, demanded by all age groups and consumed especially for pleasure beyond hunger and thirst. The high calorific value of these products, their excessive consumption leading to various diseases that can be associated with high sugar intake and consumer willingness to buy healthy products have necessitated a number of changes in the sector, like in other food branches. In this regard, researchers are currently working on the production of functional confectionery products that are new in the industry by using innovative approaches and making changes in the production process and in the formulation of conventional confectionery products. Within the scope of this study, it is aimed to review scientific studies that were carried out in order to gain functionality to the hard candy, soft candy, chocolate and chewing gum products which are highly preferred and intensively produced in the confectionery industry.

**Keywords:** Confectionery, functional confectionery, hard candy, soft candy, chocolate, chewing gum

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ recepunes@klu.edu.tr,

☎ (+90) 537 541 0656

☎ (+90) 288 214 0516

## GİRİŞ

Günümüzde beslenme ve sağlık arasındaki ilişkiye yönelik farkındalık seviyesindeki artış, global düzeyde tüketici tercih ve taleplerini önemli ölçüde değiştirmiştir (Szakály vd., 2012; Harwood, 2013). Bu bakımdan gıdalar sadece açlığı gidermek ve vücut için gerekli besin maddelerini sağlamaktan öte, aynı zamanda beslenme ile ilgili çeşitli sağlık risklerini azaltmak veya sağlığı desteklemek, tüketicilerin fiziksel ve zihinsel refah düzeylerini arttırmak için de formüle edilmektedir (Siró vd., 2008). Özellikle kardiyovasküler hastalıklar ve obezite olmak üzere, beslenme ile ilişkilendirilebilen hastalıkların görülme sıklığındaki artış, tüketicilerin çeşitli biyoaktif bileşenler ile takviye edilen fonksiyonel gıdalara yönelik ilgisini istikrarlı bir şekilde arttırmaktadır. Bu nedenle kabul edilebilir nitelik ve düzeydeki duysal özelliklere sahip tüketime hazır (ready-to-eat) gıdalarda, “daha sağlıklı” bir şekilde üretilmiş olanlar yüksek oranda talep görmektedir (De Morais vd., 2015).

Fonksiyonel gıdalar, besleyicilik değerinin ötesinde sağlık üzerine ilave faydalar sağlayan bitkisel ya da hayvansal kaynaklı biyoaktif bileşenler içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Saini, 2017). Söz konusu gıdaları içeren sektör, vitaminler, mineraller, karbonhidratlar, protein ve lif gibi esansiyel besinlerin alımından probiyotikler, prebiyotikler, fitokimyasallar ve omega-3 yağ asitleri gibi çeşitli takviyelerin diyetle eklenmesine kadar uzanmaktadır. Günümüzde, fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş gıdalar arasında başlıcalarının çeşitli süt ürünleri, tahıl ürünleri, et ürünleri, içecekler, şekerlemeler, çerezler, ezmeler ve bebek mamalarının olduğu belirtilebilir (Das vd., 2016; Hunter ve Hegele, 2017; Pogorzelska-Nowicka vd., 2018).

Şekerleme endüstrisi oldukça geniş bir ürün yelpazesine sahiptir (Dorn vd., 2015). Genel olarak üretilen ürünler arasında yumuşak veya sert şekerler, dolgulu-dolgunsuz şekerler, çeşitli sakızlar, farklı çikolata ve türevi ürünler, kaplamalı ürünler, drajeler yer almaktadır (Manjula ve Suneetha, 2014). Tüm bu ürün farklılığına rağmen, şekerleme endüstrisinde üretilen ürünlerin yapısında temel bileşen olarak genellikle

çeşitli karbonhidratlar bulunmaktadır. Şekerleme imalatında büyük önemi olan bu karbonhidratlar; monosakkaritler, oligosakkaritler ve polisakkaritler arasında yer almaktadır. Şeker kamışı veya şeker pancarından elde edilen sakkaroz (sükroz, çay şekeri), glikoz (mısır şurubu, invert şeker, dekstroz veya yüksek fruktoz şurubu şekerleme üretiminde en sık kullanılan tatlandırıcılardır (Hartel vd., 2018). Diğer yandan yakın zamanda önemli bir eğilimin olduğu diyabetik ürünlerin üretiminde ise sorbitol, mannitol, ksilitol, izomalt, maltitol gibi şeker alkollerini veya bunlarla birlikte sukraloz, aspartam, asesülfam potasyum gibi yüksek yoğunluklu yapay tatlandırıcılar da kullanılmaktadır (Chattopadhyay vd., 2014; Grembecka, 2015). Şekerleme ürünlerinin yapısında yer alan tüm bu tatlandırıcıların ürün tekstürünü etkileyen çeşitli kimyasal ve fiziksel özellikler göstermesi, prostele sıcaklığın dikkatli kontrolü ve farklı maddelerin ilavesiyle listede sınırın neredeyse olmadığı çok çeşitli şekerleme ürünleri üretilebilmektedir (Hinkova vd., 2015).

Şekerleme ürünleri, özellikle çocuklar olmak üzere her yaş grubu tarafından büyük ilgi ve talep gören, yüksek kalorili gıdaların büyük bir grubunu temsil etmektedir. Söz konusu ürünlerin en önemli dezavantajı, ürün formülasyonunda besleyici değeri olan veya olmayan tatlandırıcılar yer alırken, çeşitli makro ve mikro elementler, vitaminler ve karotenoidler gibi biyolojik olarak önemli aktif maddelerin bulunmamasıdır (Dorn vd., 2015). Bu ürünlerin aşırı tüketimi diyetin besin değerini ve diyetle alınan enerji dengesini bozmaktadır. Aynı zamanda çeşitli araştırmalarda yüksek kalori alımının, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve bazı kanser türleri gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğunun belirtilmesi (Larsson vd., 2006; Goran vd., 2013; Malik vd., 2013), bu ürün grubunun tüketiciler tarafından olumsuz eleştirilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle sağlığın iyileştirilmesi ve korunmasına, hastalıkların önlenmesine veya geciktirilmesine odaklanan modern beslenme araştırmalarından yola çıkarak, diğer sektörlerde olduğu gibi şekerleme sektöründe de üretilen ürünlere yönelik yeni formülasyonların ve özel pazarlama stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu

bağlamda, özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ekonomilerde, biyoaktif bileşenlerin dağıtımı için çeşitli şekerlemelerin kullanımı anahtar unsurlardan biri olarak görülmektedir (Belscak-Cvitanovic vd., 2012). Ayrıca, bazı şekerleme ürünlerinin sahip olduğu fiziko-kimyasal özellikler de (düşük su aktivitesi, bağl nem, pH vb.) bu amaçla kullanıma yönelik önemli avantajlar sunmaktadır. Diğer yandan, tüketicilerin gıda pazarında var olan klasik şekerlemelerden ziyade fonksiyonel şekerleme ürünlerine yönelik önemli düzeyde talepleri de mevcuttur (Manjula ve Suneetha, 2014; Kharat ve Deshpande, 2017). Bu bakımdan genel itibarıyla üretilmesi planlanan fonksiyonel şekerlemeler, “standart ürün içeriğine belirli bir fizyolojik fonksiyonu yerine getiren ya da potansiyel bir sağlık yararı olan bir bileşenin eklenmesi veya var olan herhangi bir bileşenin yerine ikamesi şeklinde üretilen şekerlemeler” olarak tanımlanabilir (Rumora vd., 2013). Fonksiyonel şekerleme bileşiminde kullanılacak potansiyel biyoaktif bileşenler ise, vitaminler, mineraller, çözünür veya çözünmeyen besinsel lifler, çeşitli bitki ekstraktları, prebiyotikler, probiyotikler ve diğer fitokimyasallar olarak belirtilebilir.

Tüm bu anlatılanlar doğrultusunda, tüketici isteklerini karşılayabilmek ve toplum sağlığına katkıda bulunabilmek için, fonksiyonel ürünlere doğru güçlü bir eğilimin olduğu şekerleme alanında doğal biyoaktif maddeler açısından zengin ürünler geliştirmek oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamında, şekerleme sektöründe geniş bir yelpazede üretilen sert şeker, yumuşak şeker, çikolata ve sakız esaslı ürünlere fonksiyonellik kazandırmak amacıyla yapılan çeşitli araştırmalar incelenmiş olup, elde edilen dikkat çekici bulgular derlenmiştir.

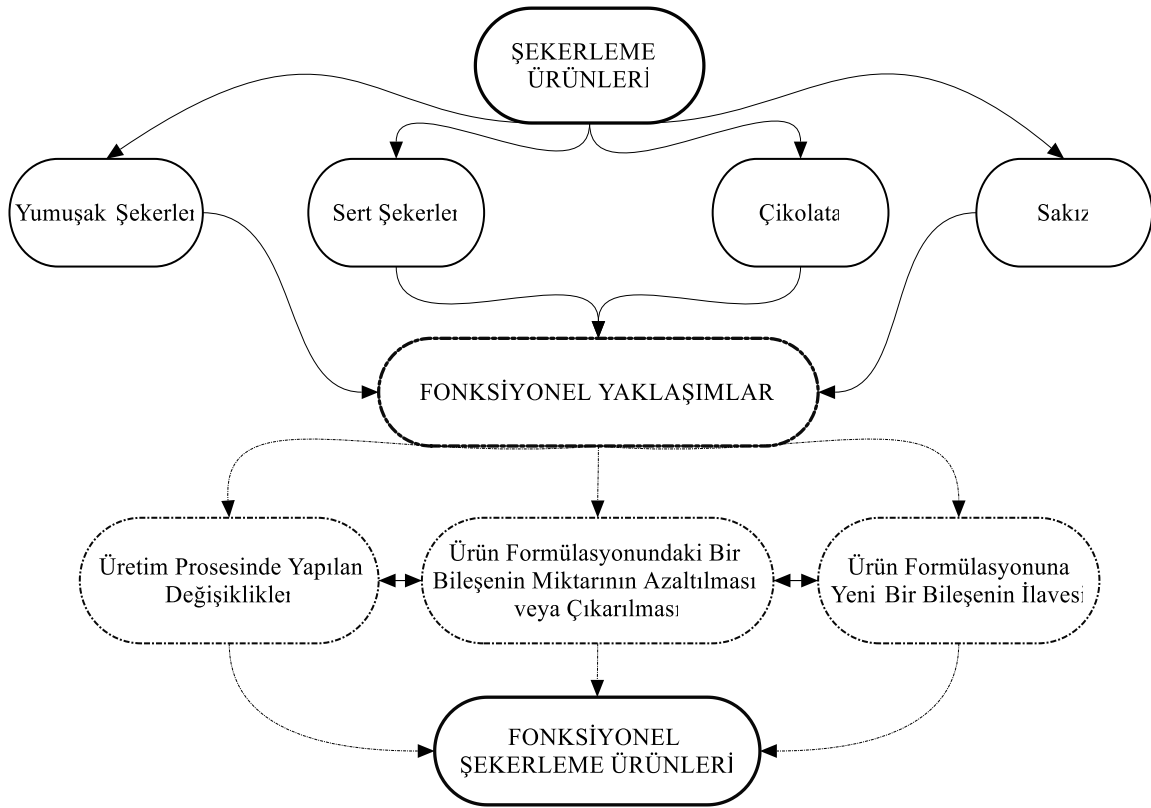
### **FARKLI ŞEKERLEME ÜRÜNLERİNDE FONKSİYONEL YAKLAŞIMLAR**

Şekerleme sektöründe fonksiyonel ürün üretimine yönelik yapılan çalışmalar oldukça yenidir (Belscak-Cvitanovic vd., 2015a). Tarihsel bir perspektiften bakıldığında şekerleme sektöründe henüz yeni sayılabilecek bu kategori, tipik olarak öksürük, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı

tedavisinde kullanılan ve ürün içeriğinde nane, kekik, tarçın gibi bitkisel orijinli materyaller bulunan pastil, sert şeker veya çignenebilir yumuşak şeker gibi ürünler ile ilişkilendirilebilir (Pickford ve Jardine, 2000). Günümüzde ise gelişen teknoloji sayesinde çeşitli nitelikte şekerlemelerin üretilmesi ve çoğunun sağlıksız ürünler olarak eleştiri alması bu sektörde geniş çaplı fonksiyonellik çalışmalarını başlatmış ve aynı zamanda özel pazarlama stratejilerini de tetiklemiştir. Literatürde yer alan çalışmalara göre, şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi genel olarak, ürün içeriğinde yer alan bir bileşen çıkarılarak, miktarı azaltılarak veya ürün içeriğine farklı bir bileşen ilave edilerek yapılmakta, aynı zamanda yeni üretim teknikleri de denenmektedir (Şekil 1).

### **Fonksiyonel sert ve yumuşak şeker çalışmaları**

Klasik şekerleme üretimi genellikle şekerin oda sıcaklığında suda çözünmesiyle başlar, daha sonra bu çözelti ısıtılır ve doymuş bir çözelti oluşturmak için daha fazla şeker eklenir. Eğer kaynatma işlemine uygun bir karıştırma ile devam edilirse aşırı doymuş bir çözelti elde edilir. Aşırı doymuş çözelti daha fazla ısıtıldığı takdirde içerisindeki su buharlaşarak çözelti daha da yoğunlaşır. Süper doymuş çözeltinin şeker konsantrasyon derecesi, üretilen şekerlemenin nihai kıvamını belirlemektedir. Sektörde üretilen şekerlemeler farklı parametrelere göre birkaç kategoriye ayrılabilir. Bunlardan biri yapıdır. Eğer şeker, ürün içerisinde kristaller halinde mevcutsa, bu şekerler kristalize şekerler olarak adlandırılmaktadır. Bu tip şekerlerde ürün içerisindeki kristaller fark edilebilir nitelikte veya gözle görülemeyecek kadar küçük kristaller halinde olabilir. Diğer yandan, eğer şeker ürün içerisinde kristalleşmemiş (amorf veya şekilsiz) bir formda mevcutsa, bu şekerler kristalize olmayan, camsı şekerler olarak tanımlanmaktadır (Hinkova vd., 2015). Üretilen kristalize ve camsı şekerler sert veya yumuşak yapıda olabilir ve proses farklılığından dolayı bazı ürünler hem kristalize hem de camsı şeker formda üretilebilir.



Şekil 1. Şekerleme teknolojisinde çeşitli ürün gruplarında yapılan fonksiyonellik eğilimleri

Genel bir tanımlama ile camsı yapıdaki sert şekerler, konsantre karbonhidrat çözeltisinin düşük su içeriğine kadar (nihai nem içeriği yaklaşık olarak %1-3) çok yüksek sıcaklıklarda (145-155°C) kaynatılması ve kristalizasyonun gerçekleşmeyeceği kadar hızlı bir şekilde camsı geçiş sıcaklığının (T<sub>g</sub>) altına soğutulması ile elde edilen şeffaf/camsı ve parlak formdaki şekerlerdir. Bu nedenle camsı sert şekerler, pencere camlarına benzer nitelikte bir moleküler forma sahip olup amorf yapıdadırlar. Aslında, hem camsı özellikteki sert şekerler hem de pencere camları, oldukça yüksek viskoziteleri nedeniyle katı-benzeri özellikler sergileyen son derece viskoz sıvılardır. Katı karakteristikleri, camsı geçiş sıcaklıklarının altındaki sıcaklıklarda tutuldukları için uzun bir süre boyunca akışkanlık göstermedikleri anlamına gelmektedir (Hartel vd., 2018). Günümüzde camsı yapıdaki sert şekerler esas olarak glikoz şurubu ve sakkarozdan üretilmekte olup, belirgin farklı özellikler (lezzet, doku, görünüş, vb.) sağlamak için formülasyona

çok çeşitli bileşenler ilave edilebilmektedir. Tüketici albenisini ve ürün değerini arttırmak için kullanılan bu bileşenler arasında organik asitler, aroma ve renk maddeleri, meyve suları ve ekstraktları yer almaktadır (Manjula ve Suneetha, 2014; Hartel vd., 2018). Şekersiz çeşitler ise şeker alkollerini, hacim vericileri ve yüksek yoğunluklu tatlandırıcıları içermektedir. Bununla birlikte, kaya (nöbet) şekeri gibi kristalize yapıda olan diğer sert şeker grubu ise, konsantre karbonhidrat çözeltisinin kristalizasyon işlemine tabi tutulması ile üretilmektedir. Söz konusu bu şekerler opak yapıda olup, camsı şekerler gibi yüksek derecede kaynatılmadıkları için farklı kategoride değerlendirilmektedirler (Hartel vd., 2018). Bu tür şekerlerin formülasyonunda ise ana bileşen olarak kristalizasyonu sağlayan saf sakkaroz yer almaktadır (Hinkova vd., 2015).

Çiğnenebilir özellikteki yumuşak şekerlerin içeriğinde ise karbonhidratlar (sakkaroz ve glikoz şurubu), renk ve aroma maddeleri ile çeşitli

asitlerden başka bitkisel yağlar, jelatin, pektin nişasta gibi hidrokolloidler, süt kaynaklı bileşenler ve emülgatörler yer almaktadır. Şekersiz formülasyonlarda tatlandırıcı olarak çoğunlukla şeker alkollerini kullanılmakta, bu da özellikle tatlılık derecesine ve yapıya katkıda bulunarak önemli teknolojik yararlar sağlamaktadır (Da Silva vd., 2016). Şekersiz çığnenebilir ürünlerin kıvamı ve çığnenebilirliği, poliollerin kristalizasyon özelliklerinden ve bunların kristallenebilir olmayan faz ile denge durumundan etkilenmektedir (Sentko ve Willibald-Ettle, 2012).

Yumuşak şekerler, tüketici kabulünde önem arz eden bir dizi tekstürel karakteristiğe sahiptir. Her özellik, belirli bir bileşiğin miktarına ve kalitesine bağlıdır. Yapıdaki sertlik, su içeriğinin bir fonksiyonu olup, çığnemeye karşı dayanıklılık ise karbonhidratların moleküler ağırlığı ile ilişkilidir. Kullanılan yağın emülsifikasyon derecesi ve sertliği ile bileşimdeki protein miktarı ve niteliği de sisteme esneklik kazandırmaktadır (Komes vd., 2011). Aynı zamanda, kullanılan jelleştirme ajanı tip ve düzeyi, bunun sakkaroz veya diğer dolgu maddeleri ile etkileşimi, glikoz şurubu ve bu şurubun DE (Dekstroz Eşdeğeri) değeri, procesteki olgunlaştırma işlemi ve koşulları gibi çeşitli faktörler de ürün yapısına etki etmektedir. Bu bakımdan hem üretim tekniği hem de bileşimdeki farklılıklardan dolayı sektörde çok çeşitli çığnenebilir formda yumuşak şeker mevcuttur. Söz konusu bu ürünlerden çeşitli hidrokolloidler kullanılarak üretilen jelly/gummy tipi yumuşak şekerlemelerde nem içeriği %10-20, daha sert olanlarda %7-8 arasında değişirken, toffee tarzı ürünlerde ise %3-6 arasındadır (Hartel vd., 2018). Çok düşük nem oranına sahip yumuşak şekerlemelerde çığneme çok sert olurken, fazla nem ise üründe yapışkan bir yapıya neden olmaktadır (Pickford ve Jardine, 2000).

Yüksek oranda karbonhidrat içeren sert ve yumuşak şekerlemelerde fonksiyonel çalışmalar genel itibarıyla; şeker alkollerini veya sentetik tatlandırıcılar kullanılarak kalori içeriğinin düşürülmesi ve bileşimdeki sentetik aroma ve renk maddelerinin doğal olanlarıyla ikamesi üzerine yapılmaktadır. Assous vd. (2014) yaptıkları çalışmada, sert şekerleme üretiminde

doğal bir renklendirici olarak mor havuçlardan elde edilen antosiyaninleri kullanmışlardır. Araştırma sonucunda, %0.30 (w/w) oranında antosiyanin kullanımı renk, tat, koku ve genel kabul edilebilirlik testlerinde en yüksek puanı almıştır. Hooda (2015), bitkisel ekstraktlar içeren sert şeker üretimine yönelik yaptığı çalışmada, her gruba ayrı olacak şekilde ürün formülasyonuna %10 *Gingko biloba* yaprağı özütü, %10 çay yaprağı özütü, %10 zencefil ve %5 oranında tarçın ilave ederek fitokimyasal açıdan zenginleştirilmiş ve duyuşal değerlendirmede genel kabul edilebilirliği oldukça yüksek olan 4 çeşit fonksiyonel sert şeker üretmiştir. Toffee tarzı yumuşak şekerlerin üretiminde özellikle çeşitli meyve pulplarının ve bitki ekstraktlarının bileşime katılması yoğun olarak çalışılmıştır (Sakhale vd., 2012; Anisa vd., 2016). Bu şekilde üretilen ürünlerin vitamin, mineral, lif ve protein açısından zenginleşerek besleyici bir nitelik kazandığı ve aynı zamanda ürün albenisinin de arttığı belirtilmiştir (Khapre vd., 2010; Kohinkar vd., 2014). Piccone vd. (2011) yaptıkları çalışmada ürün formülasyonunda yer alan şeker ve jelleştirici türünün yumuşak şekerlerde tekstür, aroma salınımı ve duyuşal algı üzerine etkisini çalışmışlardır. Farklı türde hidrokolloid ve şeker kullanımının tekstürü önemli ölçüde etkilediği ve yapılan esneklik modülü analizine (Young modülü, N/m<sup>2</sup>) göre jelatin ilaveli şekerlemelerin daha sıkı ve sert bir yapıya sahip olduğu; pektin ile hazırlanan örneklerin ise daha yumuşak ve deforme olabilen bir yapı aldığı görülmüştür. Aynı zamanda, kullanılan hidrokolloid türüne ait fiziksel özelliklerin aroma salınımını etkilediği ve bu durumun hedeflenen duyuşal niteliklere sahip ürünlerin geliştirilmesi ve tasarlanmasında yararlı olabileceği belirtilmiştir. Özellikle çocuklar tarafından yoğun bir şekilde tüketilen jelly tipi yumuşak şekerlere yönelik yapılan bir çalışmada ise, şeker şurubu, yapay aroma ve renk maddeleri yerine bal ve taze meyve suyu kullanılmıştır. Sıcak (geleneksel, 115°C) ve soğuk (50-55°C) karıştırma tekniği kullanılarak üretilen ürünlerde, balın diastaz aktivitesinin soğuk karıştırma tekniği ile korunduğu (> %95), sıcak karıştırma tekniğinde ise tamamen yok olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, jelatin dozundaki artışın (%15-20-25) şekerlerin sertliğini, yapışkanlığını ve çığnenebilirliğini arttırdığı belirlenmiştir (Mutlu



vd., 2018). Aynı ürün grubunda yapılan farklı bir çalışmada, şarap üretiminde yan ürün olarak açığa çıkan yüksek oranda lif içeren üzüm kabukları ile zenginleştirilmiş çiğnenebilir şekerlerin fiziko-kimyasal özellikleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda, üzüm kabuğu tozu kullanımının ürünün kabul edilebilirliği üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığı, aksine üretim prosesini 3 saate kadar azaltarak enerji tasarrufu sağladığı, geleneksel üretimde meyve püresi yerine kullanıldığı için maliyeti düşürdüğü ve üretilen ürünün, üzüm kabuğundan gelen sağlığa yararlı antosiyanin, flavonol ve prosiyanidin gibi biyoaktif bileşikler bakımından zenginleştiği vurgulanmıştır (Cappa vd., 2015). Delgado ve Bañón (2018) ise, diyet lifi ile zenginleştirilmiş daha az kalori içeren jelatin esaslı yumuşak şeker üretiminde jel oluşumuna yardımcı madde olarak mısır nişastası yerine inülini kullanıp, ürün kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Nişastalı formülasyona uygulanan 120°C'de 5 dakikalık ön-pişirme işleminin aksine, inülin katkılı formülasyonun üretiminde inülin doğrudan 80°C'deki jelatin çözeltisine ilave edilmiş ve bu durum prosesi basitleştirerek gerekli olan ısı işlemi azaltmıştır. İnülin ile üretilen şekerlemelerin, nişastalı gruba göre daha yumuşak, elastik ve yapışkan olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, kullanılan ticari inülinin yüksek kimyasal stabilitesinden dolayı üretim esnasında (80°C'de, pH 3.2'de 5 dakika karıştırma ve %30 nispi nemde, 25°C'de 24 saat kurutma) yıkıma uğramadığı, nötr tadından dolayı ürünün duyu kalitesini olumsuz etkilemediği ve potansiyel prebiyotik aktivitesinin yanı sıra şekerleme üretiminde jel oluşumuna yardımcı bir bileşen olarak kullanılabilceği belirtilmiştir.

Üretim prosesi ve formülasyona ilave edilecek bileşenin seçimi, fonksiyonel ürün üretiminde önemli bir faktördür. Bazı fonksiyonel bileşenler yüksek sıcaklıklara karşı oldukça hassas olup standart üretim prosesi izlendiğinde söz konusu bileşenler etkinliklerini yitirebilir. Her iki ürün grubunda, uygun kuru madde değerinin sağlanabilmesi için yüksek sıcaklıklara ihtiyaç duyulduğundan bu durum hem üretim tekniğinde yapılması planlanan yenilikleri sınırlamakta hem de kullanılacak fonksiyonel bileşik üzerine

olumsuz etki yaratmaktadır. Tersine bir durum olarak formülasyona katılan yeni bir bileşen, daha yüksek bir üretim sıcaklığına da neden olabilir. Ayrıca, ürün matrisinde tam olarak çözünmeyen ve doğru miktarda dozlanmayan fonksiyonel katkılar, üründe bulanık veya granüllü bir yapı meydana getirebilir. Proses haricinde, ürün formülasyonunda yer alan diğer unsurlar da fonksiyonel katkının stabilitesini etkileyebilir ve nemli veya yağ bazlı bir ortamda bu bileşiklerin etki mekanizmaları değişebilir. Bazı fonksiyonel bileşenler ise, nihai ürünün nem içeriği, pH, jel mukavemeti, viskozitesi veya kristalizasyon derecesi gibi kritik parametrelerini olumsuz yönde etkileyebilir (Pickford ve Jardine, 2000). Bu bakımdan, fonksiyonel şekerleme üretiminde tüm bu faktörlerin göz önünde bulundurulması, kaliteli ve albenisi yüksek bir son ürün açısından oldukça önemlidir.

#### Fonksiyonel çikolata çalışmaları

Dünya genelinde, toplumun her kesiminde ve her yaştaki tüketici grubu tarafından büyük bir zevkle tüketilen, benzersiz yapısı, tadı ve yeme keyfi olan çikolatanın hikayesi kakao ağacı (*Theobroma cacao*) ile başlamaktadır (El-Kalyoubi vd., 2011; Hartel vd., 2018). Kakao ağacı, günümüzde yoğun bir şekilde Gana ve Nijerya gibi Batı Afrika ülkelerinde yetiştirilse de, esas orijinin Orta ve Güney Amerika'nın sıcak ve nemli topraklarının olduğu kabul edilmektedir. Çikolotaya karakteristik özelliğini veren kakao esaslı ürünler, bu ağacın meyvesine ait çekirdeklerin işlenmesi ile elde edilmektedir (Noble, 2017).

Günümüzde çikolatanın katı, sıvı, toz, hamur gibi çeşitli formlarının yanı sıra formülasyondaki farklılıklara göre pek çok ürün çeşidi bulunmaktadır. Ancak genel itibarıyla bir sınıflandırma yapılırsa; bitter (dark), sütlü (milk) ve beyaz (white) çikolata olmak üzere 3 çeşide ayrılabilir. Bitter çikolata genellikle şeker, kakao kütlesi, kakao yağı ve emülsifiyerdan (lesitin) oluşurken, sütlü çikolata şeker, süt tozu, süt yağı, kakao kütlesi, kakao yağı, lesitin, aroma maddeleri ve koruyuculardan oluşmaktadır. Beyaz çikolatada ise, kakao kütlesi ve kakao tozu hariç diğer çikolata bileşenleri bulunmaktadır (Pickford ve Jardine, 2000).

Çikolata, yüksek şeker ve yağ içeriğinden dolayı yüksek kalorili bir gıda olarak sıklıkla eleştirilen, fakat aynı zamanda zengin biyoaktif profiline atfedilen potansiyel sağlık yararları ile fonksiyonel bir gıda ürünü olarak da tanıtılan eşsiz bir gıda ürünüdür. Besinsel ve fitokimyasal yönlerinden bağımsız olarak çikolata sürekli bir eğilimin olduğu bir gıda olup, bu durum çikolataya dair yeni formülasyonların ve üretim stratejilerinin geliştirilmesini ideal kılmaktadır. Aynı zamanda, tüketicilerin konvansiyonel ürünlere duysal, kalite ve fiyat bakımından eşdeğer nitelikte olan ve klinik olarak kanıtlanmış sağlık yararları sunan fonksiyonel ürünlere yönelik önemli talepleri de mevcuttur (Ares vd., 2010). Bu bakımdan şimdiye kadar, fitosteroller (Botelho vd., 2014), probiyotikler ve prebiyotikler (Konar vd., 2016a), kuru meyveler (Komes vd., 2013), besleyici değeri olan veya olmayan tatlandırıcılar (Aidoo vd., 2013), EPA (eikosapentaenoik asit) ve DHA (dokosaheksaenoik asit) gibi insan beslenmesinde önemli olan omega-3 yağ asitleri (Toker vd., 2018a) ve fenolik içeriği yüksek çeşitli bitkisel ekstraktlar ile zenginleştirilmiş (Belscak-Cvitanovic vd., 2015a) çikolatalar üretilmiş olup, yeni formülasyon çalışmaları devam etmektedir.

Çikolata, formülasyonu gereği kakao çekirdeğinden üretilen ürünleri içerdiği için doğal olarak fonksiyonel bir ürün olarak nitelendirilmektedir. Taze kakao çekirdeğinin toplam fenolik madde içeriği ortalama olarak 120-180 g/kg kuru madde civarındadır (Ackar vd., 2013). Bunun önemli bir kısmını proantosiyanidinler (%58), flavan-3-ol veya kateşinler (%37) ve antosiyaninler (%4) oluşturmaktadır (Hii vd., 2009). Diğer yandan kakao çekirdeklerinde eser miktarda çeşitli flavonoller, basit fenoller, izokumarinler, stilbenler ve bunların glikozitleri de yer almaktadır (Di Mattia vd., 2017). Bu fenolik bileşiklerin, biyoaktif bileşikler olarak antioksidan, antiradikal ve antikanserijenik özellikleri birçok çalışmada bildirilmiştir (Aprotosoie vd., 2016; Giacometti vd., 2016; Orac ve Nebesny, 2016). Ancak, kakao ürünlerinde ve çikolatadaki fenolik madde miktarı, kakao çekirdeğine, tarım uygulamalarına ve üretim prosesine bağlı olarak büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Özellikle, kakao

çekirdeklerinin işlenmesinde yer alan fermantasyon, kurutma, kavurma ve alkalizasyon aşamalarında bu bileşiklerin miktarı önemli ölçüde azalmaktadır. Diğer yandan, çikolata yapım aşamasında uygulanan yüksek sıcaklıkların, oksijen varlığının ve formülasyonda yer alan diğer bileşenlerin de (örn. şeker) fenoliklerin bileşimi ve içeriği üzerine önemli bir etkisi söz konusudur (Ackar vd., 2013; Alañón vd., 2016).

Üretim prosesinin neden olduğu bu sonuçlara dayanarak, fenolik madde bakımından zengin çikolata ürünleri üretiminde genel birtakım stratejilerin yürütülebileceği belirtilmektedir. Bunlardan ilki, kakao çekirdeklerinin fenolik içeriği değişkenlik gösterdiğinden, üretimde yüksek fenolik madde içeren çekirdeklerin kullanılması, son ürünün bu biyoaktif maddelerce daha zengin olmasını sağlayacaktır. İkincisi, kakao çekirdeklerinin işlenmesi sırasında fenoliklerin korunmasına yönelik özellikle fermantasyon süresinin azaltılması ve kavurmada ısıl işlem parametrelerinin ılıman düzeyde uygulanmasıdır (Hartel vd., 2018). Üçüncüsü ise, daha yüksek kakao içeriği nedeniyle bitter çikolatanın sütlü çikolatadan daha fazla fenolik bileşik içermesine paralel olarak, formülasyonda daha yüksek oranda kakao ürünlerine karşılık, daha az şeker ve süt ürünleri içeren bir proses ile çikolata üretiminin yapılmasıdır (Alañón vd., 2016). Ancak yüksek seviyede fenolik bileşen içeren çikolatanın daha acı ve sert olduğu da unutulmamalıdır (Hartel vd., 2018).

Fonksiyonellik açısından formülasyonda gidilen önemli değişiklikler arasında ise, çikolata üretiminde kullanımı devam eden sakkarozun yerine üreticilere yeni fırsatlar sunan çeşitli tatlandırıcıların denenmesi, özellikle prebiyotik ve probiyotikler ile farklı bitkisel materyallerin veya biyoaktif bileşenlerin ilavesi yer almaktadır. Yüksek kaliteli şekerli çikolata üretimi, ürünün reolojik, fiziksel ve duysal özelliklerini olumsuz etkilemeyecek şekilde sakkarozun ikamesini sağlayabilecek en uygun tatlandırıcıların kullanımını gerektirmektedir. Bunlar arasında sorbitol, mannitol, ksilitol, izomalt, eritritol, laktitol ve maltitol gibi şeker alkolleri (polioller); trehaloz, tagatoz ve izomaltuloz gibi poliollere

benzer işlevleri olan karbonhidratlar ve asesülfam-K, aspartam, neotam, sakkarin, sukraloz, alitam, siklamat, stevia/steviol glikozitleri ve tomatın gibi yoğun tatlı tada sahip maddeler yer almaktadır (Aidoo vd., 2013). Ancak, yüksek yoğunluklu tatlandırıcıların sakkarozun yerine kullanılması çikolata üretiminde ciddi bir zorluk teşkil etmektedir. Çünkü sakkaroz, tatlandırıcı özelliğinden başka, hacim arttırıcı ve tekstüre edici gibi birtakım özelliklere de sahiptir. Bu nedenle, çikolata üretiminde yüksek yoğunluklu tatlandırıcıların şeker alkollerini ile birlikte kullanımı yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Toker vd., 2018b).

Sağlıklı yaşamı destekleyen ve hastalık riskini azaltan prebiyotikler besleyici ve ekonomik özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinin ilgisini çekmiş olup, gıdalarda kullanımı dünya çapında artmıştır (Scheid vd., 2013; Da Silveria vd., 2015). Günümüzde en çok araştırılan ve ticari olarak kullanılan prebiyotikler arasında inülin, fruktooligosakkaritler (FOS) ve galaktooligosakkaritler (GOS) yer almaktadır (Khalifa, 2017). Çikolata üretiminde kullanılan başlıca prebiyotikler ise; inülin ve polidekstroz olarak ifade edilebilir. Bu prebiyotiklerin şeker ve yağ azaltılmış çikolata üretiminde özellikle tatlandırıcı ve yağ ikame edici karakteristikleri üzerinde durulmaktadır. Çünkü prebiyotik faydalarının yanı sıra konsantrasyona bağlı olarak ürünlerdeki yağ ve şeker içeriğinin azaltılmasında önemli bir avantaj sunmaktadırlar (Rezende vd., 2015).

Çikolata sakkarozun bileşimi çeşide bağlı olarak %40-50 civarındadır ve ürünün tatlılık, partikül büyüklüğü dağılımı, ağızda dağılımı, reolojik parametreleri üzerinde çeşitli işlevsel özellikler sağlamaktadır (Aidoo vd., 2015). Bu bakımdan, multi-fonksiyonel özellikler gösteren prebiyotiklerin çikolata sakkarozun ikamesi amacıyla yapılan çalışmalarda, üretilen ürünlerin kalite parametrelerinin belirlenmesi ve bunların konvansiyonel olanlarla karşılaştırılması oldukça önemlidir. Nitekim, prebiyotik çikolata üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda göz önüne alınan temel kalite parametreleri arasında özellikle tekstür, reoloji, erime profili, renk ve duyuşal

özelliklerin yer aldığı söylenebilir (Konar vd., 2016a). Konuyla alakalı örnek bir çalışmada, Azevedo vd. (2017), prebiyotik olarak inülin (%15-20) ve tatlandırıcı olarak farklı konsantrasyonlarda (%60-80-97) steviol glikoziti (rebaudioside A.) içeren stevia (*Stevia rebaudiana*) ekstraktı kullanımının (%0.16), şeker ve %50 daha az yağlı bitter (bitter sweet, acı tatlı) çikolataların duyuşal ve fiziko-kimyasal özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada, inülin içeriği %20 olan yağ azaltılmış (%50) şeker çikolatalardaki sertlik değeri, erime hızı ve hissedilir bitter tadın diğer örneklerden önemli ölçüde farklılık gösterdiği bulunmuştur. İnülin ve stevia ekstraktının ideal bir sakkaroz ikamesi olduğu ve özellikle %60 rebaudioside A içeren doğal stevia ekstraktı ile tatlandırılan ve fonksiyonel özelliklere sahip prebiyotik (inülin, %15-20) içeren şeker örneklerin, diğer muadillerine göre daha sağlıklı ve az kalorili alternatif bir ürün olduğu vurgulanmıştır. Literatürde, formülasyondaki prebiyotik konsantrasyonunun ürünün plastik viskozite, akma gerilmesi, nem içeriği ve renk gibi değerlerini de etkilediği belirtilmektedir (Aidoo vd., 2013). Shourideh vd. (2012), D-tagatoz ve inülinin farklı oranlarda karışımını içeren bitter çikolata formülasyonlarında inülin konsantrasyonundaki artışın, ürünün nem içeriğini arttırdığını bildirmişlerdir. Bu duruma, inülinde bulunan hidrofilik grupların neden olduğu belirtilmiştir. Çikolata duyuşal algıyı etkileyen en önemli parametrelerden biri olan renk faktörüne ait parlaklık ( $L^*$ ) değerinin ise formülasyonda kullanılan inülin ve polidekstroz konsantrasyonuna göre azaldığı tespit edilmiştir (Aidoo vd., 2017). Başka bir çalışmada, sütlü çikolata üretiminde sakkarozun tamamen inülin ile ikame edilmesi, ürünün Casson plastik viskozitesinde ve sertlik değerinde artışa neden olmuştur. Buna karşılık, yüksek seviyede polidekstroz içeren formülasyonlarda (%75 ve %100) plastik viskozite değerinin, referans örneklerden biraz daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, şeker ikameleri referans (sakkaroz) ile karşılaştırıldığında daha koyu renkte çikolatanın elde edilmesine neden olmuştur. Diğer yandan, prebiyotiklerin (inülin, polidekstroz) farklı oranda karışımıyla üretilen çikolataların nem

değerlerinin kabul edilebilir sınırlarda ( $\%<1$ ) olduğu, ancak orta ( $\%50$ ) ve yüksek ( $\%100$ ) miktarlarda prebiyotik içeren grupların nem değerlerinin önemli ölçüde artış gösterdiği belirlenmiştir. Araştırma sonucunda,  $\%25$  inülin ve  $\%75$  polidekstrozdan oluşan formülasyonların en yüksek ürün kalitesine sahip olduğu belirtilmiştir (Aidoo vd., 2014).

Alternatif tatlandırıcıların (Stevia (St) ve sukraloz (Su)) beyaz çikolatada kaliteye etkisinin incelendiği bir çalışmada, ürün mikro yapısı ile çikolatada istenmeyen bir durum olan şeker ve yağ çiçeklenmesi arasında güçlü bir ilişki gözlenmiştir. Sakkaroz (S) yerine  $\%100$  Su ve  $\%50$  S +  $\%50$  Su içeren örneklerin mikro yapısında yağın yüzeye daha kolay yayılmasını sağlayan ve çiçeklenme oluşumunu arttıran kanalların (boşluk) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte,  $\%50$  St +  $\%50$  Su ve  $\%75$  St +  $\%25$  Su içeren örneklerde, yağın yüzeye difüzyonunu engelleyen mikro yapı sayesinde (boşluk içermeyen) minimum çiçeklenme oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca  $\%75$  St +  $\%25$  Su ilaveli örneklerin farklı depolama sıcaklıklarında ( $7-15-30^{\circ}\text{C}$ ) en yüksek stabiliteyi gösterdiği belirlenmiştir (Furlán vd., 2017). Belscak-Cvitanovic vd. (2015b) ise, şekeri azaltılmış çikolata üretiminde sakkaroz alternatifi olarak çeşitli şeker alkollerini (ksilitol, izomalt, laktitol, maltitol), diyet liflerini (inülin, oligofruktoz), pirinç ve agave şurupları ile kurutulmuş havuç, akasya çiçekleri, meyan kökü tozu ve stevia gibi doğal tatlandırıcıları kullanmışlardır. Araştırmada genel olarak, doğal tatlandırıcılar ve şeker alkollerini ile üretilen çikolataların, kontrol grubuna göre daha sert ve daha büyük partikül boyutuna sahip olduğu bildirilmiştir. Stevia ve nane içeren çikolatalar duyuşal değerlendirmede en yüksek beğeniyi almış olup, araştırma sonucunda tekstür ve aroma profili açısından daha fazla optimizasyon çalışmalarının gerekli olduğu vurgulanmıştır. Farklı bir çalışmada ise, standart ürünlere kıyasla mineraller, vitaminler, antioksidatif ve anti-kanserojen bileşikler açısından zengin ve şeker hastalarının da tüketebileceği alternatif bitter çikolata üretiminde sakkaroz yerine palmiye ve Hindistan cevizi şekerinden yararlanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, palmiye ve Hindistan cevizi şekeri

ile formüle edilmiş çikolataların referans gruba göre daha düşük partikül boyutunda, daha açık renkte ve daha sert bir yapıda, nem değerlerinin ise daha yüksek ancak kabul edilebilir değerler arasında ( $\%0.8-1.5$ ) olduğunu göstermiştir. Sakkaroz yerine kullanılan tatlandırıcıların farklı fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olarak, en yüksek Casson viskozite değeri Hindistan cevizi şekeri ile formüle edilmiş çikolatalarda tespit edilmiştir. Alternatif olarak üretilen çikolatalar, referans gruba benzer bir erime sıcaklık aralığı sergilemiştir. Araştırma sonunda palmiye ve Hindistan cevizi şekeri ile formüle edilmiş çikolataların yüksek kaliteli, düşük şeker içeriği ve farklı aroma profili ile sağlıklı alternatif bir ürün olduğu vurgulanmıştır (Saputro vd., 2017)

Fermente süt ürünleri, probiyotiklerin temel taşıyıcısı olmasına karşın, dünya nüfusunun belirli bir kısmı laktoz intoleransı, süt alerjisi ve hatta hayvan proteini kullanımını kısıtlayan diyetlere bağlı olarak bu ürünleri tüketememektedir (Silva vd., 2017). Bu bakımdan, yakın zamanda probiyotiklerin çikolataya dâhil edilmesiyle süt ürünlerine yönelik iyi bir alternatif yaratılabileceği aynı zamanda bu durumun çikolata esaslı gıda ürünlerindeki sağlık iddialarını olumlu yönde destekleyeceği belirtilmektedir (Gadhiya vd., 2015; Zarić vd., 2016). Diğer fonksiyonel gıda gruplarında olduğu gibi fonksiyonel çikolata üretiminde de, kompleks yapıdaki çeşitli hidrokolloid matrislere probiyotik hücrelerin birtakım mekanik veya fiziko-kimyasal işlemlerle (dondurarak kurutma, sprey kurutma, emülsifikasyon, ekstrüzyon, jel oluşturma ve koaservasyon gibi) enkapsüle edilmesi; ürün işleme, depolama ve gastrointestinal geçiş esnasında meydana gelen canlılık kaybının azaltılmasında ve hücrelerin kontrollü salınımında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Kharat ve Deshpande, 2017; Lalicic-Petronijevic vd., 2017). Tüm bunlara ilaveten, farklı bir gıda matrisinin probiyotik bakterilerin işlevselliğini nasıl etkilediğinin tespit edilmesi de oldukça önemlidir. Bu anlamda özellikle çikolatada doğal olarak bulunan fenolik bileşiklerin, gıda matrisinde probiyotik kaybının başlıca nedenlerinden biri olan oksidatif stresi geciktirmede önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Konar vd., 2016a; Silva vd.,

2017). Ayrıca, çikolata matrisinde bulunan kakao yağının da probiyotikler için avantaj sağladığı ve hücreleri nem ve H<sup>+</sup> iyonlarından koruduğu vurgulanmıştır (Pedroso vd., 2013).

Diğer yandan probiyotik ilaveli yeni ürün geliştirme çalışmalarında, probiyotiklerin ürüne katıldığı proses aşamasının, farklı depolama koşullarındaki stabiliteilerinin ve ürünün duysal ve tekstürel özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi de oldukça önemlidir. Buna yönelik olarak yapılan stabilite çalışmalarında Kemsawasd vd. (2016), bitter, sütlü ve beyaz çikolataya ilave ettikleri immobilize *Lactobacillus casei* 01 ve *Lactobacillus acidophilus* LA5 hücrelerinin farklı sıcaklıklarda (4 ve 25°C) 60 günlük depolama süresi boyunca canlılıklarını izlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, depolama boyunca *L. casei* 01 hücrelerinin *L. acidophilus* LA5 hücrelerine göre daha stabil olduğu ve 25°C'deki depolama işleminin probiyotik hücrelerin canlılığını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Araştırmada, her iki probiyotik türünün 4°C'de 60 güne kadar depolanabileceği ve bu süre boyunca canlı hücre sayısının hedeflenen sağlık yararını oluşturabilecek seviyede kaldığı (>6 log kob/g) tespit edilmiştir. Çikolata türü göz önüne alındığında ise, probiyotiklerin en fazla bitter çikolatada stabil kaldığı, bunu sütlü ve beyaz çikolatanın takip ettiği belirlenmiştir. Duysal testlerde probiyotik çikolataların, kontrol gruplarına göre farklılık göstermediği tespit edilmiş olup, araştırma sonunda çikolatanın probiyotiklerin ideal bir taşıyıcısı olduğu belirtilmiştir. Farklı bir çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* LH5, *Streptococcus thermophilus* ST3, *Bifidobacterium breve* BR2 suşlarının karışımından oluşan enkapsülant, farklı çikolata çeşitlerine ilave edilmiş ve üretilen çikolatalar 4 ve 20°C'de 360 gün boyunca depolanmıştır. Çikolatalarda, *L. acidophilus* suşunun en yüksek canlılığı sergilediği, bunu *S. thermophilus*'un takip ettiği ve *B. breve* suşuna ait hücrelerdeki canlılık kaybının ise depolama boyunca devam ederek test edilen tüm örneklerde sağlık yararını oluşturabilecek seviyenin (6-7 log kob/g) çok altındaki bir değere (3 log kob/g) düştüğü belirlenmiştir. Probiyotik çikolatalarda depolama süresince yapılan duysal testlerde hoş olmayan yabancı tat veya kokuların

oluşmadığı tespit edilmiştir (Lalicic-Petronijevic vd., 2017).

Çikolata üretim prosesi düşünüldüğünde ise, probiyotiklerin ürüne temperleme işleminden önce veya konçlamadan sonra dâhil edilmesinin iyi bir seçim olabileceği belirtilmektedir. Böylece, probiyotiklerin mekanik kuvvetlerden ve konçlama işleminde uygulanan ısıdan zarar görmesi önlenmektedir. Zarić vd. (2016) yaptıkları çalışmada, 3 farklı probiyotik suşun liyofilize kültürlerini sütlü çikolata üretiminde formülasyona temperleme işleminden önce 2 farklı sıcaklıkta (35 ve 40°C) inoküle etmişlerdir. Araştırma sonunda probiyotiklerin çikolata kütlelerine 40°C'de inokülasyonunun, örneklerin reolojik ve duysal özelliklerini ve ayrıca depolama sırasında probiyotiklerin stabiliteilerini önemli ölçüde geliştirdiği gözlenmiştir. Ayrıca, verimliliği arttırmak için, probiyotik türü, mikroenkapsülasyonda kullanılan kaplama (duvar) materyali ve enkapsüle edilmiş probiyotiklerin partikül büyüklüğü gibi diğer faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Konar vd., 2016a). Prosesten bağımsız olarak, 100 µm'den büyük enkapsülantların ürünün reolojik, tekstürel ve duysal profilini etkilediği bilinmektedir (Lalicic-Petronijevic vd., 2017). Tüm bunlara ilaveten seçilen ambalaj materyalinin, raf ömrü boyunca probiyotik ürünün potansiyel terapötik etkisinin korunmasında belirleyici olabileceği unutulmamalıdır (Tripathi ve Giri, 2014).

Son yıllarda farklı olarak, çikolatanın kakao orijinli olmayan fenolik maddeler ve insan beslenmesi açısından önemi olan çeşitli omega-3 yağ asitlerinin alımında kullanımı üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu doğrultuda Belscak-Cvitanovic vd. (2015a) yaptıkları çalışmada, ısırgan otundan (*Urtica dioica* L.) farklı ekstraksiyon yöntemlerine (infüzyon, maserasyon, kaynatma) göre elde ettikleri polifenolik özütleri, dondurarak kurutma ve klasik evaporasyon ile konsantre etmek suretiyle iki farklı şekilde çikolata formülasyonuna (%2 oranında) dâhil etmişlerdir. Böylece, fonksiyonel özelliği zenginleştirilmiş çikolatalarda, toplam polifenolik madde, klorojenik asit ve flavonoid türevlerinde ısırgan

otu özünden kaynaklı bir artış sağlanmıştır. Yapılan duyuşsal analizlerde, ısırgan otu özü ile zenginleştirilmiş dark (bitter) çikolatalar, sütlü ve yarı tatlı (semi-sweet) çikolatalara göre tercih edilmiştir. Toker vd. (2018a) ise yaptıkları araştırmada, farklı form (mikroenkapsüle, serbest akışlı toz) ve orijinli (alg, balık) EPA/DHA ile zenginleştirilmiş dark (bitter) çikolata üretimi üzerine çalışmışlardır. Yapılan kalite analizlerinde, trigliserit formundaki EPA/DHA kullanımı, örneklerin erime özellikleri ve reolojik parametrelerini önemli ölçüde etkilemezken, numunelerin sertlik değerini azaltmıştır. Duyusal analizlerde mikroenkapsüle EPA/DHA ilave edilmiş dark çikolatalar en çok tercih edilmiş olup, araştırma sonuçlarına göre, omega-3 yağ asitlerinin kaynağı ve fiziki formu dikkate alınarak çikolata üretiminde kullanılabilirliği belirtilmiştir.

#### **Fonksiyonel sakız çalışmaları**

Sakız, tipik olarak, suda çözünen ve çözünmeyen 2 temel kısımdan oluşmaktadır. Sakıza çiğneme özelliği kazandıran en önemli kısım doğal veya sentetik materyallerden elde edilebilen suda çözünmeyen, inert olan kısımdır ve sakız mayası (gum base) olarak adlandırılır. Sakız yapımında geçmişte, cis- ve trans-poliizopren'den oluşan ve bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal elastomerler ağırlıklı olarak kullanılsa da, günümüzde sentetik elastomerler (izobütlen ve izopren kopolimerleri, stiren ve bütadien kopolimerleri gibi) daha çok kullanılmaktadır (Farber vd., 2010; Bhatt vd., 2015). Sakız mayası, tek bir bileşenden veya elastomerler, reçineler, emülsiyon yapıcılar, mumlar ve dolgu maddeleri gibi çeşitli bileşenlerin karışımından oluşabilir (Farber vd., 2010). Sakızın suda çözünebilir ve yenilebilir olan kısmı ise dekstroz, sakkaroz, fruktoz, maltoz, dekstrin, galaktoz veya kurutulmuş invert şeker ile mısır şurubu, şeker alkolleri, gliserin, renklendiriciler, koruyucular ve aroma vericilerden oluşmaktadır (Yang vd., 2011).

Sakız, ağızda hem lokal etki hem de etken maddeler yutulduktan veya oral mukoza tarafından absorbe edildikten sonra sistemik etki sağlayabilir. Tüketimi esnasında su gerekmez, kullanımı kolay olup, istenilen yer ve zamanda alınabilir, klasik ilaç tabletlerini yutma güçlüğü

çeken hastalar için oldukça avantajlıdır (Shah ve Mehta, 2014). Çiğnendikten sonra yutulmayan ve diğer gıdalara kıyasla düşük kalorili ürün grubuna giren sakız, obezitenin dünya çapında büyük bir sorun olduğu günümüzde, sadece salınımı istenen bileşenin vücuda alınmasını sağlayabilir (Konar vd., 2016b). Diğer yandan, sakız üretim süreci ve diğer tüm bileşenlerin çözünürlük ve kimyasal özellikleri göz önüne alındığında, sakız mayası ve suda çözünür kısmın, biyoaktif bileşenlerin uygun bir taşıyıcısı olabileceğini göstermektedir. Üretim sürecinde uygulanan ısı işlemlerin şiddet ve süresi ile prosesin toplam süresi, biyoaktif bileşimlerin termal ve oksidatif stabilitesi açısından da avantaj yaratmaktadır. Ayrıca sakızın klasik bir ürün olmaktan çıkıp, çeşitli aktif maddelerin tıbbi amaçlara yönelik (medicated chewing gum) sakız geliştirme çalışmalarında kullanımı ve bu çalışmalardan olumlu sonuçların alınması, sakız üretim prosesinin biyoaktif maddelerin taşınmasına ve sakızın fonksiyonel bir gıda maddesi olarak kullanımına uygunluğunun bir göstergesidir (Chandran vd., 2014; Konar vd., 2016b). Aynı zamanda, mikroorganizmaların sakızda üreme potansiyeli de son derece düşüktür (Shete vd., 2015) ve uygun maddelerle kaplanarak istenen stabilite artırılabilir. Sakızın sahip olduğu tüm bu avantajlar, fonksiyonel amaçlı kullanımına yönelik çeşitli çalışmaların zeminini oluşturmuştur.

Sakız ticari olarak üretilmeye başlandığında sadece şekerli çeşitleri piyasada bulunurken, fonksiyonel amaçlı kullanımına yönelik ilk örnekler, özellikle diş ile ilgili problemleri önlemek amacıyla şeker alkolleri (ksilitol, mannitol, sorbitol ve maltitol gibi) ve diğer yüksek yoğunluklu tatlandırıcıları (aspartam, asesülfam potasyum, sakkarin, sukraloz ve neotam gibi) içeren şekerli çeşitlerin (Keukenmeester vd., 2013) ve aynı zamanda asetil salisilik asit (Biswal ve Kumar, 2013), nikotin (Aslani ve Rafiei, 2012), kafein (Mehta vd., 2017), sodyum florür (Bijella vd., 2015), dimenhidrinat (Jadhav ve Mohite, 2014), ve klorheksidin (Imfeld, 2006) gibi ilaç etken maddelerinin formülasyona ilave edilerek tıbbi amaçlı sakızların üretilmesiyle başlamıştır. İlk tıbbi sakız olarak nitelendirilen Aspergum, 1920'li yıllarda ABD'de pazarlanmış olup aspirinin etken maddesi olan

asetil salisilik asit içermektedir (Kumar vd., 2014). Bu bakımdan, antik çağlardan beri yaygın bir şekilde tüketilen sakızın bir ilaç dağıtım sistemi olarak kullanım konsepti çok uzun olmamakla beraber, doğal biyoaktif bileşenleri veya çeşitli bitki ekstraktlarını içeren sakızların geliştirilmesi çok daha yakın bir süreci kapsamaktadır.

Fonksiyonel özellikte sakız üretiminde, kullanılan biyoaktif bileşiğin üründe homojen dağılımının sağlanması ve üretim esnasında stabil kalması oldukça önemlidir. Bu nedenle, bu durum dikkate alınarak öncelikle en uygun üretim yönteminin belirlenmesi gerekmektedir. Sakız üretiminde genel itibarıyla; (i) geleneksel (füzyon), (ii) dondurma, öğütme ve tabletleme ve (iii) doğrudan kompresyon olmak üzere 3 yöntem mevcuttur. Geleneksel yöntemde, sakız mayasının erimesi için gerekli sıcaklık profili 90°C'ye kadar ulaşabilmekte olup, bu durum termal stabilitesi düşük biyoaktif bileşikler açısından dezavantaj yaratmaktadır. Diğer yandan biyoaktif bileşiklerin düşük sıcaklıklarda eklenmesi durumunda, sakız mayasının yüksek viskozitesinden dolayı arzu edilen homojenliğin sağlanması da oldukça zordur. Dondurma, öğütme ve tabletleme yöntemi, geleneksel tekniğin bu sınırlamalarına çözüm getirirse de, geleneksel işleme karşılaştırıldığında daha pahalı bir proses olup, işlem sırasında nemin dikkatli bir şekilde izlenmesini gerektirmektedir. Bahsedilen yöntemlerden doğrudan kompresyon yöntemi ise, biyoaktif bileşenlerin dağıtımı için sakız üretiminde kullanılabilir en uygun yöntem olarak belirtilebilir. Ancak bu yöntemde de formülasyonun ana bileşeni olan sakız mayasının baskı ekipmanlarına yapışması söz konusudur. Bu durumda üretim zorlaşmakta ve oluşabilecek hasarı önlemek amacıyla daha yavaş üretim hızına ve soğutma işlemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Pagare vd., 2012; Vasudha vd., 2014). Üretim tekniklerine ilaveten sakızın terapötik etkisinin çiğnemeye bağlı olduğu unutulmamalıdır. Çiğneme kuvveti, sıklığı ve süresi kişiye özgü olduğundan, başarılı bir şekilde üretimi gerçekleştirilen fonksiyonel sakızlardan etken maddenin salınımı değişkenlik gösterebilir. Ayrıca stabilite testlerinde etken maddeler ile sakızda

kullanılan diğer içerikler arasındaki etkileşim de göz ardı edilmemelidir (Shah ve Mehta, 2014).

Formülasyonda yapılan çalışmalara bakıldığında; Aslani vd. (2013), diş çürümesini önlemek ve ağız sağlığını iyileştirmek için doğal sakız üretiminde sakız mayası olarak yüksek oranda florür içeren *Salvadora persica* L. (misvak) ekstraktını kullanmışlardır. Optimizasyon çalışmalarında çeşitli aroma vericiler (nane, muz, tarçın, kiraz ve karışık meyve aroması) ile tatlandırıcılar (ksilitol, maltitol, mannitol, gliserin ve aspartam) kullanılarak en uygun sakız formülasyonu araştırılmıştır. Üretilen sakızlarda duyuşsal, tekstürel, florür salınımı gibi analizler yapılmıştır. Farklı formülasyonlara göre oluşturulan sakızlarda florürün %62-80'i 15 dakikada salınım gösterirken, çiğneme süresi sonunda (45 dakika) florürün neredeyse tamamının (%94-95) salındığı tespit edilmiştir. Nane ve vişne aromalarının *Salvadora persica* L. ekstraktı ile uyum gösterdiği ve nane-ksilitol içeren doğal sakızların duyuşsal analiz testlerinde öne çıkan grup olduğu belirlenmiştir. Doğal sakız mayası üretimine yönelik başka bir çalışmada Shete vd. (2015), biyo-bozunur yapısı ve kolay bulunabilirliği nedeniyle buğdaydan (*Triticum aestivum*) ekstrakte ettikleri prolaminleri kullanmışlardır. Üretimde yapının iyileştirilmesi için, kalsiyum karbonat, gliserin (plastikleştirici), sodyum sakkarin (tatlandırıcı), polivinil asetat (esnekliği arttırıcı) ve nane yağı (aroma verici) kullanılmıştır. Geliştirilen doğal sakız formülasyonuna, hareket hastalığını (taşı tutması) önlemek amacıyla difenhidramin hidroklorür ilave edilmiş ve çevre dostu biyo-bozunur sakızlarda esneklik, çiğnenebilirlik, tekstür ve salınım analizleri yapılmıştır. Araştırma sonucunda, 80 mg kalsiyum karbonat ve 500 mg doğal sakız mayası içeren sakızların iyi bir esneklik gösterdiği ve 16 dakikalık bir sürede etken maddenin %90'dan fazlasının salındığı tespit edilmiştir. Araştırmada, buğdaydan elde edilen prolamin ekstraktının doğal sakız mayası üretiminde potansiyel bir kaynak olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Aslani vd. (2015), yaptıkları diğer bir çalışmada *Aloe vera* bitkisinden elde edilen toz halindeki ticari ekstraktı sakız formülasyonuna katarak uygun tat ve kalitede sakız üretmeye çalışmışlardır. Değişik

sertlikteki dört farklı sakız mayası ile hazırlanan sakızlara *Aloe vera* ekstraktı %10 oranında katılıp, tatlandırıcı ve aroma verici olarak farklı materyaller kullanılmıştır. Yapılan analizlere göre tatlandırıcı olarak maltitolün kullanıldığı grup en iyi sakız formülasyonu olarak belirlenmiş ve bu grupta yapılan aroma testlerinde *Aloe vera* ekstraktına uyumlu aroma maddelerinin nane ve tarçın olduğu tespit edilmiştir. Salınım analizinde ise sakızlar çığneme prosesini simule eden cihazda 37°C'de fosfat tamponu (pH, 6.8) ile 5, 10, 15, 30, 40 dakika süreyle muamele edilmiş ve her bir süre sonunda cihazdan 1 mL sıvı alınarak spektrofotometrik metotla sakızlardan sıvıya geçen karbonhidrat miktarı tayin edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, farklı sakız mayaları ile hazırlanan sakızlarda 30 dakikalık bir sürede karbonhidratların %85-96'sının salınım gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma neticesinde, antioksidan, antiinflamatuvar, antiseptik, antikanser ve antidiyabetik etki gösterdiği bilinen *Aloe vera*'nın sakız üretiminde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Farklı bir çalışmada safran ve pancar ekstraktları; maltodekstrin, arap zımkı, modifiye nişasta-arap zımkı, modifiye nişasta-kitosan ve modifiye nişasta-maltodekstrin-kitosandan oluşan farklı kaplama materyalleri kullanılarak dondurarak kurutma yöntemiyle mikroenkapsüle edilmiş ve elde edilen tozlar doğal renklendirici olarak sakız matrisine dâhil edilmiştir. Yapılan çalışmada, hazırlanan sakızların renk parametrelerinin ve bunların depolama sırasındaki değişiminin, depolama koşullarına (sıcaklık ve zaman) ve kullanılan kaplama materyaline bağlı olduğu tespit edilmiştir. Kaplama materyalleri arasında, modifiye nişasta-arap zımkı ile kapsüllenmiş ekstraktların kullanıldığı sakız örneklerinde; pancar ekstresi için en iyi a\* değeri, safran ekstresi içinse en iyi b\* değeri tespit edilerek bu sakızlarda rengin daha iyi korunduğu belirlenmiştir (Chranioti vd., 2015).

Bobillo vd. (2018) yaptıkları çalışmada, *Garcinia cambogia*, yeşil kahve özütü ve L-karnitin kombinasyonunu içeren sakızların aperatif tüketiminin azaltılması ve iştahın düzenlenmesine yönelik potansiyel etkilerini araştırmışlardır. Laboratuvar koşullarında üretilen sakızlar; 200 mg

*G. cambogia* (ortalama olarak %60 hidroksisitrik asit ve <2 mg kafein içeren), 100 mg yeşil kahve ekstresi (45 mg klorojenik asit içeriği), 20 mg L-karnitin, 0.26 mg B6 vitamini ve nane aroması içermekte olup, bu sakızların vücut kitle indeksi 18.5-29.9 kg/m<sup>2</sup> arasında değişen 18-50 yaş arasındaki katılımcıların açlık hissi üzerine etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Araştırma sonucunda geliştirilen sakızların periyodik kullanımının düşük ve yüksek oranda yağ içeren tatlı atıştırmalıkların tüketiminde ve toplam kalori alımında azalma sağladığı belirlenmiştir.

Yapılan tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında, sakızın klasik tüketiminin dışında potansiyel bir fonksiyonel madde dağıtım sistemi olarak kullanıldığı da görülmektedir. Bu nedenle önümüzdeki yıllarda sakızın, tablet veya sıvı formdaki diğer ilaç dağıtım sistemlerine kıyasla tercih edilip, uzun süreli salınımın ve lokal/sistemik etkinin arzu edildiği geniş bir ilaç kategorisinin, doğal biyoaktif bileşenlerin veya çeşitli bitki ekstraktlarının uygun bir taşıyıcısı olarak kullanılabileceği ve böylece kullanım alanının daha da genişleyeceği söylenebilir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Şekerleme ürünleri, önemli miktarda karbonhidrat içeren yüksek kalorili gıdalardır. Söz konusu gıdaların diğer gıda gruplarına göre daha ucuz olmaları, kolay temin edilmeleri ve özellikle çocuklarda aşırı tüketimlerinin yüksek kalori alımına bağlı olarak sağlığı olumsuz etkilemesi gibi nedenler, tüketicilerin bu gıdaları satın alma davranışlarını ve tutumlarını değiştirmiştir. Bu bakımdan günümüzde şekerleme ürünlerine yönelik hem bu algının değiştirilmesi hem de geniş kitlelere hitap eden bu ürünlere fonksiyonellik kazandırılması amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ancak, literatürde şekerleme ürünlerine fonksiyonellik kazandırılması ile ilgili sınırlı sayıda bilimsel veri ve araştırma mevcuttur. Bu nedenle, topluma fayda sağlayabilmek amacıyla şekerleme alanında kullanılabilecek doğal biyoaktif maddelerin veya bu maddelerce zengin olan materyallerin bulunması, farklı şekerleme grubunda yer alan ürünlere bu maddelerin ilavesi ile optimizasyon çalışmalarının yürütülmesi, üretilen ürünlerin potansiyel sağlık etkilerinin ve



depolama boyunca uğrayacağı değişikliklerin belirlenmesi önemli bir bilimsel gerekliliktir. Ayrıca, sektörde uluslararası alanda söz sahibi olabilmek adına, ülkemizde de fonksiyonel şekerleme üretimi üzerine çalışmalar yapılması, yeni formülasyonların ve üretim tekniklerinin denenmesi, bu sayede üretilecek şekerleme ürünleri ile sağlıklı bir diyetin oluşturulması, bazı hastalıkların önlenmesi veya tedavi edilmesi oldukça önemlidir.

#### KAYNAKLAR

- Ackar, D., Lendic, K.V., Valek, M., Šubarić, D., Miličević, B., Babić, J., Nedić, I. (2013). Cocoa polyphenols: Can we consider cocoa and chocolate as potential functional food? *J Chem*, 2013: 1-7.
- Aidoo, R.P., Depypere, F., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2013). Industrial manufacture of sugarfree chocolates-applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends Food Sci Technol*, 32: 84-96.
- Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2014). Optimization of inulin and polydextrose mixtures as sucrose replacers during sugar-free chocolate manufacture-rheological, microstructure and physical quality characteristics. *J Food Eng*, 126(1): 35-42.
- Aidoo, R.P., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2015). Rheological properties, melting behaviours and physical quality characteristics of sugar-free chocolates processed using inulin/polydextrose bulking mixtures sweetened with stevia and thaumatin extracts. *LWT-Food Sci Technol*, 62: 592-597.
- Aidoo, R.P., Appah, E., Van Dewalle, D., Afoakwa, E.O., Dewettinck, K. (2017). Functionality of inulin and polydextrose as sucrose replacers in sugar-free dark chocolate manufacture-effect of fat content and bulk mixture concentration on rheological, mechanical and melting properties. *Int J Food Sci Technol*, 52: 282-290.
- Alañón, M.E., Castle, S.M., Siswanto, P.J., Cifuentes-Gómez, T., Spencer, J.P.E. (2016). Assessment of flavanol stereoisomers and caffeine and theobromine content in commercial chocolates. *Food Chem*, 208: 177-184.
- Anisa, A.M., Anju, B., Vikas, A., Raj, K.K. (2016). Preparation and evaluation of peach-soy fruit toffees. *J Food Ind Microbiol*, 2(2): 1-5.
- Aprotosoia, A.C., Miron, A., Trifan, A., Luca, V.S., Costache, I.I. (2016). The cardiovascular effects of cocoa polyphenols-an overview. *Diseases*, 4(39): 1-25.
- Ares, G., Besio, M., Gimenez, A., Deliza, R. (2010). Relationship between involvement and functional milk desserts intention to purchase. Influence on attitude towards packaging characteristics. *Appetite*, 55: 298-304.
- Aslani, A., Rafiei, S. (2012). Design, formulation and evaluation of nicotine chewing gum. *Adv Biomed Res*, 1(4): 1-6.
- Aslani, A., Ghannadi, A., Mortazavi, S., Torabi, M. (2013). Design, formulation and evaluation of medicinal chewing gum by the extract of *Salvadora persica* L. *Life Sci J*, 10: 47-55.
- Aslani, A., Ghannadi, A., Raddanipour, R. (2015). Design, formulation and evaluation of *Aloe Vera* chewing gum. *Adv Biomed Res*, 4: 175-182.
- Assous, M.T.M., Abdel-Hady, M.M., Medany, G.M. (2014). Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Ann Agric Sci*, 59(1): 1-7.
- Azevedo, B.M., Morais-Ferreira, J.M., Luccas, V., Bolini, H.M.A. (2017). Bittersweet chocolates containing prebiotic and sweetened with stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) with different Rebaudioside A contents: multiple time-intensity analysis and physicochemical characteristics. *Int J Food Sci Technol*, 52: 1731-1738.
- Belscak-Cvitanovic, A., Komes, D., Benkovic, M., Karlovic, S., Hecimovic, I., Jezek, D., Bauman, I. (2012). Innovative formulations of chocolates enriched with plant polyphenols from *Rubus idaeus* L. leaves and characterisation of their physical, bioactive and sensory properties. *Food Res Int*, 48: 820-830.

- Belscak-Cvitanovic, A., Komes, D., Durgo, K., Vojvodić, A., Bušić, A. (2015a). Nettle (*Urtica dioica* L.) extracts as functional ingredients for production of chocolates with improved bioactive composition and sensory properties. *J Food Sci Technol*, 521(2): 7723-7734.
- Belscak-Cvitanovic, A., Komes, D., Dujmovic, M., Karlovic, S., Biskic, M., Brncic, M., Ježek, D. (2015b). Physical, bioactive and sensory quality parameters of reduced sugar chocolates formulated with natural sweeteners as sucrose alternatives. *Food Chem*, 167: 61-70.
- Bhatt NA, Mehta HS, Sen DJ (2015). Chewing gum and bubble gum: The wonders of gum base. *World J Pharm Pharm Sci*, 4(6): 405-429.
- Bijella MFTB, Brighenti FL, Bijella MFB, Buzalaf MAR (2005). Fluoride kinetics in saliva after the use of a fluoride-containing chewing gum. *Braz Oral Res*, 19(4): 256-260.
- Biswal PK, Kumar A (2013). An updated review on medicated chewing gum. *Int J Adv Pharm Biol Chem*, 2(2): 351-359.
- Bobillo, C., Finlayson, G., Martínez, A., Fischman, D., Beneitez, A., Ferrero, A.J., Fernández, B.E., Mayer, M.A. (2018). Short-term effects of a green coffee extract-, *Garcinia cambogia*- and L-carnitine-containing chewing gum on snack intake and appetite regulation. *Eur J Nutr*, 57(2): 607-615.
- Botelho, P., Galasso, M., Dias, V., Mandrioli, M., Lobato L.P., Rodriguez-Estrada, M.T., Castro, I.A. (2014). Oxidative stability of functional phytosterol-enriched dark chocolate. *LWT-Food Sci Technol*, 55: 444-451.
- Cappa, C., Lavelli, V., Mariotti, M. (2015). Fruit candies enriched with grape skin powders: physicochemical properties. *LWT-Food Sci Technol*, 62: 569-575.
- Chandran, S., Ravi, S., Vipin, K.V., Augusthy, A.R. (2014). Formulation and evaluation of medicated chewing gums containing methyl prednisolone IP. *Int J Chemtech Res*, 6(11): 4810-4816.
- Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2014). Artificial sweeteners—a review. *J Food Sci Technol*, 51(4): 611-621.
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A., Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydr Polym*, 127: 252-263.
- Da Silva, L.B., Queiroz, M.B., Fadini, A.L., Da Fonseca, R.C., Germer, S.P., Efraim, P. (2016). Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açai) on texture and sensorial properties. *LWT-Food Sci Technol*, 65: 268-274.
- Da Silveria, E.O., Lopes Neto, J.H., Da Silva, L.A., Raposo, A.E.S., Magnani, M., Cardarelli, H.R. (2015). The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. *LWT-Food Sci Technol*, 62: 445-451.
- Das, R., Biswas, S., Banerjee, E.R. (2016). Nutraceutical-prophylactic and therapeutic role of functional food in health. *J Nutr Food Sci*, 6(4): 1-17.
- De Morais, E.C., Lima, G.C., De Morais, A.R., Bolini, H.M.A. (2015). Prebiotic and diet/light chocolate dairy dessert: Chemical composition, sensory profiling and relationship with consumer expectation. *LWT-Food Sci Technol*, 62: 424-430.
- Delgado, P., Bañón, S. (2018). Effects of replacing starch by inulin on the physicochemical, texture and sensory characteristics of gummy jellies. *CYTA-J FOOD*, 16(1): 1-10.
- Di Mattia, C.D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., Serafini, M. (2017). From cocoa to chocolate: the impact of processing on *in vitro* antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers *in vivo*. *Front Immunol*, 8: 1-7.
- Dorn, G.A., Savenkova, T.V., Sidorova, O.S., Golub, O.V. (2015). Confectionery goods for healthy diet. *Foods Raw Mater*, 3(1): 70-76.
- El-Kalyoubi, M., Khallaf, M.F., Abdelrashid, A., Mostafa, E.M. (2011). Quality characteristics of

- chocolate e containing some fat replacers. *Ann Agric Sci*, 56(2): 89-96.
- Farber, T.M., Clewell, A.E., Endres, J.R., Hauswirth, J., Van Gemert, M., Schauss, A.G., Sheane, C.A. (2010). Safety assesment of a novel ingredient for removable chewing gum. *Food Chem Toxicol*, 148: 831-838.
- Furlán, L.T.R., Baracco, Y., Lecot, J., Zaritzky, N., Campderrós, M.E. (2017). Effect of sweetener combination and storage temperature on physicochemical properties of sucrose free white chocolate. *Food Chem*, 229: 610-620.
- Gadhiya, D., Patel, A., Prajapati, J.B. (2015). Current trend and future prospective of functional probiotic milk chocolates and related product-a Review. *Czech J Food Sci*, 33(4): 295-301.
- Giacometti, J., Muhvić, D., Pavletić, A., Đudarić, L. (2016). Cocoa polyphenols exhibit antioxidant, antiinflammatory, anticancerogenic, and antinecrotic activity in carbon tetrachlorideintoxicated mice. *J Funct Foods*, 23: 177-187.
- Goran, M.I., Ulijaszek, S.J., Ventura, E.E. (2013). High fructose corn syrup and diabetes prevalence: a global perspective. *Glob Public Health*, 8(1): 55-64.
- Grembecka, M. (2015). Sugar alcohols-their role in the modern world of sweeteners: a review. *Eur Food Res Technol*, 241: 1-14.
- Hartel, R.W., Von Elbe, J.H., Hofberger, R. (2018). *Confectionery Science and Technology*. Springer International Publishing, Switzerland, 536p.
- Harwood, M.L. (2013). A novel method to assess consumer acceptance of bitterness in chocolate products. Master Degree Thesis, The Pennsylvania State University, USA, 114 p.
- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Misnawi, J., Cloke, M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *As J Food Ag-Ind*, 2: 702-722.
- Hinkova, A., Bubnik, Z., Kadlec, P. (2015). Chemical Composition of Sugar and Confectionery Products. In: *Handbook of Food Chemistry*, Peter, C.K.C. (chief ed.), Springer-Verlag, Berlin, pp. 585-626.
- Hooda, R. (2015). Formulation development of a Herbal Candy for Altitude Health Problems. *Res Rev J Pharmacogn Phytochem*, 3(4): 22-36.
- Hunter, P.M., Hegele, A.R. (2017). Functional foods and dietary supplements for the management of dyslipidaemia. *Nat Rev Endocrinol*, 13(5): 278-288.
- Imfeld, T. (2006). Chlorhexidine-containing chewing gum. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 116: 476-483.
- Jadhav, A.V., Mohite, S.K. (2014). Development and optimization of medicated chewing gum containing dimenhydrinate. *Int J Univers Pharm Bio Sci*, 3(6): 15-31.
- Kemsawasd, V., Chaikhram, P., Rattanasena, P. (2016). Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Biosci*, 16: 37-43.
- Keukenmeester, R.S., Slot, D.E., Putt, M.S., Van der Weijden, G.A. (2013). The effect of sugar-free chewing gum on plaque and clinical parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent Hyg*, 11: 2-14.
- Khalifa, F.K. (2017). Prebiotics as fat replacers. *Int J Adv Res*, 5(6): 1466-1473.
- Khapre, A.P. (2010). Standardization of technology for development of guava-soybean toffee as a protein enriched product. *Food Sci Res J*, 1(2): 154-156.
- Kharat, V.T., Deshpande, H.W. (2017). Studies on proximate analysis and microbial analysis of probiotic chocolate. *J Pharmacogn Phytochem*, 6(5): 407-411.
- Kohinkar, S.N., Chavan, U.D., Pawar, V.D., Amarowicz, R. (2014). Studies on preparation of mixed fruit toffee from fig and guava fruits. *J Food Sci Technol*, 51(9): 2204-2209.
- Komes, D., Horžić, D., Belščak-Cvitanović, A. (2011). Food polymers as gelatine replacers in confectionary industry. 11th International Congress on Engineering and Food, "Food Process Engineering in a Changing World", Atena, Grčka, 22-26.05.2011.

- Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., Škrabal, S., Vojvodić, A., Bušić, A. (2013). The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *LWT-Food Sci Technol*, 53: 360-369.
- Kumar, R., Solanki, P., Chandra, A. (2014). Medicated chewing gum-A novel drug delivery system: An updated review. *Am J Adv Drug Deliv*, 2: 434-450.
- Konar, N., Toker, O.S., Oba, S., Sagdic, O. (2016a). Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic and/or symbiotic characteristics. *Trends Food Sci Technol*, 49: 35-44.
- Konar, N., Palabiyik, I., Toker, O.S., Sagdic, O. (2016b). Chewing gum: Production, quality parameters and opportunities for delivering bioactive compounds. *Trends Food Sci Technol*, 55: 29-38.
- Lalicic-Petronijevic, J., Popov-Raljac, J., Lazic, V., Pezo, L., Nedovic, V. (2017). Synergistic effect of three encapsulated strains of probiotic bacteria on quality parameters of chocolates with different composition. *J Funct Foods*, 38: 329-337.
- Larsson, S.C., Bergkvist, L., Wolk, A. (2006). Consumption of sugar and sugar sweetened foods and the risk of pancreatic cancer in a prospective study. *Am J Clin Nutr*, 84: 1171-1176.
- Malik, V.S., Pan, A., Willett, W.C., Hu, F.B. (2013). Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: A systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 98(4): 1084-1102.
- Manjula, K., Suneetha, C. (2014). Formulation and development of functional confectionery by incorporating pumpkin juice. *Int J Food Agri Vet Sci*, 4(1): 47-52.
- Mehta, F.F., Rajagopalan, R., Trivedi, P. (2017). Formulation and characterization of caffeine biodegradable chewing gum delivery system for alertness using plasticized poly(D,L-lactic acid) as gum base. *Trop J Pharm Res*, 16(7): 1489-1496.
- Mutlu, C., Tontul, S.A., Erbaş, M. (2018). Production of a minimally processed jelly candy for children using honey instead of sugar. *LWT-Food Sci Technol*, 93: 499-505.
- Noble, M.D. (2017). Chocolate and the consumption of forests: A cross-national examination of ecologically unequal exchange in cocoa exports. *J World-Syst Res*, 23(2): 236-268.
- Oracz, J., Nebesny, E. (2016). Antioxidant properties of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.): Influence of cultivar and roasting conditions. *Int J Food Prop*, 19: 1242-1258.
- Pagare, P.K., Satpute, C.S., Jadhav, V.M., Kadam, V. (2012). Medicated chewing gum: A novel drug delivery system. *J Appl Pharm Sci*, 2(7): 40-54.
- Pedroso, D.L., Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Braz J Microbiol*, 44: 777-783.
- Piccone, P., Rastelli, S.L., Pittia, P. (2011). Aroma release and sensory perception of fruit Candies model systems. *Procedia Food Sci*, 1: 1509-1515.
- Pickford, E.F., Jardine, N.J. (2000). Functional confectionery. In: *Functional Foods, Concept to Product*, Gibson, G.R., Williams, C.M. (eds), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 259-286.
- Pogorzelska-Nowicka, E., Atanasov, A.G., Horbanczuk, J., Wierzbicka, A. (2018). Bioactive compounds in functional meat products. *Molecules*, 23(2): 1-19.
- Rezende, N.V., Benassi, M.T., Vissotto, F.Z., Augusto, P.P.C., Grossman, M.V.E. (2015). Mixture design applied for the partial replacement of fat with fiber in sucrose-free chocolates. *LWT-Food Sci Technol*, 62: 598-604.
- Rumora, I., Kobrehel Pintarić, I., Gajdoš Kljusurić, J., Marić, O., Karlović, D. (2013). Efficient use of modelling in new food-product design and development. *Acta Aliment*, 42(4): 565-575.
- Saini, R.D. (2017). Chemistry of functional foods and their role in disease control. *Int J Biochem Biotechnol*, 13(2): 191-203.

- Sakhale, B.K., Chalwad, R.U., Pawar, V.D. (2012). Standardization of process for preparation of fig-mango mixed toffee. *Int Food Res J*, 19(3): 889-891.
- Saputro, A.D., Van de Walle, D., Aidoo, R.P., Mensah, M.A., Delbaere, C., De Clercq, N., Van Durme, J., Dewettinck, K. (2017). Quality attributes of dark chocolates formulated with palm sap-based sugar as nutritious and natural alternative sweetener. *Eur Food Res Technol*, 243: 177-191.
- Scheid, M.M.A., Moreno, Y.M.F., Marostica-Júnior, M.R., Pastore, G.M. (2013). Effect of prebiotics on the health of the elderly. *Food Res Int*, 53: 426-432.
- Sentko, A., Willibald-Ettle, I. (2012). Isomalt. In: *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*, O'Donnell, K., Kearsley, M.W. (eds.), Oxford, Wiley Blackwell, pp. 243-273.
- Shah, K.R., Mehta, T.A. (2014). Medicated chewing gum-A mobile oral drug delivery system. *Int J Pharmtech Res*, 6(1): 35-48.
- Shete, R.B., Muniswamy, V.J., Pandit, A.P., Khandelwal, K.R. (2015). Formulation of eco-friendly medicated chewing gum to prevent motion sickness. *AAPS PharmSciTech*, 16(5): 1041-1050.
- Shourideh, M., Taslimi, A., Azizi M.H., Mohammadifar, M.A. (2012). Effects of D-Tagatose and inulin on some physicochemical, rheological and sensory properties of dark chocolate. *Int J Biosci Biochem Bioinforma*, 2(5): 314-319.
- Silva, M.P., Tulini, F.L., Marinho, J.F.U., Mazzocato, M.C., De Martinis, E.C.P., Luccas, V., Favaro-Trindade, C.S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Sci Technol*, 75: 640-647.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food product development marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51: 456-467.
- Szakály, Z., Sente, V., Kövér, G., Polereczki, Z., Szigeti, O. (2012). The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite*, 58: 406-413.
- Toker, O.S., Konar, N., Palabiyik, I., Pirouzian, H.R., Oba, S., Polat, D.G., Poyrazoglu, E.S., Sagdic, O. (2018a). Formulation of dark chocolate as a carrier to deliver eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids: Effects on product quality. *Food Chem*, 254: 224-231.
- Toker, O.S., Pirouzian, H.R., Konar, N., Polat, D.G. (2018b).  $\beta$ V seeding as an alternative pre-crystallization technique in synbiotic milk chocolate production. *GIDA*, 43(3): 422-431.
- Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J Funct Foods*, 9: 225-241.
- Vasudha, L.S., Hemant, K.S.Y., Mahesh, K.P., Abhay, R., Navya, M., Ayaz, A., Nagavarma, B.V.N. (2014). Medicated chewing gum: An overview. *Res Rev J Dent Sci*, 2(2): 50-64.
- Yang, Y., Yin, J., Shao, B. (2011). Simultaneous determination of five aluminum lake dyes in chewing gum by HPLC with photodiode array detection. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 28(9): 1159-1167.
- Zarić, D.B., Bulatović, M.L., Rakin, M.B., Krunić, T.Z., Lončarević, I.S., Pajin, B.S. (2016). Functional, rheological and sensory properties of probiotic milk chocolate produced in a ball mill. *RSC Adv*, 6: 13934-13941.



## PEKTİN; KAYNAKLARI VE EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

**Derya Atalay\*, Tuğba Türken, Hande Selen Erge**

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölköy Kampüsü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 07.08.2018; Kabul / Accepted: 08.11.2018; Online baskı / Published online: 03.12.2018

Atalay, D., Türken, T., Erge, H.S. (2018). Pektin; kaynakları ve ekstraksiyon yöntemleri. *GIDA* (2018) 43 (6): 1002-1018 doi: 10.15237/gida.GD18089

Atalay, D., Türken, T., Erge, H.S. (2018). *Pectin; sources and extractions methods. GIDA (2018) 43 (6): 1002-1018 doi: 10.15237/gida.GD18089*

### ÖZ

Bir heteropolisakarit olan pektin; kıvam verici, jelleştirici, emülsifiye edici ve stabilize edici özelliklere sahip olmasından dolayı gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ticari pektinler, genellikle turuncuğil kabuğu, elma posası ve daha az oranda şeker pancarı posasından üretilmektedir. Pektinin, posa veya kabuklardan ekstrakte edilmesinde kullanılan en yaygın ve geleneksel yöntem asitle ekstraksiyondur. Son yıllarda, pektin kaynaklarının yetersiz olması ve asit ekstraksiyonunun dezavantajlarından dolayı hem yeni kaynak hem de yeni ekstraksiyon yöntemi araştırmaları önem kazanmıştır. Özellikle, meyve ve sebze işletmeleri artıklarının değerlendirilmesi amacıyla nar, üzüm, havuç gibi yeni hammadde kaynakları ile ekstraksiyon verimini artıracak mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve sub-kritik su ekstraksiyonu gibi yenilikçi teknolojilerin kullanımı çalışmalarda yer edinmiştir. Bu derleme kapsamında, son yıllarda dikkat çeken farklı pektin kaynakları ve ekstraksiyon yöntemleri derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** pektin, ekstraksiyon, fabrika artıkları, ultrasonik, mikrodalga

## PECTIN; SOURCES AND EXTRACTIONS METHODS

### ABSTRACT

Pectin, a heteropolysaccharide; is used as an additive in the food industry because it has thickening, gelling, emulsifying and stabilizing properties. Commercial pectins are usually produced from citrus peels, apple pomaces and less commonly sugar beet pomaces. The most common and traditional method of extracting pectin from pomaces or peels is acid extraction. In recent years, both new sources and new extraction methods have become important due to the inadequacy of pectin sources and the disadvantages of acid extraction. Especially, the use of new raw materials as pomegranate, grape, carrot for the valorization of the wastes of fruit and vegetable industry and the use of innovative technologies such as microwave assisted extraction, ultrasound assisted extraction and sub-critical water extraction, which will increase the efficiency of extraction, have taken place in studies. Within the scope of this review, different pectin sources and extraction methods, which have attracted attention in recent years, have been compiled.

**Keywords:** pectin, extraction, factory wastes, ultrasonic, microwave

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ deryaatalay@ibu.edu.tr,

☎ (+90) 374 254 1000-4845

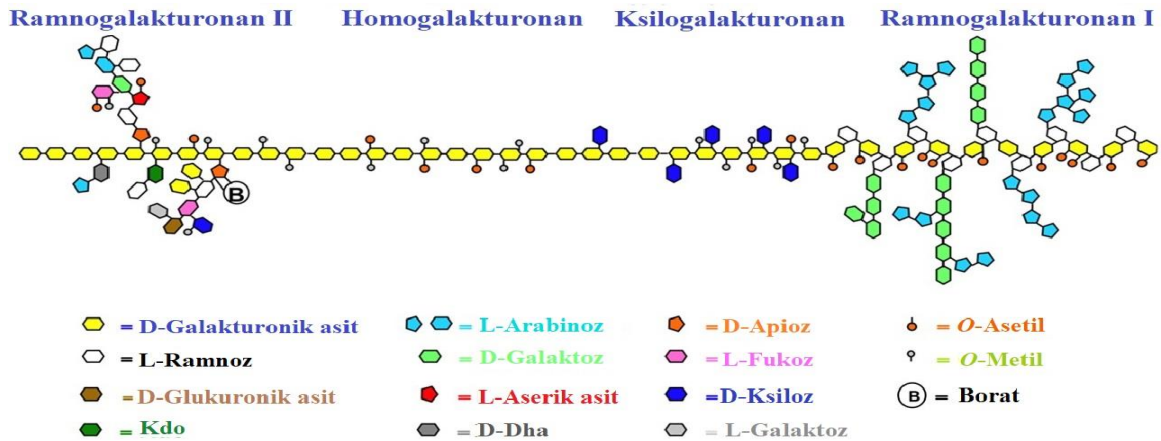
☎ (+90) 374 253 4558

## GİRİŞ

Pektin, tüm yüksek yapılı bitkilerin orta lamelinde birincil hücre duvarı ve hücrelerarası bölgeler içinde yer alan kompleks yapıya sahip bir heteropolisakarittir (Babbar vd., 2016; Müller-Maatsch vd., 2016; Raji vd., 2017; Grassino vd., 2018). Hücre duvarı polisakaritleri arasında önemli bir yere sahip olan pektin, gıda ve biyomedikal uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Shpigelman vd., 2015; Mierczyńska vd., 2017). Pektin, ilk kez Fransız kimyager Louis Nicolas Vauquelin tarafından 1790 yılında elma suyunda tespit edilmiş ancak Fransız kimyager Henri Braconnot tarafından 1825 yılında izole edilerek Yunanca'da katılaştırıcı ve sertleştirici anlamına gelen *pektikos* kelimesi türetilerek "pektin" olarak isimlendirilmiştir. Sonrasında pektin, farklı bilim dallarından birçok bilim insanı tarafından yoğun bir şekilde çalışmalara konu edilmiştir (Şimşek, 2013; Chan vd., 2017).

Pektinin kimyasal yapısı; kaynağı, bitkideki yeri ve ekstraksiyon metoduna bağlı olarak heterojen özellik göstermektedir (Müller-Maatsch vd., 2016). Pektin, D-galakturonik asitçe zengin polimerlerden ve önemli oranda L-ramnoz, D-arabinoz ve D-galaktoz gibi 13 farklı monosakkaritten oluşmaktadır (Naqash vd., 2017; Marić vd., 2018). Homogalakturnan, ramnogalakturnan I ve II ile ksilogalakturnan, pektinin yapısında en yaygın bulunan polisakaritlerdir. Pektinin %50-90 düzeyinde homogalakturnandan oluştuğu bildirilmektedir

(Pasandide vd., 2017). Pektin molekülü, tüm yapısı boyunca lineer zincir (düz bölge, smooth) ve yan zincirlerin (dallı, hairy) bulunduğu kısımlardan oluşmaktadır. Düz bölgeler homogalakturnanlardan oluşurken, ramnogalakturnanlar da dallı bölgeyi oluşturmaktadır (Naqash vd., 2017; Marić vd., 2018). Kimyasal yapısına bakıldığında pektin (Şekil 1); 1,4 bağlı  $\alpha$ -D-galakturonik asidin lineer polimerlerinden oluşmakla birlikte bu lineer zincirde 1,2 bağlı  $\alpha$ -L-ramnoz birimleri bulunabilmekte ve galakturonik asidin karboksil gruplarının bir kısmı metil alkol ile esterleşebilmektedir (Canteri-Schemin vd., 2005; Seggiani vd., 2009; Shpigelman vd., 2015; Müller-Maatsch vd., 2016; Marić vd., 2018). Bu kapsamda, metoksillenme derecesi galakturonik asit zincirinde 6. karbondaki atomların metil alkolle esterleşme (metoksillenme) yüzdesi ile belirtilmektedir (Pereira vd., 2016; Marić vd., 2018). Esterleşmiş karboksil gruplarının toplam karboksil gruplarına oranı, esterleşme derecesi olarak bilinmektedir ve pektinin jelleştirici özelliği üzerinde etkilidir. Ticari pektin, esterleşme derecesine göre yüksek metoksilli pektin ve düşük metoksilli pektin olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Esterleşme derecesi %50' den fazla olan pektinler yüksek metoksilli pektinler (high-methoxyl pectin, HMP); %50' den az olanlar ise düşük metoksilli pektinler (low-methoxyl pectin, LMP) olarak adlandırılmaktadırlar (Canteri-Schemin vd., 2005; Abid vd., 2017; Naqash vd., 2017; Baldino vd., 2018; Marić vd., 2018).



Şekil 1. Pektinin şematik yapısı (Kdo, 3-deoksi-D-manno-2-oktulosonik asit; Dha, 3-deoksi-D-likso-2-heptulosarik asit) (Harholt vd., 2010 izniyle)

Yüksek metoksilli pektinler, pH 3.5 değerinin altındaki koşullarda, konsantrasyonu %55' in üzerindeki sükröz çözeltisi ile ısıtıldığında, kolay bir şekilde jelleşebilmektedirler. Düşük metoksilli pektinlerin jel oluşturabilmesi için  $Ca^{+2}$  iyonlarına gereksinim duyulmaktadır (Seggiani vd., 2009; Pereira vd., 2016). Düşük metoksilli pektinin diğer bir çeşidi ise amide edilmiş pektindir (low-methoxyl amide pectin, LMA) ve bu pektin düşük metoksilli pektinin amonyak ile işlem görmesi ile metil ester gruplarının %15-25'inin amid gruplarına dönüşmesi sonucunda oluşmaktadır (May, 1990; Chan vd., 2017).

Pektin (E 440); gıda, beslenme, kozmetik, ilaç ve sağlık sektöründe jelleştirici, stabilizatör, kıvamlaştırıcı, parlatici, korozyon önleyici ve emülgatör olarak kullanılan bir katkı maddesidir (May, 1990; Umoren ve Eduok, 2016; Morales-Contreras vd., 2018). Pektinin, reçel gibi gıdalarda jelleştirici ajan; bazı şekerlemelerde, içeceklerde ve süt ürünlerinde stabilizatör; salata soslarında, dondurmada ve emülsifiye et ürünlerinde yağ yerine geçen madde olarak kullanıldığı aktarılmaktadır. Ayrıca; ilaç ve tıp alanlarında kan kolestrol seviyesini ve glikoz miktarını düşürücü, kanser hücrelerinin apoptozunu sağlayarak kanser önleyici, bağışıklık sistemini geliştirici, ilaç formülasyonlarında bağlayıcı ve kilo kaybında yararlı olduğu belirtilmektedir (Abid vd., 2016; Grassino vd., 2016b, 2018; Umoren ve Eduok, 2016; Pasandide vd., 2017; Raji vd., 2017; Baldino vd., 2018). Belirtilen kullanım alanlarına ek olarak pektin, nanoemülsiyonlar gibi gıda hidrokolloidlerinde stabilizatör ve gıda bileşenlerinin enkapsülasyonunda taşıyıcı polimer olarak kullanılabilir (Grassino vd., 2018; Mungure vd., 2018). Dünya genelinde, pektinin geniş kullanım olanaklarından dolayı gün geçtikçe talebi artmaktadır (Raji vd., 2017).

Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri pektin üretiminde önemli pazar payına sahip ülkelerdir. 2015 yılı verilerine göre, satış fiyatı kilogram başına 15 \$ olan pektinin küresel market değerinin 1 milyar dolara yaklaştığı ve yıllık üretim miktarının 60 bin ton civarında olduğu bilinmektedir (Ciriminna vd., 2016). Pektin cazip bir yatırım olarak görüldüğü için, CP Kelco,

Cargill, Calleva, Yantai Andre Pektin, DuPont, FMC Biopolymers, Herbstreith & Fox gibi şirketler tarafından sanayileştirilmektedir. Küresel markette satılan pektinin sürekli artışta olduğu belirtilmektedir (Chan vd., 2017). Ülkemizde pektin üretimi olmamakla birlikte, pektinin ithalatı ile ilgili sayısal verilere ulaşılamamıştır. Ancak, pektin kullanan firmalardan alınan bilgilere göre pektinin Avrupa kaynaklı firmalardan ithal edildiği bilinmektedir.

Bitki türlerinde büyük oranda çeşitlilik olmasına rağmen pektinin ticari kaynaklarının sınırlı olduğu bilinmektedir. Günümüzde, ticari amaçla kullanılan pektinlerin çoğu turunçgil kabuğundan (%85.5) üretilirken, ikinci kaynak olarak elma posası (%14) ve daha az oranda şeker pancarı posası (%0.5) kullanılmaktadır (Chan vd., 2017). Pektik polisakkarit kaynakları arasında, gıda artıkları önemli bir yer tutmaktadır. Tarım ve gıda endüstrisi artıkları hayvan beslenmesinde, gübre üretiminde ve biyoenerji üretiminde önemli rol oynamaktadır. Ancak gıda teknolojisi açısından daha değerli ürünlerin üretilmesi üzerine çalışmalar hız kazanmaktadır (Moorthy vd., 2015; Müller-Maatsch vd., 2016).

Son yıllarda, pektin kaynağı olarak limon, portakal ve elma gibi hammaddelerin yanı sıra pomelo kabuğu (Quoc vd., 2015), şeker pancarı (Huang vd., 2018), havuç (Şimşek, 2013; Jafari vd., 2017), nar kabuğu (Moorthy vd., 2015; Abid vd., 2017), karpuz kabuğu (Petkovic vd., 2017), domates (Grassino vd., 2016a; Morales-Contreras vd., 2018), ayçiçeği (Kang vd., 2015) ve muz (Oliveira vd., 2016) gibi kaynaklar çalışmalara konu olmaktadır. Ayrıca, geleneksel asit ekstraksiyonuna ek olarak ultrasonik (Grassino vd., 2016a), mikrodalga (Košťálová vd., 2016), sub-kritik su (Wang vd., 2014) ve enzimatik (Sabater vd., 2018) ekstraksiyon gibi yöntemler dikkat çekmektedir. Bu derleme kapsamında, son yıllardaki çalışmalarda dikkat çeken pektin kaynakları ve üretim yöntemleri derlenmiştir.

#### PEKTİN KAYNAKLARI

Ticari pektin üretiminde portakal kabuğu ve elma posasının yaygın olarak kullanıldığı bilinmekle birlikte farklı bitki türlerinin pektin içerikleri ve



fizikokimyasal özellikleri birçok çalışmada incelenmiştir. Pektin kaynağı olarak kullanılabilir ve son yıllarda dikkat çeken bazı çalışmalar ve sonuçları aşağıda belirtilmiştir.

### **Elma**

Ticari pektin üretiminde kullanılan elma posası, genellikle fabrikalarda üretimden arta kalan yan üründür. Turunçgillerden sonra pektin kaynağı olarak en yaygın kullanılan ikinci hammadde olduğu bilinmektedir (May, 1990). Elma posasındaki pektinin daha çok asitte çözünebilen bir polisakkarit olan protopektin olarak bulunduğu belirtilmektedir (Canteri-Schemin vd., 2005). Yapılan bir çalışmada, 9 farklı elma türünden pektin üretimi ve özellikleri incelenmiştir. Elma posaları, pH değeri 2.5 olan sitrik asit ile 97 °C'de 30 dakika boyunca ekstrakte edilmiş, soğutma işleminin ardından alkol ilave edilerek pektin floklaştırılmıştır. Sonuç olarak, yapılan analizlerle farklı elma türlerinde önemli bir verim farkı bulunmadığı ve esterleşme derecesinin yaklaşık %68.84 olduğu aktarılmaktadır. Ayrıca, optimum pektin veriminin %18-20 aralığında olduğu bildirilmektedir (Canteri-Schemin vd., 2005).

Dünya genelinde en çok tüketilen meyvelerden biri olan elma; pektin, fitokimyasallar ve fenolikler gibi maddelerin önemli bir kaynağıdır. Her yıl yaklaşık 70 milyon ton elma üretilmektedir. Elma; reçel, elma suyu, elma şırası ve sirke gibi birçok sektörde kullanılmakta ve elma posası olarak bilinen artık oluşmaktadır. Elma posasının pektin içeriği bakımından zengin olduğu, bu nedenle en önemli pektin kaynaklarından biri olarak değerlendirildiği bildirilmektedir (Perussello vd., 2017). Tarımsal yan ürünlerden pektin oligosakkarit üretimi ile ilgili yapılan bir derlemede, fabrikalarda elmanın işlenmesi sonucunda %25-35'lik bir kısmın elma posası yan ürünü olarak elde edildiği aktarılmaktadır. Elmanın yüksek oranda ramnogalakturonan ve ksilogalakturonandan oluşan dallı polisakkaritler içerdiği bilinmektedir (Babbar vd., 2016).

Müller-Maatsch ve ark. tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada; içerisinde tüm elma, fabrika artığı olan elma küspesi ve posası da bulunan bir

çok meyve ve sebze, pektin içeriği açısından değerlendirilmiştir. Pektin verimi bakımından elma küspesinin, üronik asit içeriği bakımından ise elma posasının diğer hammaddelere kıyasla ön plana çıktığı bildirilmektedir (Müller-Maatsch vd., 2016). Elma posasından pektin üretilen bir çalışmada Celluclast 1.5 L enzimi farklı oranlarda kullanılmış ve enzim uygulamasının, asit uygulamalarına göre daha etkili olduğu belirtilmiştir. Kullanılan enzim dozu arttıkça verimin arttığı ancak esterleşme derecesi ile galakturonik asit içeriğinde değişiklik gözlenmediği aktarılmıştır (Wikiera vd., 2015b).

### **Turunçgiller**

Turunçgillerin tüm dünya tarafından en fazla yetiştirilen ve tüketilen meyvelerden olduğu bilinmektedir. Portakal meyvesinin yaklaşık %40-60'ı portakal suyu fabrikalarında artık olarak ayrılmaktadır (Babbar vd., 2016). Turunçgiller arasında pektin üretimi için genellikle portakal kabuğu kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında portakal ve limon dikkat çekmektedir. Müller-Maatsch ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada 26 farklı gıda artığı kullanılarak pektin üretimi gerçekleştirilmiştir. En yüksek pektin polisakkarit içeriğinin portakal kabuğunda (247 mg/g) tespit edildiği belirtilmektedir (Müller-Maatsch vd., 2016). Portakal, greylim, limon ve misket limonu gibi turunçgillerin pektin içeriklerinin sırasıyla %11-25, %22-28, %21-31 ve %9-34 olduğu aktarılmaktadır (Chan vd., 2017).

Asya ülkelerinde yaygın bir şekilde yetiştirilen ve tüketilen ağaç kavunu (*Citrus medica*) kabuğu pektin içeriği açısından zengin bir meyvedir. Pasandide ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada; ağaç kavunu kabuğundan pektin ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon koşulu olarak 70-90 °C sıcaklık, 60-180 dk süre ve 20-40 katı/sıvı oranı kullanılan çalışmada, verim açısından optimum koşullar 90 °C, 180 dk ve 40 katı/sıvı olarak tespit edilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında %21.85 verim ve 77.2 esterleşme derecesi elde edildiği bildirilmektedir (Pasandide vd., 2017). Mikrodalga ekstraksiyon ile portakal kabuğundan pektin eldesi üzerine yapılan bir çalışmada; maksimum pektin verimi (%19.24)

için 422 Watt mikrodalga gücünün, 169 saniye ekstraksiyon süresinin, pH 1.4 değerinde çözeltinin ve 1/16.9 katı/sıvı oranının uygulanması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır (Prakash Maran vd., 2013).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda farklı pektin kaynaklarının araştırılması kadar farklı ekstraksiyon yöntemleri de önem kazanmaktadır. Greyfurt kabuğundan ultrasonik destekli ekstraksiyon yardımıyla pektin üretilmesi üzerine yapılan bir çalışmada, optimum pektin verimi (%27.34) için 12.56 W/cm<sup>2</sup> ultrasonikasyon gücünün, 66.71 °C'de ve 27.95 dakika boyunca uygulandığı; geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha yüksek verim, düşük sıcaklık ve kısa süre sağlandığı belirtilmektedir (Wang vd., 2015).

### Şeker Pancarı

Şeker pancarı rafine endüstrisinin yan ürünü olan şeker pancarı posasının yaklaşık %25 oranında pektin içerdiği ve hayvan beslenmesinde kullanıldığı belirtilmektedir. Şeker pancarının yaygın olmasının, pektin kaynağı olarak kullanılması ve ekstraksiyonda farklı yöntemlerin uygulanması açısından önemli olduğu düşünülmektedir (Babbar vd., 2016; Huang vd., 2018). Farklı partikül boyutunda öğütülen şeker pancarı posası tozundan, asitle ısıtılarak pektin ekstraksiyonu yapılan bir çalışmada, verim ve reolojik özellikler incelenmiştir. Toz formundaki şeker pancarı posasının partikül boyutu azaldıkça ekstraksiyon veriminin ve galakturonik asit içeriğinin arttığı aktarılmaktadır. Diğer taraftan, partikül büyüklüğü arttıkça içsel viskozite ve görünen viskozite gibi değerlerin arttığı belirtilmiştir (Huang vd., 2018). Diğer bir çalışmada şeker pancarı posasından elde edilen pektin içeriğinin %15-30 olduğu ve yüksek metoksilli pektin olarak bulunduğu bildirilmektedir (Adetunji vd., 2017). Şeker pancarı posasından pektinin ekstrakte edildiği bir çalışmada mikrodalgadan yararlanıldığı (150-250 Watt; 2-4 dk), asit olarak sülfürik asidin kullanıldığı ve bu koşullarda verimin %5-32 aralığında arttığı belirtilmektedir (Marić vd., 2018).

Şeker pancarı pektininin; daha kısa homogalakturonan zincirine ve daha fazla yan

zincirlere ve yüksek asetilasyon derecesine sahip olduğu ve bu durumun jelleşme özelliklerini olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (Babbar vd., 2016).

### Ayçiçeği

Pektin kaynağı olarak kullanılacak diğer bir kaynak, ayçiçeği tablasıdır. Ayçiçeği tohumlarının bulunduğu beyaz kısmın, galakturonik asit miktarı yüksek pektin içeriği bakımından zengin olduğu bilinmektedir (May, 1990). Ayçiçeği tablası pektininin, düşük metoksilli özellik gösterdiği belirtilmektedir. Kang ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada 85 °C sıcaklıkta, 3.5 saat boyunca %0.6 sodyum sitrat ile ayçiçeği tablasından pektin ekstrakte edilmiştir. Ultrafiltrasyon membran kullanılarak pektin ekstraktının saflaştırıldığı bu çalışmada, maksimum üronik asit içeriği %16.9 olarak bulunmuştur. Ayrıca, pektin ağ yapısının birbirine geçerek sarmal bir yapıya sahip mikrofilamentlerden oluştuğu aktarılmıştır (Kang vd., 2015).

### Muz

Muz meyvesi çoğunlukla taze tüketilmesine rağmen muz unu, çips ve püre gibi ürünlere işlenmektedir. Muz kabuğu, meyvenin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Muz kabuklarının pektin, selüloz lifi ve fenolik bileşik kaynağı olarak kullanılması hem ekonomik hem de çevresel faktörler açısından yüksek değer oluşturmaktadır (Oliveira vd., 2016). Sitrik asit ile muz kabuklarından pektin ekstrakte edilen bir çalışmada, pH değerinin 2-4.5, ekstraksiyon sıcaklığının 70-90 °C ve sürenin 120-240 dakika aralığında değiştiği bildirilmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük pH değerleri gibi sert ekstraksiyon koşullarının pektin verimini artırdığı ancak, metoksillenme derecesini düşürdüğü belirtilmektedir. Maksimum galakturonik asit veriminin sağlandığı ve metoksillenme derecesinin en az %51 ile sabit tutulduğu, pektin ekstraksiyonunda optimum koşulların 87 °C, 160 dk ve pH değerinin 2 olduğu aktarılmaktadır (Oliveira vd., 2016).

Muz kabuğundan elde edilen pektin veriminin ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterdiği

bilinmektedir. Örneğin; muz kabuğundan organik asit ile geleneksel asit ekstraksiyonunda pektin veriminin %5.2-12.2; hidroklorik asit ile mikrodalga ekstraksiyonunda ise %1.09-2.17 aralığında değiştiği bildirilmektedir (Marić vd., 2018).

### **Pomelo**

Pomelo meyvesi turuncgillere bağlı, Vietnam'da yaygın şekilde yetiştirilen bir meyvedir. Süngerimsi beyaz kabuk kısmı toplam meyve ağırlığının %30'undan fazla olabilmekte ve pektin içeriği bakımından zengin olduğu bilinmektedir (Quoc vd., 2015). Mikrodalga ekstraksiyonu ile pomelo meyvesinden pektin ekstraktında farklı pH değerlerindeki çözeltiler, mikrodalga gücü ve süresi uygulanmıştır. pH 2.5 değerinde, 1/40 meyve/çözelti oranında, 660 W ve 9 dakikalık uygulama koşullarında en iyi sonuçların alındığı belirtilmiştir. Elde edilen pektinin veriminin %23.83 oranlarına ulaştığı ve yüksek metoksilli pektin (%92.75 metoksillenme derecesi) sınıfına girdiği aktarılmaktadır (Quoc vd., 2015).

### **Domates**

Domates; salça, domates suyu, püre, ketçap ve sos gibi çeşitli ürünlere işlenen ve yaygın bir şekilde tüketilen bir meyvedir. Üretimden arda kalan domates artığı, çoğunlukla hayvan beslenmesinde veya gübre olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda vitaminler, karotenoidler, esansiyel yağlar ve pektin gibi çeşitli fonksiyonel bileşenlerin üretiminde kullanılması, birçok bilimsel çalışmaya konu olmaktadır. Domates yan ürünlerinin pektin kaynağı olarak kullanımı sınırlı kalmıştır (Grassino vd., 2016a,b).

Konserve fabrikası artığı olan domates kullanılarak yapılan bir araştırmada, amonyum okzalit/ okzalik asit kullanılarak geleneksel ekstraksiyon ve 37 kHz gücünde 60 °C ve 80 °C sıcaklıklarda ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Ekstrakte edilen pektinlerde verim ve kimyasal özellikler gibi sonuçlar değerlendirilerek kıyaslama yapılmıştır. Sonuç olarak, geleneksel ekstraksiyonda 60 °C'de daha yüksek verim elde edilmesine rağmen ultrasonik destekli ekstraksiyonda 15 dakikalık işlem ile daha kaliteli pektin (anhidroöronik asit,

esterleşme derecesi vb.) elde edildiği belirtilmektedir. 80 °C sıcaklıkta bu iki yöntem kıyaslandığında birbirine benzer sonuçlar elde etmek için geleneksel ve ultrasonik destekli ekstraksiyonda sırasıyla 24 saat ve 15 dakikalık sürelerin kullanılması gerektiği; bu sebeplerden dolayı ultrasonik destekli ekstraksiyonunun daha kısa süreli ve çevre dostu olduğu bildirilmektedir. Domatesten üretilen pektin veriminin %35.7 değerlerine kadar çıkabildiği de bu çalışmada gösterilmektedir (Grassino vd., 2016a). Morales-Contreras ve ark. tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışmada, domatese benzeyen tomatillo adı verilen meyveden pektin elde edilerek reolojik özellikleri incelenmiştir. Ekstraksiyonda hidroklorik asit ve sitrik asit kullanılmıştır. Hidroklorik asit ile üretilen tomatillo pektininin, sitrik asitle üretilene kıyasla daha sert yapıda jel özellik gösterdiği belirtilmektedir (Morales-Contreras vd., 2018).

### **Nar**

Nar, taze olarak ve meyve suyu, reçel ve jöleler gibi ürünler ile önemli oranda tüketilen Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştiren bir meyvedir. Nar kabuğu, meyvenin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır ve büyük bir üretim artışı olarak düşünülmektedir (Abid vd., 2016). Yüzey yanıt yöntemi kullanılarak farklı ekstraksiyon sıcaklığı, süresi ve çözücü pH değerleri kullanılarak, nar kabuğundan pektin eldesi üzerine yapılan bir çalışmada verimin %6.4-11.0 aralığında bulunduğu aktarılmaktadır. Ayrıca, nar kabuğundan pektin eldesinde 86 °C, 80 dakika ve 1.7 pH koşullarının optimum olduğu ve pektinin düşük metoksilli özellikte olduğu bulunmuştur (Abid vd., 2016)

Moorthy ve ark. (2015) tarafından yapılan, nar kabuğundan ultrasonik destekli pektin ekstraksiyonu çalışmasında, optimum koşullar pH değeri için 1.27, ekstraksiyon süresi için 28.3 dk ve ekstraksiyon sıcaklığı için 61.9 °C bulunmuştur. Bu koşullar altında pektin veriminin %23.87'ye ulaştığı bildirilmiştir (Moorthy vd., 2015).

### **Karpuz**

Tüm dünyada yaygın olarak tüketilen karpuzun, yaklaşık olarak 1/3'ini kabuğu oluşturmaktadır.

Kabuğu tüketilemediği için önemli bir artı olarak ayrılmaktadır. 2017 yılında yapılan bir çalışmada karpuz pektininin, galakturonik asit içeriğinin %65'den fazla olması ile ticari ihtiyacı karşılayabileceği belirtilmektedir. Karpuzdan üretilen pektinin veriminin ise %14.2-19.3 aralığında olduğu, pektinin %5'lik sulu çözeltisinde viskozitenin yüksek olduğu ve kıvamlaştırıcı ajan olarak kullanılabilmesi de aktarılmaktadır. Ayrıca, bu pektinin köpükleştirici ve emülsifiyer özelliklerinin iyi olduğu bildirilmektedir (Petkowicz vd., 2017).

### **Kavun**

Çin, Türkiye ve İran'da yüksek miktarda yetiştirilen kavun meyvesi kabuklarının hayvan beslenmesinde kullanılabildiği ancak fabrika artığı olarak çıkan kabukların çevreye zarar vermemesi için pektin üretimi gibi amaçlar için kullanılabileceği de bildirilmektedir (Raji vd., 2017). Sitrik asit kullanılarak farklı sıcaklık, süre, pH ve çözücü oranlarının uygulandığı bir çalışmada, kavun kabuğundan elde edilen pektinin veriminin %2.87-28.98 ve esterleşme derecesinin %1.33-29.33 aralığında bulunduğu aktarılmaktadır. Aynı çalışmada, kavun kabuğu pektininin zayıf jel özelliği gösterdiği de görülmektedir (Raji vd., 2017).

### **Enginar**

Akdeniz bölgesinde önemli bir üretim alanı bulunan enginarın, endüstride işlenmesinin ardından yaklaşık %60'ı artık (dış yapraklar, yapraklar ve saplar) olarak atılmaktadır. Bu artıklar gübre veya hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (Sabater vd., 2018). Enginarın pektin kaynağı olarak kullanılabileceği düşünülen bir çalışmada, Celluclast® 1.5 L enzimi kullanılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiş ve elde edilen pektin verimi optimum koşullarda 176 mg/g olarak tespit edilmiştir. Ayrıca üretilen enginar pektininin galakturonik asit içeriği ve metoksillenme derecesi, sırasıyla 720 mg/g ve %19.5 olarak belirtilmiştir (Sabater vd., 2018).

### **Havuç**

Havuç, en önemli kök sebzelerinden birisidir. Meyve suyu fabrikası artığı olarak çıkan havuç posası ya atılmakta ya da hayvan beslenmesinde

kullanılmaktadır (Şimşek, 2013; Jafari vd., 2017). Pektin ekstraksiyonunda havuç posasının kullanıldığı bir çalışmada, asit ekstraksiyon ile farklı pH değeri, sıcaklık ve sürelerde uygulama yapılmıştır. Havuç pektini veriminin %5.0-15.2 aralığında değiştiği, metoksillenme derecesinin %22.1 ile %51.8 aralığında bulunduğu yani düşük metoksilli pektin olduğu aktarılmaktadır. Ayrıca, havuç pektini ile sağlanan emülsiyonların 4° ve 23 °C sıcaklıklarda depolama ile yüksek stabilite gösterdiği belirtilmektedir (Jafari vd., 2017).

### **Balkabağı**

Son yıllarda, balkabağından pektin ekstraksiyonu ile ilgili çok fazla kaynak bulunmamaktadır. Müller-Maatsch ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, balkabağında bulunan pektik polisakaritlerin 235 mg/g miktarında olduğu belirtilmektedir. Balkabağı çekirdeklerinin elde edilmesinde, çekirdek iç kısmı küspesi yan ürün olarak elde edilmektedir. Ancak çekirdek iç kısmının küspesinin pektik polisakaritler açısından düşük miktarda (29 mg/g) ve düşük kalitede olduğu aktarılmaktadır (Müller-Maatsch vd., 2016). Balkabağının kullanılmayan kısımlarından mikrodalga ekstraksiyonu ile pektin eldesi üzerine yapılan bir çalışmada, verim %3.1-7.4 aralığında değişmiştir. Aynı çalışmada, geleneksel asit ekstraksiyonu ile sağlanan pektin veriminin %5.7-7.3 aralığında olduğu, ancak mikrodalga ile ekstraksiyonun süreyi yaklaşık %83 kısalttığı ve ekonomik açıdan avantajlı olduğu belirtilmektedir (Košťálová vd., 2016).

## **PEKTİN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ**

Çeşitli hammaddelerden pektin elde etme işleminde başlıca aşamalar; ekstraksiyon, saflaştırma/konsantrasyon ve kurutma şeklinde sıralanabilir. Pektin ekstraksiyonu için uygun bir yöntemin kullanılması, elde edilen pektinin verimini ve kalitesini en üst düzeye çıkarmak için önemli bir aşamadır. Ekstraksiyon koşulları (sıcaklık, basınç, süre, vb.), materyal/çözücü oranı, çözücü türü, hammaddenin partikül büyüklüğü gibi faktörlerin ekstraksiyona etki ettiği bilinmektedir (Grassino vd., 2016a, 2018; Perussello vd., 2017). Pektin eldesinde öncelikle hücre duvarları ve orta lamelde bulunan asitte

çözünebilen bir polisakarit olan protopektin; kurutulmuş meyve posasından veya kabuğundan genellikle seyreltik mineral asitler ile yüksek sıcaklıklarda ekstrakte edilmektedir. Konsantre edilen ekstrakta, alkol eklenerek pektin flokleştirilmekte, kurutulup öğütülmektedir (Adetunji vd., 2017). Meyvelerin ve sebzelerin yapısında bulunan birçok enzim, pektin üretimi sırasında hızlı bir şekilde etki göstermektedir. Bundan dolayı; pektin üretiminde taze hammadde kullanımı ya da posa ve kabuk kullanılacak ise kurutma işleminin uygulanması önerilmektedir. Kurutma işleminden önce şekerleri ve asitleri ortamdaki uzaklaştırmak için yıkama işlemi de yapılabilmektedir. Ekstraksiyonda uygulanan asit hidrolizi, pektin zincirinin ve diğer hücre duvarı polimerlerinin kısmi depolimerizasyonuna neden olmaktadır. Düşük pH (1.5-2.5) bitki dokusunda pektini tutan bağları kırmakta ve polimer sıvı faza geçmektedir. Ayrıca, ester bağları da kırılmakta ve pektin, metil ve asetil gruplarının bir bölümünü kaybetmektedir. Pektin verimi sıcaklık, asitlik ve ekstraksiyon süresi ile artmaktadır. Ancak, yüksek sıcaklık, düşük pH değeri ve uzun ekstraksiyon süresinde polimer yapının uzunluğunun azaldığı ve son ürünün bazı fonksiyonel özelliklerini kaybedebileceği bildirilmektedir. Asit uygulamasından sonra pektin içeren sıvı kısım, filtrasyon ve/veya santrifüj ile katı kısımlardan tamamıyla ayrılmalıdır. Kalan bitkisel kısım hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Sonraki aşamada ekstraktan pektini ayırabilmek için alkol ilave edildikten sonra ayrılan pektinden istenilmeyen şekerler, pigmentler, polifenoller ve diğer alkolde çözünen materyalleri uzaklaştırmak için alkolle yıkama ve filtrasyon işlemleri uygulanmaktadır. Elde edilen pektin kurutulduktan sonra öğütülmektedir (Dominiak, 2014b). Farklı bitkisel kaynaklardan pektin ekstrakte etmek için çeşitli yöntemler uygulanmıştır. Ekstraksiyon teknikleri arasında kullanılan en yaygın ve geleneksel yöntem asitle ekstraksiyondur. Çözücü olarak genellikle hidroklorik (HCl), sülfürik ( $H_2SO_4$ ) ve nitrik ( $HNO_3$ ) asit gibi mineral asitler ya da sitrik ( $C_6H_8O_7$ ), tartarik ( $C_4H_6O_6$ ) ve asetik ( $C_2H_4O_2$ ) asit gibi organik asitler kullanılmaktadır (Grassino vd., 2016a; Lefsih vd., 2016; Adetunji vd., 2017). Son yıllarda bazı yeni ekstraksiyon teknikleri

(enzimatik, mikrodalga, ultrasonik veya sub-kritik su ekstraksiyonu) üzerine yapılan çalışmalar ile geleneksel yöntemlere alternatif olarak yenilikçi ekstraksiyon teknikleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Marić vd., 2018). Yeni teknolojilerin geliştirilmeye çalışılmasındaki amaç; çözücülerin kullanımını azaltmak ya da ortadan kaldırmaktır. Böylece hem insan sağlığına hem de çevreye zararı olmayan, daha yüksek verim ve kalitede pektin eldesini sağlayan, ayrıca geleneksel yöntemlerden daha kısa sürede tamamlanarak enerji tüketimini azaltan pektin ekstraksiyon yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Maran vd., 2017; Grassino vd., 2018).

### Asit Ekstraksiyonu

Geleneksel olarak pektin, genellikle 1 saat boyunca sürekli karıştırma ile 80 – 100 °C arasında 0.05 - 2M sülfürik, nitrik, fosforik, asetik veya hidroklorik asit ile asitlendirilmiş su içinde ekstrakte edilir. Geleneksel ekstraksiyon; sıcaklık, pH değeri, çözücü özellikleri, katı / çözücü oranı, kuru katı madde, partikül büyüklüğü ve difüzyon hızı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Naqash vd., 2017; Marić vd., 2018). Bununla birlikte, mineral asitlerin kullanıldığı geleneksel ekstraksiyon yönteminde pektinin geri kazanımında bazı dezavantajlar vardır. Bunlar; bazı uçucu bileşiklerin kaybı, üretime yönelik artan maliyetler, çevresel etkiler ve ayrıca bitki materyallerinde bulunan değerli bileşenlerin bozunması şeklinde belirtilmektedir. Geleneksel asit ekstraksiyonu yöntemi ile pektin üretiminde, süre uzamakla birlikte verim ve kalite yetersiz olabilmektedir. Verimin yüksek olması ve elde edilen pektin kalitesinin ve son üründeki jel kalitesinin iyi olması, pektin üretimindeki en önemli konu başlıklarıdır (Adetunji vd., 2017). Bu eksiklikler, diğer bazı çözücü ve tekniklerin kullanılmasına yol açmıştır. Bu doğrultuda sitrik asit ve asetik asit gibi organik asitlerin dikkat çektiği görülmüştür (Yang vd., 2018). Mineral asitler pektin ekstraksiyonunda daha ucuz ve etkili olmalarına rağmen organik asitler son yıllarda çevresel açıdan daha ilgi çekici görünmektedir. Organik asitler mineral asitlerden daha düşük hidroliz kapasitesine sahiptirler (düşük ayrışma sabitlerinden dolayı) ve dolayısıyla elde edilecek pektinin daha az depolimerleşmesine neden

olmaları beklenir. Sonuç olarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ve kullanılan yöntemlere ilişkin parametreler değiştirilerek çeşitli yapı özelliklerine sahip pektinler üretilebilir

(Marić vd., 2018). Geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yapılmış bazı çalışmalar Çizelge 1’ de verilmektedir.

Çizelge 1. Asit ekstraksiyon koşullarının çeşitli meyve ve sebze artıklarından (posa, kabuk) elde edilen pektin verimine etkisi

Hammadde	Ekstraksiyon Koşulları		Çözücü	Verim (%)	Kaynak
	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)			
Portakal kabuğu	82	50	pH 1.7, hidroklorik asit	2.95	(Georgiev vd., 2012)
Limon kabuğu	82	50	pH 1.7, hidroklorik asit	3.15	(Georgiev vd., 2012)
Muz kabuğu	70-90	120-240	pH 2.0-4.5, sitrik asit	5.2-12.2	(Oliveira vd., 2016)
Nar kabuğu	70-90	40-150	pH 2.0-4.0, sitrik asit	3.92-11.18	(Pereira vd., 2016)
Havuç posası	50-90	30-150	pH 0.5-2.5, sitrik asit	5-15.2	(Jafari vd., 2017)
Elma posası	85	180	pH 2.0, sülfürik asit	14.5	(Wikiera vd., 2015a,b)
Kavun kabuğu	35-95	40-200	pH 1.0-3.0, sitrik asit	2.87-28.98	(Raji vd., 2017)
Patates posası	90	60	pH 2.04, hidroklorik asit	9.72	(Yang vd., 2018)
			pH 2.04, sülfürik asit	8.38	
			pH 2.04, nitrik asit	9.83	
			pH 2.04, sitrik asit	14.34	
			pH 2.04, asetik asit	4.08	

### Ultrasonik Ekstraksiyon

Ultrasonik ses dalgaları; katı, sıvı veya gazda 20 kHz'den daha yüksek frekanslarda uygulanabilen mekanik titreşimlerden oluşur. Ultrasonikasyon, insanın işitme duyusunun üstünde olan sesi (insanların duyabileceği ses 1 – 16 kHz arasındadır) temsil eder. Bu teknik, mikroorganizma ve enzim inaktivasyonu, ekstraksiyon, kurutma, emülsifikasyon ve homojenizasyon gibi çeşitli gıda işleme amaçları için kullanılmaktadır (Adetunji vd., 2017; Marić vd., 2018). Ultrasonikasyonun ekstraksiyonda

kullanılmasına ilişkin yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2’ de verilmektedir. Ultrasonik dalgalar sıvı içerisinde ani sıcaklık ve basınç değişimleri ile patlayan hava kabarcıklarının oluşmasına neden olmaktadır. Bu olaya kavitasyon adı verilir ve ultrasonik destekli ekstraksiyonun prensibini oluşturur. Hücre duvarlarının yakınındaki kavitasyon kabarcıklarının patlaması, hücre bozulmasına neden olur, böylece hücreye daha güçlü ve hızlı çözücü girişi ile kütle transferinin yoğunlaşması sağlanmış olur (Tiwari, 2015; Adetunji vd., 2017; Misra vd., 2017; Marić vd.,

2018). Ekstraksiyonda ultrasonik destekli yöntemi kullanmanın geleneksel yöntemlere kıyasla önemli faydaları vardır. Bunlar; düşük enerji tüketimi, daha kısa uygulama süresi, daha az çözücü

kullanımı, artan verim ve ısıtmanın olmadığı bir teknolojinin kullanılmasıdır (Chemat vd., 2017; Marić vd., 2018).

Çizelge 2. Ultrasonik destekli ekstraksiyon koşullarının çeşitli meyve artıklarından (posa, kabuk) elde edilen pektin verimine etkisi

Hammadde	Ekstraksiyon Koşulları			Çözücü	Verim (%)	Kaynak
	Frekans (kHz)	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)			
Nar kabuğu	20	50-70	15-35	pH 1.0-2.0, distile su	4.23-24.18	(Moorthy vd., 2015)
Üzüm posası	37	35-75	20-60	pH 1.0-2.0, sitrik asit	3.19-29.38	(Minjares-Fuentes vd., 2014)
Domates kabuğu	37	60-80	15-90	Amonyum okzalat 16g/L /okzalik asit 4g/L	15.1-35.7	(Grassino vd., 2016a)
Greyfurt kabuğu	20	60-80	20-40	pH 1.5, hidroklorik asit	23.10-27.51	(Wang vd., 2015)
	20	30-80	10-60		10-18.11	(Xu vd., 2014)
Çarkıfelek meyvesi kabuğu	20	45-85	2-20	pH 2.0, nitrik asit	7.53-12.67	(Freitas de Oliveira vd., 2016)

### Mikrodalga Ekstraksiyonu

Mikrodalga fırınlar, çeşitli kullanım amaçları ile son yirmi yılda gıda bilimi ve teknolojisinde önemli rol oynamaktadır. Laboratuvarlarda ve sanayide; gıda maddelerinin kurutulması, mikrodalga destekli ekstraksiyon, enzim inhibisyonu ve inaktivasyonu ile mikroorganizma inaktivasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Marić vd., 2018). Mikrodalga; 300 MHz-300 GHz frekans aralığında bulunan iyonize edici olmayan, magnetronlar tarafından üretilen elektromanyetik dalga olarak tanımlanmaktadır. Mikrodalga enerjisi, ısının bir formu olarak düşünülmemelidir (Naqash vd., 2017; Sahin vd., 2017; Marić vd., 2018). Isı, gıda gibi bir madde ile elektromanyetik dalgaların etkileşimi ile oluşan ikincil etkidir. Mikrodalga enerjinin ısıya dönüşümü iki durum ile açıklanabilmektedir. Birinci durumda; moleküller kalıcı bir dipolar momentle, elektriksel alanı hızlı

bir şekilde değiştirerek dönmektedir. Moleküllerin elektriksel alanda dönmesi sırasında mikrodalgadaki milyon kez frekans da polariteyi değiştirmektedir. Moleküller arasındaki sürtünme kuvvetinin etkisiyle de ısı oluşmaktadır. İkinci durumda ise; yük, iyonik iletim alanının etkisi altında birikmektedir. Elektrik alandan kaynaklı iyonlar biriktiğinde, iyonlar diğer moleküller ile çarpışmakta ve sürtünme etkisi ile ısı oluşmaktadır. Su molekülleri polar olduğu için elektrik alan etkisi altında dönebilmektedirler (Koubaa vd., 2015; Barba vd., 2016; Wang vd., 2016). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, farklı katı matrikslerinden bitki bileşenlerini doğrudan ekstrakte eden konveksiyonel olmayan ısıtma yöntemidir. Konveksiyonel tekniklerle kıyaslandığında oldukça etkili olan mikrodalga yöntemi, ekstraksiyon süresini dakikalarla sınırlandırmaktadır. Mikrodalga ışınları; X-ray ve gama ışınlarının aksine iyonlaştırıcı olmayan

ışınlardır ve bu nedenle bileşikteki kimyasal bağların kırılmasına ve bileşimin molekül yapısında değişikliklere neden olmaz. Ekstraksiyon boyunca mikrodalga enerjisi hücre içindeki suyun ısınmasına ve buharlaşmasına neden olmaktadır. Bu ısınma ve buharlaşma sırasında oluşan su buharları hücre duvarlarında büyük bir basınç oluşmasına yol açmaktadır. Oluşan bu basınç ile bitki dokusu parçalanarak istenilen bileşikler çözücü ortamına geçmektedir. Mikrodalga ekstraksiyonu sadece pektinin ekstraksiyonunda değil aynı zamanda birçok biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda da kullanılmaktadır (Liew vd., 2016). Mikrodalga ile ekstraksiyonda ekstraksiyon süresinin kısa, solvent kullanımının az, ısı dağılımının homojen olması ve son ürün kalitesinin iyi olması gibi avantajlarının yanında, büyük hacimlerde çalışmak gibi zorlukları olabilmektedir. Mikrodalga ısıtma ile ekstraksiyonda uygulanan süre yüksek bir pektin verimi sağlamak için genellikle 15 dakikayı

geçmediğinden ve pektin verimi ile kalitesinin olumlu yönde etkilenmesinden bu yöntemin tercih edildiği bilinmektedir (Adetunji vd., 2017; Chemat vd., 2017; Marić vd., 2018). Farklı bitki materyallerinden değerli biyoaktif bileşiklerin elde edilmesinde mikrodalga ekstraksiyon yöntemi uygulanabilir. Yöntem, yenilikçi bir ekstraksiyon teknolojisidir ve mikrodalga ışınlarının geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile kombine edilerek kullanılabilmesi de belirtilmektedir. Geleneksel ekstraksiyon teknolojileri, uzun uygulama süresi ile çok miktarda çözücü gerektirirken mikrodalga ekstraksiyonda uygulama süresinin kısa, verimin yüksek, enerji tüketiminin düşük ve çözücü kullanımının az olması kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Bu nedenle, mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulamaları çevre dostu bir çözüm olarak belirtilmektedir. Çeşitli gıda artıkları ve yan ürünlerinden mikrodalga destekli ekstraksiyon yardımıyla pektinin elde edilmesi, birçok araştırmanın konusu olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarının çeşitli meyve kabuklarından elde edilen pektin verimine etkisi

Hammadde	Ekstraksiyon Koşulları		Çözücü	Verim (%)	Kaynak
	Mikrodalga gücü(W)	Süre (dakika)			
Pomelo kabuğu	390-650	3-7	pH 1.0-3.0, hidroklorik asit	4.23-24.18	(Chen vd., 2016)
Ekşi portakal kabuğu	300-700	1-3	pH 1.5-3.0, sitrik asit	3.19-29.38	(Hosseini vd., 2016a,b)
Balkabağı kabuğu	1200	2-10	pH 2.5, hidroklorik asit	15.1-35.7	(Košťálová vd., 2016)
Portakal kabuğu	160-480	1-3	pH 1.0-2.0, sülfürik asit	23.10-27.51	(Prakash Maran vd., 2013)
Karpuz kabuğu	160-480	1-3	pH 1.0-2.0, hidroklorik asit	10-18.11	(Maran vd., 2014)
Muz kabuğu	300-900	1.5-5	pH 1.0-3.0, hidroklorik asit	7.53-12.67	(Swamy ve Muthukumarappan, 2017)

### Enzimatik Ekstraksiyon

Enzimlerin çalışma prensipleri reaksiyonların aktivasyon enerjilerini düşürerek hızlarını artırmaktır. Bunu ya ihtiyaç duyulan çözücü oranını azaltarak ya da aynı miktar çözücü ile verimi artırarak sağlarlar. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan çözücülerin iz miktarda

bile olsa son üründe kalıntı yapması kimyasal proseslerde enzim kullanımına yol açmıştır (Adetunji vd., 2017). Gıda ve ilaç sanayinde enzimatik ekstraksiyon böylece popüler bir çalışma konusu haline gelmiştir. Enzimatik ekstraksiyonda iki prensip kullanılmaktadır. Bunlardan ilki; kullanılan enzim ekstrakte edilmek



istenilen bileşene doğrudan etki ederek onun çözücü ortamına geçmesini sağlarken, ikinci yöntemde ise kullanılan enzim bitki materyalinin hücre duvarına etki ederek ekstrakte edilmek istenen bileşene doğrudan etki etmeden izole edilmesini sağlar (Marić vd., 2018). Genellikle ikinci yöntem kullanılsa da ilk yöntem ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmalar da bulunmaktadır (Zhao vd., 2015). Enzimatik ekstraksiyon; reaksiyon süresine, tipine ve enzim konsantrasyonuna, sıcaklığa, pH değerine ve bitki materyalinin partikül büyüklüğüne bağlıdır (Roselló-Soto vd., 2016; Poojary vd., 2017; Marić vd., 2018). Bu yöntem, pektinin bitkisel kaynaklardan, meyve-sebze endüstrisi artıkları ve yan ürünlerinden elde edilmesinde önemli yararlar sağlar. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında pektin elde etme verimini artırır ve düşük işlem sıcaklıklarında uygulandığından enerji tüketimini azaltır. Enzimatik ekstraksiyon aynı zamanda geleneksel ekstraksiyon ile birleştirilebilir, böylece daha düşük miktarlarda çözücü kullanımı gerektirir. Ayrıca ekstraksiyon süresini kısaltarak daha hızlı ürün elde etme imkanı sağlar. Enzimatik

ekstraksiyon sırasında kullanılan ılımlı koşullar, geleneksel ekstraksiyonda yüksek sıcaklıklar kullanıldığında sıklıkla görülen ekipman korozyonunu ortadan kaldırır. Ayrıca, enzimatik ekstraksiyon sonrasında oluşan atıkların nötralizasyonu için herhangi bir ek adıma gerek yoktur. Bütün bu avantajların yanı sıra enzimatik ekstraksiyonun başlıca dezavantajlarından biri, yüksek miktarlarda hammadde için nispeten pahalı olan enzimlerin maliyetidir. Mevcut enzimler, bitki hücre duvarlarını tamamen hidrolize edememekte, böylece pektin ekstraksiyonunu zorlaştırmaktadır. Ayrıca çözülmüş oksijen, sıcaklık ve enzim inhibisyonuna neden olabilen gıda bileşenleri gibi bazı faktörler enzimlerin etki mekanizmasını etkileyebildiğinden, enzimatik ekstraksiyon işlemini büyük ölçekte yapmak zordur. Enzimatik ekstraksiyon işleminin laboratuvar ölçekli akademik çalışmalarla sınırlı kalmasının nedeni, büyük ölçekte çalışmanın zor olmasından kaynaklıdır (Adetunji vd., 2017; Marić vd., 2018). Enzimatik ekstraksiyon ile ilgili yapılmış bazı bilimsel çalışmalar Çizelge 4’ te verilmektedir.

Çizelge 4. Enzimatik ekstraksiyon koşullarının çeşitli meyve artıklarından (posa, kabuk) elde edilen pektin verimine etkisi

Hammadde	Ekstraksiyon Koşulları		Enzim	Verim (%)	Kaynak
	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)			
Elma posası	50	18	Celluclast 1.5 L	14.5	(Wikiera vd., 2015a,b)
	40	3	Celluclast 1.5 L	4.01-6.53	
	40	3	Econase	3.63-4.22	
	40	3	Viscoferm	4.67-7.00	
Kivi posası	25	0.5	Celluclast 1.5 L	4.48	(Yuliarti vd., 2015)
	50	4	Laminex C2K	82.2	
Misket limonu kabuğu	50	4	Validase TRL	79.1	(Dominiak vd., 2014a)
	50	4	Multifect B	79.3	
	50	4	GC880	78.4	

Pektin ekstraksiyonu sırasında en çok kullanılan enzimler; selülaz, proteaz, hemiselülaz, alkalaz,

ksilaz, poligalakturonaz,  $\alpha$ -amilaz,  $\beta$ -glukozidaz, endopoligalakturonaz ve pektinesterazdır

(Wikiera vd., 2015a; Yuliarti vd., 2015; Marić vd., 2018).

### Sub-Kritik Su Ekstraksiyonu

Subkritik su, faz değişimi olmadan normal kaynama noktasından daha yüksek sıcaklıklara ulaşabilen yüksek basınçtaki sudur. Bu su, ekstraksiyonda çözücü olarak kullanıldığında işlem, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, aşırı ısıtılmış su ekstraksiyonu ya da en bilinen adıyla sub-kritik su ekstraksiyonu olarak adlandırılır (Zakaria ve Kamal, 2016; Adetunji vd., 2017). Suyun yüksek sıcaklıklara ulaşması ile birlikte; difüzyon hızı ve buhar basıncı artarken viskozitesi ve yüzey gerilimi azalır. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda çözücünün düşük dielektrik sabiti, pektinin suda çözünürlüğünü artırır ve böylece bitki dokusundan pektin elde etme verimi artar (Adetunji vd., 2017; Naqash vd., 2017). Suyun dielektrik sabiti 25° C'de 79 civarındadır, sıcaklık 160° C'ye ulaştığında bu değer 43'e ve 200° C'de ise 33'e düşer, bu azalma suyun hem iyonik hem de iyonik olmayan bileşikleri özütlenmesini mümkün kılmaktadır (Adetunji vd., 2017). Suyun çözücü özellikleri ve ekstraksiyon için uygun çalışma koşulları, kullanılan substrata göre optimize edilebilir (Zakaria ve Kamal, 2016). Turunçgil kabuklarından elde edilen pektin verimi, 120° C'de maksimum düzeyde (%21.95) sağlanırken, elma posası pektininin 150° C'de maksimum verime (%16.68) ulaştığı belirlenmiştir (Wang vd., 2014). Sub-kritik su ekstraksiyonunun başlıca avantajı asidik solvent kullanımını ortadan kaldırmasıdır. Ayrıca yüksek kalitede ekstraktlar ve daha hızlı ekstraksiyon işlemi gibi avantajlardan da bahsedilmektedir. Yöntem solvent kullanımını ortadan kaldırdığı için güvenli (Generally Recognized As Safe, GRAS) olarak kabul edilir ve böylece pektin gibi gıda ve ilaç sanayisinde kullanımı mümkün olan bileşiklerin eldesinde kullanımı uygundur. Ancak yöntemin uygulama maliyeti oldukça yüksektir (Zakaria ve Kamal, 2016; Adetunji vd., 2017).

### SONUÇ

Bitkisel kaynaklı bir gıda katkı maddesi olan pektinin hammaddesi ülkemizde yüksek oranda bulunmaktadır. Meyve suyu endüstrisi artışı olan elma posası, portakal kabuğu ve ayrıca şeker

üretim endüstrisi artışı olan şeker pancarı posası yüksek oranda pektin içermektedir ve pektin üretiminde en yaygın kullanılan hammaddelerdir. Endüstri artışı olarak ortaya çıkan bu maddeler genellikle hayvan yemi olarak değerlendirilmekte ya da çöpe atılmaktadır. Bu artıkların pektin üretiminde değerlendirilmesiyle katma değeri daha yüksek ürün elde edilecek ve böylece ülke ekonomisine katkı sağlanmış olacaktır. Geleneksel ve yaygın olarak pektin, meyve ve sebzelerden yüksek sıcaklıkta asit ekstraksiyonu ile elde edilir. Son yıllarda bazı yeni ekstraksiyon yöntemleri üzerine yapılan çalışmalar ile geleneksel yöntem alternatif olarak yenilikçi ekstraksiyon teknikleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunlar; enzimatik, mikrodalga, ultrasonik veya subkritik su ekstraksiyonudur. Yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmeye çalışılmasındaki başlıca amaç; çözücülerin kullanımını azaltmak ya da ortadan kaldırmak ve böylece hem insan sağlığına hem de çevreye zararı olmayan üretimler gerçekleştirmektir. Daha yüksek verim ve kalitede pektin eldesi amaçlanırken enerji tüketimini azaltan pektin ekstraksiyon yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

### KAYNAKÇA

Abid, M., Cheikhrouhou, S., Renard, C.M.G.C., Bureau, S., Cuvelier, G., Attia, H. Ayadi, M.A. (2017). Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. *Food Chem*, 215: 318–325, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2016.07.181.

Abid, M., Renard, C.M.G.C., Watrelot, A.A., Fendri, I., Attia, H. Ayadi, M.A. (2016). Yield and composition of pectin extracted from Tunisian pomegranate peel. *Int J Biol Macromol*, 93: 186–194, DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2016.08.033.

Adetunji, L.R., Adekunle, A., Orsat, V. Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocoll*, 62: 239–250, DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2016.08.015.

Babbar, N., Dejonghe, W., Gatti, M., Sforza, S. Elst, K. (2016). Pectic oligosaccharides from agricultural by-products: production, characterization and health benefits. *Crit Rev Biotechnol*, 36: 594–606.

- Baldino, N., Mileti, O., Lupi, F.R. Gabriele, D. (2018). Rheological surface properties of commercial citrus pectins at different pH and concentration. *LWT-Food Sci Technol*, 93: 124–130, DOI: 10.1016/j.lwt.2018.03.037.
- Barba, F.J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A.S. Orlien, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends Food Sci Technol*, 49: 96–109, DOI: 10.1016/j.tifs.2016.01.006.
- Canteri-Schemin, M.H., Fertonani, H.C.R., Waszczynskij, N. Wosiacki, G. (2005). Extraction of pectin from apple pomace. *Braz Arch Biol Technol*, 48: 259–266.
- Chan, S.Y., Choo, W.S., Young, D.J. Loh, X.J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydr Polym*, 161: 118–139, DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.12.033.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A.S. Abert-Vian, M. (2017). Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 41: 357–377, DOI: 10.1016/j.ifset.2017.04.016.
- Chen, Q., Hu, Z., Yao, F.Y.D. Liang, H. (2016). Study of two-stage microwave extraction of essential oil and pectin from pomelo peels. *LWT - Food Sci Technol*, 66: 538–545, DOI: 10.1016/j.lwt.2015.11.019.
- Ciriminna, R., Fidalgo, A., Delisi, R., Ilharco, L.M. Pagliaro, M. (2016). Pectin production and global market. *Agro Food Indust Hi Tech*, 27: 17–20.
- Dominiak, M., Søndergaard, K.M., Wichmann, J., Vidal-melgosa, S., Willats, W.G.T., Meyer, A.S. Mikkelsen, J.D. (2014a). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocoll*, 40: 273–282, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.03.009.
- Dominiak, M.M. Mikkelsen, J. D., Marie Søndergaard, K. (2014b). A novel perspective on pectin extraction. Technical University of Denmark, Department of Chemical and Biochemical Engineering, Denmark, p 115.
- Freitas de Oliveira, C., Giordani, D., Lutkemier, R., Gurak, P.D., Cladera-Olivera, F. Ferreira Marczak, L.D. (2016). Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT - Food Sci Technol*, 71: 110–115, DOI: 10.1016/j.lwt.2016.03.027.
- Georgiev, Y., Ognyanov, M., Yanakieva, I., Kussovski, V. Kratchanova, M. (2012). Isolation, characterization and modification of citrus pectins. *J Bio Sci Biotech*, 1: 223–233.
- Grassino, A.N., Barba, F.J., Brnčić, M., Lorenzo, J.M., Lucini, L. Brnčić, S.R. (2018). Analytical tools used for the identification and quantification of pectin extracted from plant food matrices, wastes and by-products: A review. *Food Chem*, 266: 47–55, DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.05.105.
- Grassino, A.N., Brnčić, M., Vikić-Topić, D., Roca, S., Dent, M. Brnčić, S.R. (2016a). Ultrasound assisted extraction and characterization of pectin from tomato waste. *Food Chem*, 198: 93–100, DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.095.
- Grassino, A.N., Halambek, J., Djaković, S., Rimac Brnčić, S., Dent, M. Grabarić, Z. (2016b). Utilization of tomato peel waste from canning factory as a potential source for pectin production and application as tin corrosion inhibitor. *Food Hydrocoll*, 52: 265–274, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.06.020.
- Harholt, J., Suttangkakul, A. Scheller, H.V. (2010). Biosynthesis of pectin. *Plant Physiol*, 153: 384–395, DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.156588>. <http://www.plantphysiol.org/content/early/2010/04/28/pp.110.156588.abstract>.
- Hosseini, S.S., Khodaiyan, F. Yarmand, M.S. (2016a). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydr Polym*, 140: 59–65, DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.12.051.
- Hosseini, S.S., Khodaiyan, F. Yarmand, M.S. (2016b). Aqueous extraction of pectin from sour

- orange peel and its preliminary physicochemical properties. *Int J Biol Macromol*, 82: 920–926, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.11.007.
- Huang, X., Li, D., Wang, L. (2018). Effect of particle size of sugar beet pulp on the extraction and property of pectin. *J Food Eng*, 218: 44–49, DOI: 10.1016/j.JFOODENG.2017.09.001.
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., Hosseini, S.S. (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydr Polym*, 157: 1315–1322, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2016.11.013.
- Kang, J., Hua, X., Yang, R., Chen, Y., Yang, H. (2015). Characterization of natural low-methoxyl pectin from sunflower head extracted by sodium citrate and purified by ultrafiltration. *Food Chem*, 180: 98–105, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2015.02.037.
- Košťálová, Z., Aguedo, M., Hromádková, Z. (2016). Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass. *Chem Eng Process: Process Intensif*, 102: 9–15, DOI: 10.1016/J.CEP.2015.12.009.
- Koubaa, M., Roselló-Soto, E., Šic Žlabur, J., Režek Jambrak, A., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Barba, F.J. (2015). Current and New Insights in the Sustainable and Green Recovery of Nutritionally Valuable Compounds from Stevia rebaudiana Bertoni. *J Agric Food Chem*, 63: 6835–6846, DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01994.
- Lefsih, K., Delattre, C., Pierre, G., Michaud, P., Aminabhavi, T.M., Dahmoune, F., Madani, K. (2016). Extraction, characterization and gelling behavior enhancement of pectins from the cladodes of *Opuntia ficus indica*. *Int J Biol Macromol*, 82: 645–652, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.046.
- Liew, S.Q., Ngoh, G.C., Yusoff, R., Teoh, W.H. (2016). Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels. *Int J Biol Macromol*, 93: 426–435, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065.
- Maran, J.P., Priya, B., Al-Dhabi, N.A., Ponmurugan, K., Moorthy, I.G., Sivarajasekar, N. (2017). Ultrasound assisted citric acid mediated pectin extraction from industrial waste of *Musa balbisiana*. *Ultrason Sonochem*, 35: 204–209, DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.09.019.
- Maran, J.P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. *Carbohydr Polym*, 101: 786–791, DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.09.062.
- Marić, M., Grassino, A.N., Zhu, Z., Barba, F.J., Brnčić, M., Rimac Brnčić, S. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends Food Sci Technol*, 76: 28–37, DOI: 10.1016/j.tifs.2018.03.022.
- May, C.D. (1990). Industrial pectins: Sources, production and applications. *Carbohydr Polym*, 12: 79–99.
- Mierczyńska, J., Cybulska, J., Zdunek, A. (2017). Rheological and chemical properties of pectin enriched fractions from different sources extracted with citric acid. *Carbohydr Polym*, 156: 443–451, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2016.09.042.
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M.C., Meza-Velázquez, J.A., Simal, S., Rosselló, C. (2014). Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydr Polym*, 106: 179–189.
- Misra, N.N., Martynenko, A., Chemat, F., Paniwnyk, L., Barba, F.J., Jambrak, A.R. (2017). Thermodynamics, transport phenomena, and electrochemistry of external field-assisted nonthermal food technologies. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 8398: 1–32, DOI: 10.1080/10408398.2017.1287660.
- Moorthy, I.G., Maran, J.P., Surya, S.M., Naganyashree, S., Shivamathi, C.S. (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *Int J Biol Macromol*, 72: 1323–1328, DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2014.10.037.

- Morales-Contreras, B.E., Rosas-Flores, W., Contreras-Esquivel, J.C., Wicker, L. Morales-Castro, J. (2018). Pectin from Husk Tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.): Rheological behavior at different extraction conditions. *Carbohydr Polym*, 179: 282–289, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2017.09.097.
- Müller-Maatsch, J., Bencivenni, M., Caligiani, A., Tedeschi, T., Bruggeman, G., Bosch, M., Petrusan, J., Droogenbroeck, B. Van, Elst, K. Sforza, S. (2016). Pectin content and composition from different food waste streams. *Food Chem*, 201: 37–45, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2016.01.012.
- Mungure, T.E., Roohinejad, S., Bekhit, A.E.-D., Greiner, R. Mallikarjunan, K. (2018). Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. *Curr Opin Food Sci*, 19: 72–76, DOI: 10.1016/J.COFS.2018.01.011.
- Naqash, F., Masoodi, F.A., Rather, S.A., Wani, S.M. Gani, A. (2017). Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review. *Carbohydr Polym*, 168: 227–239, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2017.03.058.
- Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H.F., Moates, G.K., Wellner, N., Mazzetto, S.E., Waldron, K.W. Azeredo, H.M.C. (2016). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chem*, 198: 113–118, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2015.08.080.
- Pasandide, B., Khodaiyan, F., Mousavi, Z.E. Hosseini, S.S. (2017). Optimization of aqueous pectin extraction from *Citrus medica* peel. *Carbohydr Polym*, 178: 27–33, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2017.08.098.
- Pereira, P.H.F., Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Moates, G.K., Wellner, N., Waldron, K.W. Azeredo, H.M.C. (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *Int J Biol Macromol*, 88: 373–379, DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2016.03.074.
- Perussello, C.A., Zhang, Z., Marzocchella, A. Tiwari, B.K. (2017). Valorization of Apple Pomace by Extraction of Valuable Compounds. *Compr Rev Food Sci Food Safety*, 16: 776–796, DOI: 10.1111/1541-4337.12290.
- Petkowicz, C.L.O., Vriesmann, L.C. Williams, P.A. (2017). Pectins from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin. *Food Hydrocoll*, 65: 57–67, DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2016.10.040.
- Poojary, M.M., Orlie, V., Passamonti, P. Olsen, K. (2017). Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms. *Food Chem*, 234: 236–244, DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.157.
- Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K. Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydr Polym*, 97: 703–709.
- Quoc, L.P.T., Huyen, V.T.N., Hue, L.T.N., Hue, N.T.H., Thuan, N.H.D., Tam, N.T.T., Thuan, N.N. Duy, T.H. (2015). Extraction of pectin from pomelo (*Citrus maxima*) peels with the assistance of microwave and tartaric acid. *Int Food Res J*, 22: 1637–1641.
- Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H. Hosseini, S.S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *Int J Biol Macromol*, 98: 709–716, DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.146.
- Roselló-Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., Boussetta, N., Tiwari, B.K., Vorobiev, E., Lebovka, N. Barba, F.J. (2016). Application of Non-conventional Extraction Methods: Toward a Sustainable and Green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Eng Rev*, 8: 214–234, DOI: 10.1007/s12393-015-9131-1.
- Sabater, C., Corzo, N., Olano, A. Montilla, A. (2018). Enzymatic extraction of pectin from artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products using Celluclast®1.5L. *Carbohydr Polym*, 190: 43–49, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2018.02.055.
- Sahin, S., Samli, R., Birteks Z Tan, A.S., Barba, F.J., Chemat, F., Cravotto, G. Lorenzo, J.M. (2017). Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves:

- Antioxidant and antimicrobial properties. *Molecules*, 22(7): 1-13, DOI: 10.3390/molecules 22071056.
- Seggiani, M., Puccini, M., Pierini, M., Giovando, S. Forneris, C. (2009). Effect of different extraction and precipitation methods on yield and quality of pectin. *Int J Food Sci Technol*, 44: 574–580, DOI: doi:10.1111/j.1365-2621.2008.01849.x.
- Shpigelman, A., Kyomugasho, C., Christiaens, S., Loey, A.M. Van Hendrickx, M.E. (2015). The effect of high pressure homogenization on pectin: Importance of pectin source and pH. *Food Hydrocoll*, 43: 189–198, DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2014.05.019.
- Şimşek, S. (2013). Havuç mayşesi ve posasından elde edilen pektin ve modifiye pektinlerin özellikleri ve çevresel etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye, 85s.
- Swamy, G.J. Muthukumarappan, K. (2017). Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. *Food Chem*, 220: 108–114, DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.197.
- Tiwari, B.K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *Trends Anal Chem*, 71: 100–109, DOI: 10.1016/j.trac.2015.04.013.
- Umoren, S.A. Eduok, U.M. (2016). Application of carbohydrate polymers as corrosion inhibitors for metal substrates in different media: A review. *Carbohydr Polym*, 140: 314–341, DOI: 10.1016/J.CARBPOL.2015.12.038.
- Wang, H., Ding, J. Ren, N. (2016). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *Trends Anal Chem*, 75: 197–208, DOI: 10.1016/j.trac.2015.05.005.
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X. Liu, D. (2015). Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food Chem*, 178: 106–114, DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2015.01.080.
- Wang, X., Chen, Q. Lü, X. (2014). Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocoll*, 38: 129–137, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.003.
- Wikiera, A., Mika, M. Grabacka, M. (2015a). Multicatalytic enzyme preparations as effective alternative to acid in pectin extraction. *Food Hydrocoll*, 44: 151–161, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.09.018.
- Wikiera, A., Mika, M., Starzyńska-Janiszewska, A. Stodolak, B. (2015b). Application of Celluclast 1.5L in apple pectin extraction. *Carbohydr Polym*, 134: 251–257, DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.07.051.
- Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., Ge, Z., Ding, T., Ye, X. Liu, D. (2014). Effects of ultrasound and / or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel. *J Food Eng*, 126: 72–81, DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.11.004.
- Yang, J.S., Mu, T.H. Ma, M.M. (2018). Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp. *Food Chem*, 244: 197–205, DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.059.
- Yuliarti, O., Goh, K.K.T., Matia-Merino, L., Mawson, J. Brennan, C. (2015). Extraction and characterisation of pomace pectin from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Food Chem*, 187: 290–296, DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.148.
- Zakaria, S.M. Kamal, S.M.M. (2016). Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Plants and Algae: Applications in Pharmaceutical and Food Ingredients. *Food Eng Rev*, 8: 23–34, DOI: 10.1007/s12393-015-9119-x.
- Zhao, W., Guo, X., Pang, X., Gao, L., Liao, X. Wu, J. (2015). Preparation and characterization of low methoxyl pectin by high hydrostatic pressure-assisted enzymatic treatment compared with enzymatic method under atmospheric pressure. *Food Hydrocoll*, 50: 44–53, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.04.004.

## SIVI YUMURTADA ULTRASES TEKNİĞİ KULLANIMININ ÜRÜNÜN BAZI FİZİKSEL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

**Muhammed Yüceer\***

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Merkez, Çanakkale, Türkiye

Geliş / *Received*: 12.07.2018; Kabul / *Accepted*: 12.11.2018; Online baskı / *Published online*: 05.12.2018

Yüceer, M. (2018). Sıvı yumurtada ultrases tekniğinin kullanımının ürünün bazı fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi. *GIDA* (2018) 43 (6): 1019-1029 doi: 10.15237/gida.GD18079

Yüceer, M. (2018). *Effects of ultrasound treatment on functional and physical properties of liquid eggs. GIDA (2018) 43 (6): 1019-1029 doi: 10.15237/gida.GD18079*

### ÖZ

Bu çalışmada, ultrases uygulamasının 150 W ve 375 W değerlerinde 3 ve 6 dakika sürede sıvı bütün yumurtanın fiziko-fonksiyonel kalite kriterlerine etkisi belirlenmiştir. Sıvı bütün yumurtanın pH, L\*, a\*, b\* renk, köpük kapasitesi, köpük stabilitesi, ambalaj içi O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> gaz konsantrasyonu depolama süresince (4°C'de 5-6 hafta) ölçülmüştür. Ultrases uygulamasının yumurtanın kalite kriterlerinde; pH değerinde (7.37±0.04'den 7.46±0.02'e) artış ve depolamada CO<sub>2</sub> konsantrasyonunda (35.50±0.10'den 17.43±0.32'e) azalma kaydedilmiştir. (375W-6 dk.). Çalışmada ultrases uygulaması, köpük kapasitesi değerleri üzerinde önemli düzeyde etki ederek; 410±14.14 (kontrol), uygulamalarda ise sırası ile; 565±7.07; 610±14.14; 607.5±17.68 ve 612.5±10.61 (150W-3 dk.; 150W-6 dk.; 375W-3 dk. ve 375W-6 dk.) değerleri belirlenmiştir. Uygulanan ultrases gücü ve uygulama süresinin artması ile birlikte yumurtaların köpük kapasitelerinin arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Ultrasesin sıvı yumurtanın fizikofonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi incelendiğinde sonikasyon tekniğinin raf ömrünün artırılması ve fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla kullanılabilme potansiyeli belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yumurta, sıvı bütün yumurta, ultrases, köpük oluşturma özellikleri, kalite kriteri, depolama.

## EFFECTS OF ULTRASOUND TREATMENT ON FUNCTIONAL AND PHYSICAL PROPERTIES OF LIQUID EGGS

### ABSTRACT

The effects of different ultrasound powers (150 W and 375 W) and exposure times (3 min and 6 min) on physico-functional properties of liquid whole eggs were investigated. Whipping capacity, foaming stability, pH, L\*, a\*, b\* color, package headspace O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> gas concentration were analyzed at weekly intervals during storage (5-6 weeks at 4°C). Ultrasound has improved the whipping capacity and maintained quality criteria's in increasing shelf life during storage, stabilizing pH and limiting CO<sub>2</sub> especially in 375W-6 min. Ultrasound has provided a significant increase on whipping capacity values from 410±14.14 (control/untreated) to 565±7.07; 610±14.14; 607.5±17.68, and 612.5±10.61, respectively (150W-3 min; 150W-6 min; 375W-3 min and 375W-6 min). Egg's whipping capacity values were increased with increasing exposure time and power (Watt). Sonication has a potential to become significant breakthrough and improve functional properties of eggs during storage while increasing shelf-life.

**Keywords:** Egg, liquid whole egg, ultrasound, foaming properties, quality criteria, storage.

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ myuceer@comu.edu.tr,

☎ (+90) 286 218 0018/5525

☎ (+90) 286 218 0549

## GİRİŞ

Yumurta; hızla bozulabilen bir gıda olup, beslenme açısından önemli bir fonksiyonel üründür. Ekonomik değerinin yanı sıra yumurta, anne sütünden sonra, insan ihtiyacı için gerekli tüm besin öğelerini yapısında bulunduran; yüksek protein içeriği, kolayca bulunabilmesi ve düşük maliyeti nedeniyle insanlar için mükemmel bir besindir. Bu açıdan yumurta mayonez, kek ve makarna gibi bir çok endüstriyel gıdanın imalatında kullanılan ve alternatifi/ikamesi olmayan bir gıdadır (Mine, 2007). Kentleşmenin beraberinde getirdiği yaşam koşulları ve teknolojinin hızlı gelişmesiyle, günümüzde paketlenmiş ürünlere ve işlenmiş yumurta ürünlerinde artan bir talep söz konusudur. "Yumurta ürünleri" ifadesi, ticari veya ev dışı tüketim hizmeti sağlayan müşteri segmentinde, yumurtaların işlenmesi ile pratik kullanımını sağlayan formu olarak ifade edilebilmektedir. Bu ürünler, soğutulmuş sıvı, dondurulmuş ve kurutulmuş ürünler olarak sınıflandırılmaktadır. Sıvı yumurta ürünlerinin işlenmesi sırasında gıda güvenliği açısından Salmonella gibi patojen mikroorganizmaların inaktive edilmesi gerekmektedir. Yumurta ve ürünlerinin raf ömrünün uzatılması ve kalitesinin korunması amacıyla günümüzde pastörizasyon tekniğinden yararlanılmaktadır. Ancak ısı işleminin yumurtanın fonksiyonel özellikleri, besinsel bileşimi, aroma ve yapısında istenmeyen değişiklikler meydana getirmesi nedeniyle, bu yöntem alternatif olabilecek metotların geliştirilmesi ve uygulanması konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır. Nitekim yumurta akı, bütün yumurta ve yumurta sarısının kimyasal kompozisyonu ve pH farklılığına bağlı olarak Salmonella'nın ısı direnci değişiklik göstermektedir. Yumurta akına ısı işlem uygulandığında ilk kayda değer değişiklik köpürme yeteneğindeki kayıpta görülmektedir. Ayrıca pıhtılaşma, köpürme ve emülsiyon oluşturma özelliklerini olumsuz yönde etkilemekte ve yumurtada bulunan konalbümin ısısal hassasiyeti yüksek bir protein olup, 63°C'de biyoaktif özelliklerini yitirmektedir (Arzeni vd., 2011). Yumurta akı bağlama yeteneği ve köpük oluşturma kapasitesi açısından gıda sanayiinde önemlidir (Huopalahti vd., 2007).

Yenilikçi gıda işleme yöntemleri olarak günümüzde ultrasonik dalga uygulaması (sonikasyon), yüksek elektrik alan darbeleri, yüksek hidrostatik basınç, ışınlama, UV ve ozonlama uygulaması ile sıvı yumurta ürünlerinin özellikleri ve raf ömrü araştırılmaktadır. Ultrases; ısı olmayan alternatif işleme tekniklerinden olup, yüksek frekansta (18 kHz-500 MHz) ve yüksek enerjili ultrases dalgalarının kullanılması anlamındadır. Sonikasyon uygulamalarının etkinliğinde ise, kullanılan ultrasonik dalganın genliği, uygulama süresi, uygulamanın yapıldığı hacim, gıdanın bileşimi ve sıcaklık rol oynamaktadır. Düşük frekanslarda (örneğin 20 kHz) üretilen kabarcıkların boyutu büyüktür ve çöktüğünde yüksek enerjiler üretmektedir (Chemat vd., 2011; Dolatowski vd., 2007). Ultrason uygulamaları esnasında hücre içinde vakumlu boşlukların (kavitasyon) oluşması, hücre çeperinin incilmesi, noktasal sıcaklık artışı, mikro buharlaşma ve şok dalgaları gibi etkiler, geleneksel ısı işlem uygulamalarında oluşan besin kaybı ve olumsuz duyuşal değişimlere neden olmazken mikroorganizmaların daha düşük sıcaklıklarda ve kısa sürelerde inaktivasyonunu sağlamaktadır (Rastogi, 2011; Soria ve Villamiel, 2010). Pastörizasyona göre ultrasesin; tat kaybını azaltmak, daha homojen ürün elde etmek ve enerji tasarrufu sağlamak gibi avantajları bulunmaktadır (Mason vd., 1996; Piyasena vd., 2003). Ultrases uygulamalarına bağlı olarak yumurtanın fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel kalitesindeki değişikliğin tespiti; hem yumurtanın işleme ve muhafazasındaki ekonomik kaybın önlenmesi hem de fonksiyonel niteliklerinin korunması endüstriyel açıdan önem taşımaktadır. Çalışma ile sıvı bütün yumurtanın kontrol, ultrases uygulaması (150 W) 3 dakika, (150 W) 6 dakika, (375 W) 3 dakika ve (375 W) 6 dakika uygulama gerçekleştirilmiş ve sıvı bütün yumurtanın işlenmesinde sonikasyonun uygulanabilirliği araştırılmıştır. Çalışmada, depolama boyunca 4°C sıcaklıkta, örneklerin kalite kriterleri (pH, köpük kapasitesi, stabilitesi, L\*, a\*, b\* renk değerleri, ambalaj içi O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> gaz konsantrasyonu) belirlenmiştir.



### MATERYAL ve YÖNTEM

#### Materyal

Çalışmada hammadde olarak kullanılan çiğ sıvı bütün yumurta yerel ölçekli sıvı yumurta üreticisinden aynı parti numaralı 20 kg'lık bag in box (PE/EVOH) ambalajlarda ve soğuk zincirde (2 ile 4 °C arası) temin edilerek laboratuvara ulaştırılmıştır.

#### Ultrases Uygulaması

Kavitasyon oluşturmak için ultrases cihazı (Ultraschall processor UIP1000hd, Hielscher Ultrasonics GmbH, Teltow, Almanya) kullanılarak BS2d18 metalik prob ile cihazın çift cidarlı paslanmaz çelikten mamul özel haznesi içerisinde her seferde 300 ml'lik sıvı yumurtaya uygulama gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2 farklı güç parametresi (150 W ve 375 W) 3 ve 6 dk. süre kombinasyonu deneysel çalışmada uygulanmıştır. Çalışma iki tekerrür ve iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Uygulama esnasında sıvı yumurtada sıcaklık artışı önlemek için cidardan soğuk su sirkülasyonu yapılmıştır. Deneysel tasarım için sistemi karakterize eden kontrol parametrelerindeki (ultrases W gücü ve uygulama süresi) öncelikle bağımsız değişkenlerin birbirleriyle etkileşimi ve bunların her birisinin hedefe (yüksek yumurta RWC değeri) olan etkileri hep birlikte dikkate alınarak işlem parametrelerinin optimizasyonu için laboratuvar ön denemeleri gerçekleştirilmiştir.

#### Metotlar

##### pH Tayini

Ultrases uygulanan ve uygulanmayan sıvı yumurta örneklerinde ölçümler pH metreyle (Ohaus

Starter 3100, NJ, ABD)  $20\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 6 hafta süresince belirlenmiştir (Caner ve Yüceer, 2015).

##### Renk Analizleri

Sıvı yumurtada ölçümler kolorimetreye (CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japonya)  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerlerinin ölçümü ile 5 hafta boyunca gerçekleştirilmiştir (Yüceer vd., 2015).

##### Köpük Özellikleri

Sıvı yumurta numunelerinde 100 ml sıvı yumurtanın sıcaklığı  $20\pm 2^\circ\text{C}$ 'ye ayarlandıktan sonra Hobart mikserde (N50CE, Hobart Foster Scandinavia A/S, Aalborg, Danimarka) 3. devirde 2 dakika çırpma ile oluşturulan köpük 1000 ml'lik mezüre alınarak hacim kaydedilmiş ve hesaplamalar yapılmıştır (Caner ve Yuceer, 2015). Oluşan köpük hacmi kaydedildikten sonra bir saat beklenerek drenajın bir beherin içine birikmesi sağlanmıştır. Biriken drenaj 100 ml'lik mezüre alınarak sıvı hacmi köpük stabilitesi olarak kaydedilmiştir (Min vd., 2005).

$$\text{Köpük kapasitesi (\%)} = 100 \times \frac{(\text{köpüğün hacmi})}{(\text{ilk sıvı fazın hacmi})} \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Eşitlik 1'de oluşan köpüğün hacmi, çırpıldıktan sonra oluşan nihai köpüğün hacmini ifade etmekte iken; ilk sıvı fazın hacmi, çırpılmadan önceki yumurta akının mililitre olarak hacmini ifade etmektedir (Macherey vd., 2011; Patrignani vd., 2013). Köpük stabilitesi, köpük yapısının lamellerinden akan sıvının miktarı olan drenajın gözlemlenmesiyle hesaplanmıştır (Kuropatwa vd., 2009). Aşağıdaki formül köpürmüş yumurtanın köpük stabilitesini belirlemek için kullanılmaktadır.

$$\text{Köpük stabilitesi (\%)} = 100 \times \frac{(\text{ilk sıvı fazın hacmi}) - (60 \text{ dakika sonra oluşan drenajın hacmi})}{\text{ilk sıvı fazın hacmi}} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Eşitlik 2'de; ilk sıvı faz, çırpılmadan önceki yumurtanın mililitre olarak hacmidir; drenajın hacmi oda sıcaklığında bir saat sonra toplanan drenajın mililitre olarak hacmidir (Lomakina ve Mikova, 2006).

##### Ambalaj İçi Gaz Konsantrasyonu

100 ml sıvı yumurta örneği bag in bags ambalajlarda  $4^\circ\text{C}$ 'de depolanmıştır. Paket içerisinde hava boşluğunda gaz kompozisyonunun ( $\%\text{CO}_2$  ve  $\%\text{O}_2$ ) değişimi 4 hafta süresince

periyodik olarak ölçülmüştür. Bu amaçla gaz analizörü (OxyBaby, HTK, Hamburg, Almaya) kullanılmış, ambalajın üst yüzeyine özel etiket yapıştırılarak gaz kaçıışı önlenmiş ve cihazın iğne ucu batırılarak ölçüm yapılmıştır. Yöntemde ambalaj içi gaz konsantrasyonunun depolama ile değişimi (oksijen miktarının azalması ve karbondioksit miktarının artışı) esas alınmış, raf ömrü tayini yapılarak sonuçlar v/v olarak verilmiştir.

### İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada farklı ultrases uygulamasının sıvı yumurta kalitesi üzerine etkilerinin araştırılmasında varyans analizinden (ANOVA) yararlanılmıştır. Depolama boyunca ultrases uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) sıvı yumurtalarda belirlenen parametreler arasında herhangi bir istatistiksel farklılık olup olmadığını belirlemek için LSM-PROG GLM istatistiksel prosedürü ile SAS 9.1.3 istatistik programı (SAS Institute Inc. SAS) kullanılmıştır (*P* değerinin 0.05'den daha küçük olmasıyla tanımlanmıştır).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### pH Değeri Sonuçları:

Yumurtada pH değeri önemli bir kalite göstergesidir. Depolama boyunca albümin (yumurta akı) pH değeri, yumurta kabuğunda bulunan ve 'por' adı verilen gözenekler yoluyla nötr noktadan (pH 7.0) artarak CO<sub>2</sub> kaybına bağlı olarak karbonik asidin (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) parçalanması ile 9.5'e yükselmektedir. (Yuceer ve Caner, 2014). Yoğun albümin viskozitesi de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> oluşumu ve artan pH değeri kimyasal tepkimelerle düşmekte ve tampon sisteminin bir bileşeni olan H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, su ve CO<sub>2</sub> oluşturmak üzere ayrışarak albümin asitlik değerini azaltmaktadır (Caner ve Yüceer, 2015). Ancak sıvı yumurtada durum farklılık arz etmekte ve bu çalışmada gözlemlenen başlangıçtaki yumurta pH değeri (7.37±0.04) ultrases uygulanan ve uygulanmayan tüm sıvı yumurta örneklerinde artan ultrases W

gücü ile pH değerinde artış kaydedilmiş ve depolama süresince yumurtanın pH değeri azalmıştır. Çizelge 1'de Ultrases uygulanan sıvı bütün yumurtanın pH değerlerindeki değişim verilmiştir. Buna göre meydana gelen artışın 375 W (3 ve 6 dk. uygulaması) değerinde kontrol grubu ve 150 W (3 ve 6 dk. uygulaması) ultrases gücü uygulaması arasında istatistiksel açıdan kontrolden farklı ancak uygulamalar açısından benzer olduğu belirlenmiştir. Ultrasesin sıvı yumurta akı -SH ve disülfid grupları üzerinde bir oksidasyona neden olmadığı bildirilmiş ve termal geçiş olan 65 ve 81°C'lerinde de önemli bir değişiklik olmadığı ifade edilmiştir (Arzeni vd., 2011). Ayrıca yumurta albüminin 20 kHz frekansında ve %20 amplitude (genlik) uygulanan ultrases çalışmasında -SH içeriğinin etkilenmediği sadece yüzey hidrofobitesinin arttığı ifade edilmiştir (Arzeni vd., 2012). Ancak ultrases uygulamasının yumurta akı proteinlerinden olan ovalbümin üzerinde çözünür agregat (kümeleşme) oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (Xiong vd., 2016). Bu açıdan ultrasesin yumurta akı pH değeri üzerinde etkisinin uygulamaların kendi içerisinde benzerlik taşıdığı ancak 375 W uygulamasının kontrole göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklı olduğu, 150 W değerinde ise kontrol ile benzer olduğu belirlenmiştir. Bu durum artan ultrases gücü ile protein net yüklerinin etkilendiğini göstermektedir (Gharbi ve Labbafi, 2018).

Çizelge 1. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın PH değerlerine depolama süresince etkisi

Table 1. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on pH values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta pH Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's pH Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)	6. Hafta (Week 6)
K*	7.37±0.04 <sup>Ba</sup>	7.01±0.02 <sup>ABb</sup>	6.77±0.01 <sup>Bc</sup>	6.43±0.02 <sup>Cd</sup>	6.26±0.02 <sup>De</sup>	6.20±0.01 <sup>Cef</sup>	6.14±0.03 <sup>Bf</sup>
150W-3dk	7.42±0.02 <sup>ABa</sup>	7.00±0.06 <sup>ABb</sup>	6.41±0.03 <sup>De</sup>	6.37±0.04 <sup>Ced</sup>	6.39±0.03 <sup>Ced</sup>	6.35±0.04 <sup>Bcd</sup>	6.33±0.03 <sup>Ad</sup>
150W-6dk	7.43±0.03 <sup>ABa</sup>	6.97±0.04 <sup>Bb</sup>	6.52±0.05 <sup>Cc</sup>	6.39±0.05 <sup>Cd</sup>	6.35±0.04 <sup>Cd</sup>	6.34±0.04 <sup>Bd</sup>	6.34±0.02 <sup>Ad</sup>
375W-3dk	7.47±0.02 <sup>Aa</sup>	7.02±0.04 <sup>ABb</sup>	6.82±0.02 <sup>Bc</sup>	6.86±0.01 <sup>Ac</sup>	6.47±0.03 <sup>Bd</sup>	6.37±0.03 <sup>Be</sup>	6.35±0.04 <sup>Ae</sup>
375W-6dk	7.46±0.02 <sup>Aa</sup>	7.07±0.03 <sup>Ab</sup>	6.92±0.02 <sup>Ac</sup>	6.77±0.02 <sup>Bd</sup>	6.74±0.03 <sup>Ad</sup>	6.48±0.05 <sup>Ae</sup>	6.40±0.01 <sup>Af</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (*P*<0.05)

<sup>A-C</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (*P*<0.05).

<sup>a-f</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (*P*<0.05)

<sup>a-f</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (*P*<0.05).

**Sıvı Yumurta Renk Değerleri (L\*, a\*, b\*):**

Sıvı yumurta renginin görsel izlenimi müşteri tarafından kabul edilebilirliğini belirlemektedir. Ultrases uygulanan sıvı bütün yumurtanın L\* renk değerlerindeki değişim Çizelge 2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ultrases uygulanan sıvı yumurtanın saydımlık-opak olma durumu 375 W - 6 dk. uygulaması ile değişmiş ve L\* parlaklık değerlerinde uygulamayı takiben yapılan ölçümlerde istatistiksel açıdan önemli düzeyde farklılık tespit edilmiştir. Ultrases uygulanmış numuneler kontrolle karşılaştırıldığında L\* değeri 65 değerinde depolama boyunca L\* değeri artmıştır. Beş haftalık depolama sonrası L\*

değerlerinde artış belirlenmiştir. L\* değerleri 66.41-66.86 arasında değişmiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılığa ulaşamamıştır ( $P>0.05$ ). Benzer şekilde, Wang vd. (2013) yumurta akı ile yapılan bir çalışmada ise yumurta parlaklık değerinin ultrases uygulaması ile azaldığı ifade edilmiş ve bu durumun ultrasesin protein yüzey hidrofobisitesinin artışı ve sülfidril gruplar üzerinde azalma riboflavin moleküllerinin protein makro molekülleri üzerindeki yüzey etkisi ile ilgili olabileceği belirtilmiştir. Nitekim ultrasesin yumurta proteinlerinin çözünürlüğünü arttırmaktadır (Sert vd., 2013; Stefanovic vd., 2017).

Çizelge 2. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın L\* renk değerlerine depolama süresince etkisi

Table 2. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on L\* color values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta L* Renk Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's L* Color Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)
K*	65.69±0.06 <sup>Ad</sup>	65.80±0.04 <sup>Ad</sup>	65.99±0.08 <sup>Ccd</sup>	68.95±0.15 <sup>Aa</sup>	67.14±0.06 <sup>Ab</sup>	66.42±0.02 <sup>Ac</sup>
150W-3dk	65.24±0.04 <sup>Ad</sup>	66.02±0.89 <sup>Ac</sup>	68.30±0.80 <sup>Aa</sup>	67.39±0.16 <sup>Cb</sup>	66.38±0.12 <sup>BCc</sup>	66.41±0.03 <sup>Ac</sup>
150W-6dk	65.14±0.04 <sup>Ac</sup>	65.48±0.05 <sup>Ac</sup>	66.91±0.58 <sup>Bb</sup>	68.11±0.14 <sup>Ba</sup>	66.64±0.04 <sup>ABCb</sup>	66.69±0.05 <sup>Ab</sup>
375W-3dk	65.54±0.13 <sup>Ac</sup>	65.60±0.04 <sup>Ac</sup>	65.83±0.38 <sup>Cc</sup>	67.63±0.03 <sup>BCa</sup>	66.24±0.03 <sup>Cbc</sup>	66.44±0.03 <sup>Ab</sup>
375W-6dk	65.35±0.06 <sup>Ab</sup>	65.55±0.04 <sup>Ab</sup>	65.67±0.40 <sup>Cb</sup>	66.34±0.03 <sup>Da</sup>	66.85±0.03 <sup>ABa</sup>	66.86±0.04 <sup>Aa</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) ( $P<0.05$ )

<sup>A-C</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) ( $P<0.05$ ).

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) ( $P<0.05$ )

<sup>a-c</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) ( $P<0.05$ ).

Ultrases tekniği uygulanan sıvı bütün yumurtanın a\* renk değerlerindeki değişim Çizelge 3’te verilmiştir. Yumurta proteinlerinin termal koagülasyonu, işlenmiş sıvı yumurta numunelerinde meydana gelen ana renk değişikliklerini de açıklamaktadır. Elde edilen sonuçlara göre ultrases uygulanan sıvı yumurtanın a\* renk değerlerinde farklılık meydana gelmiş ve depolama süresince renk parametresi tüm uygulama grupları ile kontrol numunesinde azalma kaydetmiştir. Çalışmada kırmızı/yeşil (a\* değerleri) 5.8-5.1 aralığından depolama sonunda

1.88-0.89 düşerek istatistiksel anlamlı bir fark göstermektedir ( $P>0.05$ ). Ultrases uygulanan sıvı bütün yumurtanın b\* renk değerlerindeki değişim Çizelge 4’te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ultrases uygulanmasıyla b\* renk değerlerinde azalma kaydedilmiştir. Sarı/mavi (b\* değerleri) 35.83-35.06 arasında ve depolama sonunda 34.67-25.45 anlamlı bir fark göstermektedir ( $P>0.05$ ). Bu durumun ovalbümin üzerinde çözünür agregat (kümeleşme) oluşumu ile ilgili olabileceği değerlendirilmektedir (Xiong vd., 2016)

Çizelge 3. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın a\* renk değerlerine depolama süresince etkisi

Table 3. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on a\* color values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta a* Renk Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's a* Color Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)
K*	5.31±0.03Ba	5.18±0.03Aa	4.38±0.04Ab	2.55±0.03Cc	1.43±0.02Dd	0.89±0.01Dc
150W-3dk	5.29±0.02BCa	5.18±0.05Aa	3.18±0.04Cb	2.52±0.05Cc	2.33±0.04Cc	1.73±0.02ABd
150W-6dk	5.10±0.03Ca	5.24±0.32Aa	3.96±0.18Bb	1.60±0.04Dc	2.56±0.04Bd	1.88±0.03Ae
375W-3dk	5.80±0.04Aa	5.20±0.04Ab	4.45±0.41Ac	3.06±0.03Bd	3.04±0.02Ad	1.56±0.02BCc
375W-6dk	5.25±0.03BCa	5.15±0.02Aa	4.54±0.07Ab	4.41±0.02Ab	2.30±0.04Cc	1.49±0.02Cd

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-D</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (P<0.05)

<sup>A-D</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (P<0.05).

<sup>a-e</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (P<0.05)

<sup>a-e</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (P<0.05).

Çizelge 4. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın b\* renk değerlerine depolama süresince etkisi

Table 4. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on b\* color values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta b* Renk Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's b* Color Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)
K*	35,83±0,76Ac	34,69±0,02Bc	35,39±0,09Cd	37,43±0,02Ba	36,28±0,02Ab	29,51±0,17Cf
150W-3dk	35,35±0,04Bd	35,52±0,29Ad	37,44±0,23Ab	38,67±0,04Aa	36,65±0,04Ac	25,45±0,40Ec
150W-6dk	35,10±0,25Bc	35,01±0,14Bc	35,96±0,16Bb	36,62±0,06Ca	36,55±0,05Aa	27,42±0,22Dd
375W-3dk	35,27±0,08Bb	35,08±0,03ABb	35,28±0,21Cb	36,72±0,04Ca	35,28±0,40Cb	32,87±0,05Bc
375W-6dk	35,06±0,04Bcd	34,94±0,04Bcd	35,39±0,03Cbc	35,94±0,03Da	35,75±0,03Bab	34,67±0,04Ad

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-E</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (P<0.05)

<sup>A-E</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (P<0.05).

<sup>a-e</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (P<0.05)

<sup>a-e</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (P<0.05).

#### Sıvı Yumurta Köpük Kapasitesi:

Yumurta akının mükemmel köpürme özellikleri bulunmaktadır. Yumurta çırpıldığında, hava kabarcığı sıvı albümin içinde sıkışır ve köpük oluşmaktadır. Köpük kapasitesi, çırpma veya köpürme esnasında hava-sıvı ara yüzünde hızlı bir şekilde adsorbe edilebilme yeteneği ve moleküller

arası etkileşimler yoluyla kohezif viskoelastik bir film oluşturma kabiliyeti ile belirlenmektedir (Mine, 1995). Kontrol ve ultrases uygulanan sıvı yumurta örneklerinde köpük kapasitesi değerleri Çizelge 5'te verilmiştir. Buna göre artan ultrases uygulama yoğunluğu ve uygulama süresi ile köpük kapasitesi değerlerinde artış kaydedilmiştir. 150

W-3 dk. ultrases uygulamasının köpük kapasitesini kontrole göre olumlu yönde arttırdığı tespit edilmiştir. Köpüklenme kapasitesi diğer uygulama guruplarında ise istatistiki olarak 150 W-3 dk. uygulamasından farklı bulunmuş ve daha yüksek köpük kapasitesi değerlerine erişilmiştir. 150 W-6dk, 375 W-3 dk ve 375 W -6 dk ultrases ve uygulama zamanının köpürme gücünde belirgin bir artışa yol açtığı gözlenmiştir. Bu durumun yüksek ultrases gücü uygulamasının protein moleküllerinin sıralı yapısının ara yüz gerilimini düşüren ve rastgele sarmal tipi proteinlere dönüşümü ile ultrases uygulamasının yumurta akı proteinlerinden olan ovalbümin üzerinde çözünür agregatlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Xiong vd., 2016). Çalışmada artan ultrases gücü ve süresi ile yumurta köpük oluşturma değerlerinin artış kaydettiği belirlenmiştir. Bu durum bütün sıvı yumurtanın fonksiyonel özelliklerinin korunması ve geliştirilmesinde ultrasesin etkinliğini göstermektedir. Sıvı yumurta içindeki protein ve yağ parçacıklarını daha eşit olarak dağıtılması ile sıvı yumurtanın köpürme kapasitesini arttırılabilmektedir (Johnson ve Zabik, 1981). Bu ise ultrasesin homojenizasyon etkisi ve yüzey

hidrofobik etkisiyle açıklanabilmektedir. Nitekim albümin proteinlerinin 20 kHz ve %20 Amp'de yüksek dalga boyunda ultrases uygulamasıyla yüzey hidrofobik etkisinin arttığı ancak -SH gruplarının etkilenmediği bildirilirken daha stabil emülsiyon elde edildiği bildirilmiştir (Arzeni vd., 2012). Yumurta akı proteinlerinin ultrases uygulaması sonrası jelleşme ve viskoelastik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise 20 dakika süre ile 20 kHz ve %20 Amp'de ısı ile kombine edilerek yapılan uygulamada yumurtanın fonksiyonel özelliklerinin iyileştirildiği bildirilmiştir (Arzeni vd., 2011). Ultrases tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda geleneksel yöntemlere göre daha iyi homojenizasyona etkisi ve daha düşük enerji tüketimi gibi avantajların elde edildiği bildirilmiştir (Feng vd., 2011). Nitekim ultrasesin yumurta proteinlerinin çözünürlüğünü arttırdığı, partikül büyüklüğünü azalttığı ve yumurta biyoaktif bileşenleri olan lizozim (pozitif yüklenme) ile ovomusin (negatif yüklenme) arasında elektrostatik güç oluşturduğu bilinmektedir (Gharbi ve Labbafi, 2018; Jovanovic vd., 2016; Sert vd., 2013; Stefanovic vd., 2017).

Çizelge 5. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın köpük oluşturma kapasitesi değerlerine depolama süresince etkisi

Table 5. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on whipping capacity values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta Köpük Oluşturma Kapasitesi Değeri							
Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's Whipping Capacity Values							
	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)	0. Hafta (Week 0)
K*	410.00±14.14 <sup>Cb</sup>	582.50±3.54 <sup>Ba</sup>	580.00±7.07 <sup>Ba</sup>	572.50±10.61 <sup>Ba</sup>	577.50±3.54 <sup>Ba</sup>	572.50±17.68 <sup>Ca</sup>	565.00±7.07 <sup>Ba</sup>
150W-3dk	565.00±7.07 <sup>Bb</sup>	657.50±3.54 <sup>Aa</sup>	655.00±7.07 <sup>Aa</sup>	667.50±3.54 <sup>Aa</sup>	652.50±10.61 <sup>Aa</sup>	590.00±14.14 <sup>Cb</sup>	587.50±3.54 <sup>Abb</sup>
150W-6dk	610.00±14.14 <sup>Abc</sup>	665.00±7.07 <sup>Aa</sup>	647.50±3.54 <sup>Aab</sup>	653.00±4.24 <sup>Aa</sup>	627.50±3.54 <sup>Aabc</sup>	600.00±7.07 <sup>B<sup>Cc</sup></sup>	587.50±3.54 <sup>Abc</sup>
375W-3dk	607.50±17.68 <sup>Ac</sup>	645.00±14.14 <sup>Abc</sup>	687.50±10.61 <sup>Aa</sup>	670.00±7.07 <sup>Aab</sup>	652.50±10.61 <sup>Aab</sup>	635.00±7.07 <sup>ABbc</sup>	607.50±10.61 <sup>Ac</sup>
375W-6dk	612.50±10.61 <sup>Ab</sup>	650.00±14.14 <sup>Aab</sup>	670.00±14.14 <sup>Aa</sup>	667.50±3.54 <sup>Aa</sup>	662.50±10.61 <sup>Aa</sup>	647.50±3.54 <sup>Aab</sup>	622.50±10.61 <sup>Ab</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (P<0.05)

<sup>A-C</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (P<0.05).

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (P<0.05)

<sup>a-c</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (P<0.05).

**Sıvı Yumurta Köpük Stabilitesi:**

Kontrol ve ultrases uygulanan sıvı yumurta örneklerinde köpük stabilitesi değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Köpürme stabilitesi, yüzey hidrofobitesini arttıran yumurta proteininin konformasyonel değişikliklerine bağlı olarak uygulanan güç ve süre ile artmıştır. Köpük stabilitesi yüzey viskozitesine bağlıdır. Bu nedenle, hava-su ara yüzünde oluşan agregalar bir yüzey jel şebekesi oluşturduğu görülmektedir ve bu ultrases uygulanmış yumurtanın stabilitesinden sorumlu olabilmektedir (Damodaran, 2007). Çizelge 6'da sıvı bütün yumurtanın köpürme stabilitesinin 53.5 ile 79.33 arasında olduğu ve stabilitenin uygulanan güç ve süreden etkilendiği gözlenmektedir. Buna göre ultrases gücü/yoğunluğu ve süresi ile köpük stabilitesi değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Köpük üç temel

mekanizma ile çökmektedir. Birincisi, kabarcık, zamanın bir fonksiyonu olarak orantılıdır; kabarcıklar, daha yüksek bir basınç bölgesi olan içten gelen hava difüzyonuna bağlı olarak zamanla boyutu küçülür. İkincisi, lamellerin kopması olup; kabarcıklar, iki kabarcık arasında delik oluşumuna neden olan itme ve çekme kuvvetleri nedeniyle çabucak birleşir. Üçüncüsü ise drenaj olup, kabarcıkların etrafındaki su, doğal olarak, kabarcığı çevreleyen filmde proteinleri çıkaran sıvı tabakaya kadar boşaltır ve bu kabarcıklar desteklemek için çok ince olmaktadır (Lomakina ve Mikova, 2006). Genellikle, globülinler ve  $\beta$ -kazein gibi iyi köpürme kabiliyetine sahip olan proteinler köpük stabilize etme kapasitesine sahip olmazken, ovomusin ve lizozim gibi kararlı köpük oluşturan proteinler genellikle kötü köpürme kabiliyetine sahiptirler (Damodaran, 2007).

Çizelge 6. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın köpük stabilitesi değerlerine depolama süresince etkisi

Table 6. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on foaming stability values of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta Köpük Stabilitesi Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's Foaming Stability Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)	5. Hafta (Week 5)
K*	60.33±4.51 <sup>Ab</sup>	63.67±4.51 <sup>Ab</sup>	72.33±1.15 <sup>Aa</sup>	73.00±1.00 <sup>Aa</sup>	78.67±0.58 <sup>Aa</sup>	79.33±3.06 <sup>Aa</sup>
150W-3dk	56.75±2.22 <sup>Ab</sup>	61.33±3.21 <sup>Ab</sup>	68.00±2.65 <sup>Aa</sup>	70.00±1.00 <sup>Aa</sup>	73.67±0.58 <sup>Ba</sup>	75.50±2.12 <sup>Aa</sup>
150W-6dk	53.50±1.29 <sup>Ab</sup>	63.50±2.12 <sup>Aa</sup>	65.50±0.71 <sup>Aa</sup>	66.50±3.54 <sup>Aa</sup>	70.00±3.00 <sup>ABa</sup>	72.00±1.41 <sup>Aa</sup>
375W-3dk	54.25±2.06 <sup>Ac</sup>	61.50±0.71 <sup>Abc</sup>	64.50±3.54 <sup>Ab</sup>	71.00±1.41 <sup>Aab</sup>	76.50±0.71 <sup>ABa</sup>	76.00±1.41 <sup>Aa</sup>
375W-6dk	54.25±4.35 <sup>Ac</sup>	63.50±2.12 <sup>Ab</sup>	64.50±0.71 <sup>Ab</sup>	67.50±0.71 <sup>Ab</sup>	72.50±0.71 <sup>ABab</sup>	77.00±2.65 <sup>Aa</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) ( $P<0.05$ )

<sup>A-B</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) ( $P<0.05$ ).

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) ( $P<0.05$ )

<sup>a-c</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) ( $P<0.05$ ).

**Ambalaj İçi Gaz Konsantrasyonu:**

Çalışmada ultrases uygulanan sıvı yumurtanın  $O_2$  değerlerindeki değişim Çizelge 7'de verilmiş olup, artan depolama süresi ile ambalaj içerisindeki  $O_2$  düzeyi istatistiki açıdan önemli düzeyde azalmıştır. Ancak bu azalma özellikle depolama sonunda uygulamalar ve kontrol grubu arasında benzer bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Çalışmada ultrases uygulanan sıvı bütün yumurtanın  $CO_2$

değerlerindeki değişim Çizelge 8'de verilmiş olup, artan depolama süresi ile ambalaj içerisindeki  $CO_2$  düzeyi istatistiki açıdan önemli düzeyde artış kaydetmiştir. Meydana gelen artış depolama süresince uygulamalar ve kontrol grubu arasında fark önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bu durum özellikle artan ultrases gücü ve süresi ile  $CO_2$  değerlerinde bir azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir. Depolama boyunca artan

## Ultrases uygulanan sıvı yumurtanın fizikofonksiyonel karakterizasyonu

mikrobiyel faaliyete bağılı olarak raf ömrüne etkisi değerlendirildiğinde artan ultrases gücü ve uygulama süresi ile yumurta raf ömrünün arttığı gözlenmiştir. Nitekim çalışmada pH değerlerinin değişimi ile bu durum teyit edilmektedir. Ambalaj içi O<sub>2</sub> değerinin depolama ile artışı numunedeki

toplam bakteri florasında bulunan aerobik bakterilerin faaliyeti sonucu ürünün bozulma reaksiyonlarının (pH'daki azalma) gerçekleşmesinin göstergesi olarak değerlendirilmiş ve çalışmada gaz geçirgenliği düşük olan metalize bag in box kullanılmıştır.

Çizelge 7. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın ambalaj tepe boşluğu O<sub>2</sub> konsantrasyonu değerlerine depolama süresince etkisi

Table 7. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on package headspace O<sub>2</sub> gases concentration of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta O <sub>2</sub> Gaz Konsantrasyonu Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's O <sub>2</sub> Gases Concentration Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)
K*	19.07±0.12 <sup>Aa</sup>	8.50±0.50 <sup>Ab</sup>	1.17±0.29 <sup>Bc</sup>	0.13±0.06 <sup>Ad</sup>	0.13±0.06 <sup>Ad</sup>
150W-3dk	19.23±0.21 <sup>Aa</sup>	7.63±0.32 <sup>Bb</sup>	3.33±0.31 <sup>Ac</sup>	0.33±0.15 <sup>Ad</sup>	0.13±0.06 <sup>Ad</sup>
150W-6dk	19.37±0.15 <sup>Aa</sup>	7.27±0.25 <sup>BCb</sup>	2.87±0.32 <sup>Ac</sup>	0.30±0.10 <sup>Ad</sup>	0.17±0.06 <sup>Ad</sup>
375W-3dk	19.33±0.15 <sup>Aa</sup>	6.67±0.38 <sup>Cb</sup>	2.73±0.32 <sup>Ac</sup>	0.40±0.10 <sup>Ad</sup>	0.20±0.10 <sup>Ad</sup>
375W-6dk	19.17±0.15 <sup>Aa</sup>	4.33±0.25 <sup>Db</sup>	2.83±0.21 <sup>Ac</sup>	0.47±0.15 <sup>Ad</sup>	0.13±0.06 <sup>Ad</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (P<0.05)

<sup>A-B</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (P<0.05).

<sup>a-d</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (P<0.05)

<sup>a-d</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (P<0.05).

Çizelge 8. Farklı güç ve sürelerde uygulanan ultrases işleminin sıvı bütün yumurtanın ambalaj tepe boşluğu CO<sub>2</sub> konsantrasyonu değerlerine depolama süresince etkisi

Table 8. Effect of different ultrasound Watt and exposure time on package headspace CO<sub>2</sub> gases concentration of liquid whole egg during storage periods

Depolama Süresi (Hafta) / Sıvı Bütün Yumurta CO <sub>2</sub> Gaz Konsantrasyonu Değeri Storage Time (Week) / Liquid Whole Egg's CO <sub>2</sub> Gases Concentration Values	0. Hafta (Week 0)	1. Hafta (Week 1)	2. Hafta (Week 2)	3. Hafta (Week 3)	4. Hafta (Week 4)
K*	5.07±0.08 <sup>Ac</sup>	9.90±0.10 <sup>Ad</sup>	19.90±0.10 <sup>Ac</sup>	29.50±0.10 <sup>Ab</sup>	35.50±0.10 <sup>Aa</sup>
150W-3dk	3.37±0.32 <sup>Be</sup>	7.67±0.31 <sup>Bd</sup>	16.73±0.25 <sup>Be</sup>	26.93±0.55 <sup>Bb</sup>	34.37±0.06 <sup>ABa</sup>
150W-6dk	3.20±0.20 <sup>Be</sup>	7.00±0.20 <sup>Bd</sup>	16.47±0.50 <sup>Be</sup>	25.90±0.46 <sup>Bb</sup>	33.03±0.25 <sup>Ba</sup>
375W-3dk	2.97±0.32 <sup>Be</sup>	6.43±0.32 <sup>Bd</sup>	15.57±0.67 <sup>BCc</sup>	23.13±0.74 <sup>Cb</sup>	29.23±0.15 <sup>Ca</sup>
375W-6dk	3.33±0.31 <sup>Bd</sup>	3.77±0.32 <sup>Cd</sup>	14.37±1.19 <sup>Cc</sup>	15.90±0.60 <sup>Db</sup>	17.43±0.32 <sup>Da</sup>

\*K: Kontrol - control, untreated sample; W: Watt; dk-dakika: min

<sup>A-D</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Uygulama: sabit, Depolama: farklı) (P<0.05)

<sup>A-D</sup> Different lowercase letters donate significant differences between treatment times in same treatment and storage time (Treatment: constant -Storage: variable) (P<0.05).

<sup>a-e</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (Depolama: sabit, Uygulama: farklı) (P<0.05)

<sup>a-e</sup> Different capital letters donate significant differences between storage times in same treatment and time (Storage: constant - Treatment: variable) (P<0.05).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Akustik kavitasyon etkisinin sıvı yumurtanın fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerine etkisinin karakterize edildiği çalışmada; ultrases 150 W uygulanması yumurtanın köpürme ve kalite kriterlerini arttırmada oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca artan ultrases gücü ve süresi ile yumurta köpük oluşturma değerlerinin artış kaydettiği belirlenmiştir, bu durum bütün sıvı yumurtanın fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde ultrasesin etkinliğini göstermektedir. Çalışma kapsamında hedeflenen yumurtanın köpük oluşturma değerinin arttırılmasının yanında sıvı yumurtanın raf ömrünün belirlenmesine yönelik olarak ambalaj içi gaz konsantrasyonu ve pH parametrelerinin birlikte raf ömrünü belirlemede önemi ortaya konulmuştur.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, ‘Sıvı Yumurta Ürünlerinin Ultrases Tekniği ile Muamelesi ve Fonksiyonel ile Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi’ başlıklı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FBA-2015-656 numaralı proje kapsamında desteklenmiş ve ‘Sıvı Yumurtanın Ultrases Tekniğiyle İşlenmesi Yöntemi’ başlık ve 2018/08369 numarası ile patent başvurusu yapılmış olup Prof. Dr. Cengiz CANER ve Arş. Gör. Dr. Rıza TEMİZKAN’a çalışmaya değerli katkıları için teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

Arzeni, C., Pérez, O. E., and Pilosof, A. M. R. (2012). Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. *Food Hydrocoll.* 29:308-316, doi:10.1016/j.foodhyd.2012.03.009.

Arzeni, C., Pérez, O. E., and Pilosof, M. R. 2011. Aggregation and gelation properties of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. Pages 1-6 in 11<sup>th</sup> International Congress on Engineering and Food, Athens, Greece.

Caner, C., and Yuceer, M. (2015). Maintaining functional properties of shell eggs by ultrasound treatment. *J Sci Food Agric.* 95:2880-2891, doi:10.1002/jsfa.7029.

Caner, C., and Yüceer, M. (2015). Efficacy of various protein-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs during storage. *Poult Sci.* 94:1665-1677, doi:10.3382/ps/pev102.

Chemat, F., Huma, Z., and Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonic Sonochem.* 18:813-835, doi:10.1016/j.ultsonch.2010.11.023.

Damodaran, S. (2007). Amino acids, peptides, and proteins. in Fennema's Food Chemistry. Damodaran, S., Fennema, O., Parkin, K., Decker, E., Sikorski, Z., McClements, D., Brecht, J., Schwartz, S., Swaisgood, H., and Ho, C. eds. Boca Raton: CRC Press., London, UK. 269-281 s, ISBN: 978-1-4822-0812.

Dolatowski, Z. J., Stadink, J., and Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci Pol., Technol. Aliment.* 6:89-99,

Feng, H., Barbarosa-Canovas, G. V., and Weiss, J. (2011). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing.* Springer Science +Business Media, 495-509 s, ISBN: 978-1-4419-7472-3.

Gharbi, N., and Labbafi, M. (2018). Effect of processing on aggregation mechanism of egg white proteins. *Food Chem.* 252:126-133, doi:10.1016/j.foodchem.2018.01.088.

Huopalahti, R., López-Fandiño, R., Anton, M., and Schade, R. (2007). *Bioactive Egg Compounds.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg., 150 s, iISBN: 978-3-450-37883-9.

Johnson, T. M., and Zabik, M. E. (1981). Ultrastructural examination of egg albumen protein foams. *J Food Sci.* 46:1237-1240, doi:10.1111/j.1365-2621.1981.tb03030.x.

Jovanovic, J. R., Stefanovic, A. B., Sekuljica, N. Z., Tanaskovic, S. M., Dojcinovic, M. B., Bugarski, B. M., and Knezevic-Jugovic, Z. D. (2016). Ultrasound Pretreatment as a Useful Tool to Enhance Egg White Protein Hydrolysis: Kinetics, Reaction Model, and Thermodynamics. *J Food Sci.* 81:C2664-2667, doi:10.1111/1750-3841.13503.

Kuropatwa, M., Tolkach, A., and Kulozik, U. (2009). Impact of pH on the interactions between



- whey and egg white proteins as assessed by the foamability of their mixtures. *Food Hydrocoll.* 23:2174-2181, doi:10.1016/j.foodhyd.2009.05.001.
- Lomakina, K., and Mikova, K. (2006). A study of the factors affecting the foaming properties of egg white – a review. *Czech J. of Food Sci.* 24:110-118,
- Macherey, L. N., Conforti, F. D., Eigel III, W., and O’Keefe, S. F. (2011). Use of mucor michei lipase to improve functional properties of yolk-contaminated egg whites. *J Food Sci* 76:C651-C655, doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02138.x.
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., and Lorimer, J. P. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason Sonochem* 3:253-260, doi:10.1016/S1350-4177(96)00034-X.
- Min, B. R., Nam, K. C., Lee, E. J., Ko, G. Y., Trampel, D. W., and Ahn, D. U. (2005). Effect of irradiating shell eggs on quality attributes and functional properties of yolk and white. *Poult Sci* 84:1791-1796, doi:10.3382/ps.2012-02345.
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Sci. & Techn.* 6:225-232, doi:10.1016/S0924-2244(00)89083-4.
- Mine, Y. (2007). *Egg Bioscience and Biotechnology*. Wiley-Interscience & Sons, Inc., Publication, Hoboken, New Jersey, USA, 319 s, ISBN: 978-0-470-03998-4.
- Patrignani, F., Vannini, L., Sado Kamdem, S. L., Hernando, I., Marco-Molés, R., Guerzoni, M. E., and Lanciotti, R. (2013). High pressure homogenization vs heat treatment: Safety and functional properties of liquid whole egg. *Food Microbiol* 36:63-69, doi:10.1016/j.fm.2013.04.004.
- Piyasena, P., Mohareb, E., and McKellar, R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. of Food Microbiol.* 87:207-216, doi:10.1016/s0168-1605(03)00075-8.
- Rastogi, N. K. (2011). Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 51:705-722, doi:10.1080/10408391003770583.
- Sert, D., Aygun, A., Torlak, E., and Mercan, E. (2013). Effect of ultrasonic treatment on reduction of Esherichia coli ATCC 25922 and egg quality parameters in experimentally contaminated hens' shell eggs. *J Sci of Food Agric.* 93:2973-2978, doi:10.1002/jsfa.6126.
- Soria, A. C., and Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Sci & Techn.* 21:323-331, doi:10.1016/j.tifs.2010.04.003.
- Stefanovic, A. B., Jovanovic, J. R., Dojcinovic, M. B., Levic, S. M., Nedovic, V. A., Bugarski, B. M., and Knezevic-Jugovic, Z. D. (2017). Effect of the controlled high-intensity ultrasound on improving functionality and structural changes of egg white proteins. *Food Bioprocess Technol.* 10:1224-1239, doi:10.1007/s11947-017-1884-5.
- Wang, Y., Zhang, M., Adhikari, B., Mujumdar, A. S., and Zhou, B. (2013). The application of ultrasound pretreatment and pulse-spouted bed microwave freeze drying to produce desalted duck egg white powders. *Drying Technol.* 31:1826-1836, doi:10.1080/07373937.2013.829851.
- Xiong, W., Wang, Y., Zhang, C., Wan, J., Shah, B. R., Pei, Y., Zhou, B., Li, J., and Li, B. (2016). High intensity ultrasound modified ovalbumin: Structure, interface and gelation properties. *Ultrason Sonochem.* 31:302-309, doi:10.1016/j.ultsonch.2016.01.014.
- Yuceer, M., and Caner, C. (2014). Antimicrobial lysozyme-chitosan coatings affect functional properties and shelf life of chicken eggs during storage. *J Sci Food Agric.* 94:153-162, doi:10.1002/jsfa.6322.
- Yüceer, M., Temizkan, R., and Caner, C. 2015. Evaluation of color changes in various edible coated eggs during storage in XVI. European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Nantes, France.

## KOCAYEMİŞ (DAĞ ÇİLEĞİ-*ARBUTUS UNEDO* L.) MEYVELİ DONDURMA ÜRETİMİ, FİZİKSEL, KİMYASAL VE DUYUSAL PARAMETRELER AÇISINDAN İRDELENMESİ

Hatice Şanlıdere Aloğlu\*, Yeşim Gökgöz, Müzeyyen Bayraktar

Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kırklareli, Türkiye

Geliş / Received: 18.09.2018; Kabul / Accepted: 18.11.2018; Online baskı / Published online: 05.12.2018

Şanlıdere Aloğlu, H., Gökgöz, Y., Bayraktar, M. (2018). Kocayemiş (Dağ çileği-*Arbutus unedo* L.) meyveli dondurma üretimi, fiziksel, kimyasal ve duyuşal parametreler açısından irdelenmesi. *GIDA* (2018) 43 (6): 1030-1039 doi: 10.15237/gida.GD18098

Şanlıdere Aloğlu, H., Gökgöz, Y., Bayraktar, M. (2018). Strawberry tree fruits (*Arbutus unedo* L.) ice cream production, investigation of physical, chemical and sensorial parameters. *GIDA* (2018) 43 (6): 1030-1039 doi: 10.15237/gida.GD18098

### ÖZ

Bu çalışmada kocayemiş meyvesi ilavesinin dondurmanın fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Kocayemiş meyveli dondurma üretiminde iki farklı oranda (%15, %25) kocayemiş meyve püresi ilavesi ve bir kontrol dondurması üretilmiştir. Çalışma iki tekerrürlü yapılmıştır. Örneklerde kurumadde, kül, hacim artış tayini, erime süresi, ilk damlama ve tamamen erime süreleri, pH, titrasyon asitliği tayini, yağ, protein, renk analizleri, C vitamini (askorbik asit), antioksidan aktivite tayini, şeker tayini, su aktivite tayini, duyuşal analizler yapılmış, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Kocayemiş meyveli dondurmanın kurumadde, kül, yağ, pH, protein miktarlarında meyve püresi ilavesinden kaynaklanan azalma saptanırken, meyve ilavesiyle dondurmada C vitamini miktarında, troloks cinsinden antioksidan aktivite değerinde ve bununla birlikte titrasyon asitliğinde artış meydana gelmiştir. Kocayemiş meyve püresi oranlarının artışına bağlı olarak erimeye karşı olan direnci azalmış, hacim artışı değerinde artış meydana gelmiştir. Duyuşal açıdan % 15 kocayemiş meyvesi içeren dondurma örnekleri kontrol grubuna daha yakın değer almıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kocayemiş meyvesi, *Arbutus unedo* L., meyveli dondurma.

## STRAWBERRY TREE FRUITS (*ARBUTUS UNEDOL*) ICE CREAM PRODUCTION, INVESTIGATION OF PHYSICAL, CHEMICAL AND SENSORIAL PARAMETERS

### ABSTRACT

In this study, the effects of strawberry tree fruit addition to physical, chemical and sensory properties of ice cream were investigated. Strawberry tree fruit ice creams were produced with two different ratios (15%, 25%) and a control group was produced. Study was conducted in two replications. Dry matter, ash, overrun, melting time, first dripping time, complete melting time, pH, titratable acidity, fat, protein, color, vitamin C (ascorbic acid), antioxidant activity, sugar, water activity, and sensory analysis were carried out and results were evaluated with statistically. When the amount of dry matter, ash, fat, pH, and total nitrogen were decreased due to addition of pulp in ice creams, amount of ascorbic acid, antioxidant activity, and titratable acidity increased. Depending on the increase in the percentage of pulp, resistance to melting was decreased; overrun was increased. Strawberry tree fruit added ice cream with 15% ratio has sensory values near to the control group.

**Keywords:** Strawberry tree fruit, *Arbutus unedo* L., fruit ice cream.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ haticealoglu@klu.edu.tr, haticealoglu@gmail.com, ☎ (+90) 288 214 05 14 📠 (+90) 288 214 05 16

## GİRİŞ

Kocayemiş ağacı (*Arbutus unedo* L.), fundagiller (Ericaceae) familyasından meyveleri yenen bir çalı türüdür. Boyu 5-10 metre olmasına karşın nadiren de olsa 15 metreye ulaşan türlerine rastlanmaktadır. Kocayemiş meyvesi küre biçiminde, 1-2 cm çapında, yüzeyi pürüklü, önceleri yeşilimsi, olgunlaşınca ateş kırmızısı veya portakal rengindedir (Şekil 1). Meyvenin içinde 4-5 çekirdek bulunur, etli bir meyvedir. Meyveler toplanmazsa 1 sene boyunca bitki yeni meyveler verene kadar dalında kalabilmektedir. Kocayemişin anavatanı olarak Anadolu'nun da içinde yer aldığı Yunanistan, Lübnan, İrlanda ve Güney Avrupa Bölgesi gösterilmektedir. Tipik bir Akdeniz iklim bitkisidir (Sakaldaş, 2012). Türkiye'de Marmara, Ege, Akdeniz ve Karadeniz bölgesindeki makilerle birlikte bulunmaktadır (Pekdemir, 2010). Şekil 1'de kocayemiş meyvesi görülmektedir.



Şekil 1.Kocayemiş meyvesi (Foto: Şanlıdere Aoloğlu, H. 2016)

Figure 1.Strawberr tree fruit (Photo: Şanlıdere Aoloğlu, H. 2016)

Kocayemişin olgunlaşmış koyu kırmızı kabuklu meyveleri yuvarlak çilek görünümünde olmasına karşın, botanik ve pomolojik olarak çilek türü ile aralarında benzerlik bulunmamaktadır. Olgunlaşmış yumuşak tekstürlü meyveleri genellikle tatlı ve kokuludur (Şeker vd., 2004; Ruiz-Rodríguez, vb., 2011). Meyveleri taze tüketimin yanında özellikle jöle, marmelat, pasta süslemede değerlendirilmekte, Avrupa ülkelerinde bazı şarap ve likörlerin yapımında da kullanılmaktadır (Oliveira vd., 2011).

Kocayemiş iyi bir diyet lifi kaynağıdır. Özellikle antioksidanlarca zengin olan meyve başta kanser ve kardiyovasiküler hastalıklar olmak üzere birçok hastalığa karşı koruyucu etki gösterebilmekte, antiseptik, diüretik ve laksatif etkisi olduğu kabul edilmekte, yaprakları ise diüretik, üriner antiseptik, antidiyaretik, trombosit agregasyonunu önleyici ve depüratif olarak kullanılmaktadır (Oliveira vd., 2009; Ruiz-Rodríguez vb., 2011; Ülgen, 2013; Ötleş ve Şentürk, 2015; El Haouari ve Mekhfi, 2017; Naceiri Mrabti vd., 2017).

Türk Gıda Kodeksi, Dondurma Tebliği'ne göre meyveli dondurma; dondurma karışımına meyve, meyve suyu, meyve konsantresi, meyve püresi, meyve ezmesi katılması ile üretilen dondurma çeşididir (Anonim, 2005). Yapımı sırasında katılan meyveler, meyve püreleri, meyve suları, kuruyemişler vb. dondurmanın besleyici özelliğini daha da arttırmaktadır (Badem, 2006). Bu çalışmada, besinsel değeri yüksek ve sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan kocayemiş meyvesinin dondurma üretiminde kullanımını incelenmiştir. Özellikle meyvenin dondurmanın antioksidan aktivitesine ve C vitamini değerine etkisi irdelenmiştir. Ayrıca meyvenin yapısında bulunan ve tüketirken nispeten rahatsızlık veren çekirdekler püre haline getirilirken uzaklaştırılarak kocayemiş meyvesinin daha rahat tüketilebileceği bir ürün geliştirilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Kocayemiş meyveleri İstanbul'un Beykoz ilçesinden ve Kastamonu'nun Abana ilçesinden, çiğ süt Kırklareli bölgesi süt üreticilerinden temin edilmiştir. Dondurma üretiminde olgunlaşmış meyveler püre haline getirilerek 1:1 oranında şeker ile karıştırılmış ve üretime alınmıştır.

### Dondurma üretimi

Dondurma miksini; süt, stabilizatör (salep, %0.75), emülgatör (%0.25 mono- ve diğliserit+ %0.25 lesitin), şeker (%30), krema (%10-yağ içeriği % 35) oluşturmaktadır. Miks 85 °C'de 15 dk. pastörize edildikten sonra 22 °C'ye soğutulmuştur. Miksin bir kısmı kontrol grubu olarak ayrılmış diğer bölümü ise ikiye ayrılarak farklı oranlarda kocayemiş püresi ilave edilmiştir

(%15 ve %25). Dondurma miksi 510x10 rpm'de homojenize edildikten sonra +4°C'de 24 süresince olgunlaşmaya bırakılmıştır. Süre sonunda dondurma makinesinde (Delonghi, ICK 5000, Çin) kesikli üretim gerçekleştirilmiştir. Üretilen dondurmalar plastik dondurma kaplarına doldurulmuş ve -25 °C'de 1 gün dondurulduktan sonra analizler yapılmıştır. Çalışma iki tekerrür yapılmış olup analizler her numune için iki paraleldir.

### Fiziksel ve kimyasal analizler

Dondurma örneklerinin kurumadde ve kül tayini gravimetrik yöntemle, yağ tayini Gerber metodu, protein tayini Kjeldahl metodu ile yapılmıştır (Metin, 2008). Titrasyon asitliği (% laktik asit) tayini 0.25 N NaOH ve indikatör olarak fenolfitalein kullanarak titrasyon metodu ile, pH değerleri pH metre (Adwa AD1030, Macaristan) kullanılarak ölçülmüştür. Dondurma örneklerinin toplam şeker tayini Lane Eynon metoduna göre, askorbik asit tayini (C vit) spektrofotometrik yöntem ile (Cemeroğlu, 2007), antioksidan aktivite tayini DPPH yöntemiyle yapılmış ve % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (Aydemir, 2015). Absorpsiyon ölçümleri için Shimadzu marka UV-1800 spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

### Hacim artışı

Dondurmalar, hacim artış oranının belirlenmesi için dondurucudan çıkarılarak 50°C'de eritilmiş daha sonra mikslerin hacmi ölçülerek dondurmaların hacim artış oranları belirlenmiştir (Metin, 2008).

Hacim artışı (%) = [(dondurmanın hacmi) - (miks hacmi) / miks hacmi] x 100

### İlk damlama ve tamamen erime süresi ve erime miktarı tayini

50 g dondurma örneği, bir beher üzerinde bulunan 2 mm çapında gözenekleri olan paslanmaz çelik elek üzerine alınmış ve dondurmanın ilk damlama ve tamamen erime süresi kaydedilmiştir. Erime miktarı, darası alınmış beherin 15, 30, 45, 60, 75 dakikalarda tartılması ve dondurmanın başlangıç ağırlığından çıkarılması ile hesaplanmıştır. Analiz 25 °C'de gerçekleştirilmiştir (Cottrell vd., 1979).

Erime miktarı (%) = (erimiş dondurma ağırlığı / dondurma başlangıç ağırlığı) x 100

### Renk Tayini

Dondurmaların renk değerleri, Minolta kolorimetre (CR-300; Minolta Co., Osaka, Japonya) kullanılarak her bir numune grubu için üç paralel halinde yapılmıştır. Cihazın kalibrasyonundan sonra  $L^*$  (parlaklık; 100 = beyaz, 0 = siyah),  $a^*$  (kırmızılık; ±, kırmızı; -, yeşil) ve  $b^*$  (sarılık; ±, sarı; -, mavi) değerleri okunmuştur (Kavaz Yüksel vd., 2017).

### Su Aktivitesi Tayini

Kocayemiş meyveli dondurmada su aktivitesi tayini Novasina Labswift-aw cihazıyla yapılmıştır (Öner ve Şanlıdere Aלוğlu, 2018).

### Duyusal analizler

Dondurma örneklerinin duysal analizi, Dertli vd. (2016) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Dondurma örneklerinin duysal değerlendirmesi, Kırklareli Üniversitesi'nde 5 kadın ve 5 erkek olmak üzere 10 seçilmiş panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Her panelist analizden önce duysal analiz, örnekler ve metodu tanımak için eğitilmiştir. Sunum için, 150 mL'lik dondurma örnekleri cam kaplar ile servis edilmiştir. Duyusal analiz 25 °C'lik bir odada gerçekleştirilmiştir. Tüm kodlanmış dondurma örnekleri, 1'den 5'e kadar değişen ölçekte renk, görünüş, yapı, kıvam, tat, koku ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirilmiştir.

### İstatistiksel analiz

SPSS 21.0 yazılımı ve ANOVA uygulayarak iki tekrarda yapılan deneylerden elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkı belirlemek için "Duncan" çoklu karşılaştırma testleri uygulanmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

Kocayemiş meyveli dondurmalarda, meyve püresi oranı arttıkça meyveden gelen su miktarının artması, dondurmaların kurumadde ve kül miktarının azalmasına neden olmuş (Çizelge 1) fakat bu durum istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Meyveli dondurmalarda

ilave edilen meyve oranına, çeşidine ve ilave ediliş şekline göre dondurmaların fiziko-kimyasal özelliklerinde değişikliklerin görüldüğü farklı araştırmacıların çalışmalarında da görülmektedir (Belgeç Vardar, 2003; Aliyev, 2006; Badem, 2006; Çeliker, 2008). Kocayemiş meyvesi ilavesi dondurma örneklerinin asitliğini artırmış ve buna

paralel olarak pH değerlerinde azalmaya sebep olmuştur (Çizelge 1). Meydana gelen artış ve azalışlar istatistiksel olarak önemli düzeydedir ( $P < 0.05$ ). Kocayemiş püresinin pH değeri 3.93 olup dondurmanın asitliğindeki artış meyvenin özelliğinden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 1. Dondurma örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri  
Table 1. Physical and chemical properties of ice cream samples

Dondurma Örnekleri	Kurumadde %	Kül %	Asitlik %	pH	Yağ %	Protein %	Toplam Şeker %	Su aktivitesi
<i>Ice cream Samples</i>	<i>Dry matter</i> %	<i>Ash</i> %	<i>Acidity</i> %	<i>pH</i>	<i>Fat</i> %	<i>Protein</i> %	<i>Total Sugar</i> %	<i>Water activity</i>
Kontrol <i>Control</i>	40.82±0.74 <sup>a</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.43±0.02 <sup>c</sup>	6.18 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	5.710.471 <sup>a</sup>	28.96±0.81 <sup>a</sup>	0.964±0.004 <sup>a</sup>
%15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	39.04±2.15 <sup>a</sup>	0.37±0.04 <sup>a</sup>	0.80±0.02 <sup>b</sup>	6.14 <sup>b</sup>	5.97 <sup>a</sup>	5.55±0.786 <sup>a</sup>	24.13±4.72 <sup>a</sup>	0.965±0.05 <sup>a</sup>
%25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	37.91±1.50 <sup>a</sup>	0.36±0.01 <sup>a</sup>	1.04±0.00 <sup>a</sup>	5.40 <sup>c</sup>	5.84 <sup>a</sup>	5.03±0.692 <sup>a</sup>	24.92±2.37 <sup>a</sup>	0.964±0.04 <sup>a</sup>

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

Süt yağı, dondurmanın kalitesini etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Bu nedenle dondurma formülü hazırlanırken önce yağın miktarı dikkate alınır, daha sonra da karışıma girecek maddelerin oranı belirlenir. Yağ, dondurma lezzetine ve istenen tekstürel özelliklerine önemli katkıda bulunur (Yavaş Sarıoğlu, 2015). Kocayemiş meyveli dondurmalarda % yağ değerinin daha düşük olması meyve püresi ilavesi nedeni ile kurumaddede % yağ değerinin değişmesinden kaynaklanmıştır fakat değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Kocayemiş meyveli dondurmalarda belirlenen protein miktarları Çizelge 1'de sunulmuştur. Dondurmaya yapılan meyve ilavelerinin protein içeriğini artırıcı etkisi olmamaktadır. Kocayemiş meyveli dondurma örneklerinde de meyve püresi oranı arttıkça dondurmalarının % protein miktarları azalmıştır fakat bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ). Dondurmalarda şeker, kurumaddenin büyük bir kısmını oluşturur. Dondurmanın yapısı üzerinde de etkili olan şeker oranı, artırıldığı durumda miksin donma noktasını düşürücü etki gözlenmektedir. Dondurmada şeker ölçülü olarak kullanıldığı

zaman hoşça giden tatlılık verdiği halde, ölçüsüz olarak kullanıldığı zaman da fazla tatlılıktan ötürü bazı kişilerin hoşuna gitmeyen bir durum ortaya çıkmaktadır. Olgunlaşmış kocayemiş meyvelerinin şeker içeriği yüksektir, kurumaddenin %42-%52 arasında bu oran değişmektedir (Oliveira vd., 2011). Meyveli dondurmalarda görülen toplam şeker miktarındaki farklılık, formülasyonda kullanılan şeker miktarından ve meyveden kaynaklanmıştır (Çizelge 1). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kocayemiş dondurmalarının toplam şeker miktarı arasında önemli bir farklılık görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Kocayemiş meyvesi ilavesinin dondurmanın su aktivitesi değerine etkisini gözlemek amacı ile su aktivitesi tayini yapılmıştır (Çizelge 1). Analiz sonuçlarına göre kocayemiş püresinin ilavesi dondurmaların su aktivitesi değerlerini önemli düzeyde etkilememiştir ( $P > 0.05$ ).

#### Hacim Artışı Tayini, İlk Damlama Süresi ve Erime Miktarı

Dondurmaların işlenmesi sırasında yapılarına aldıkları hava ile hacimleri artmakta ve bu hacim artışı sayesinde hafif bir tekstür ortaya

çıkılmaktadır. İyi kalitede bir dondurma üretimi için hacim artışı ve hava kabarcıklarının boyutu dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir (Badem, 2006). Hacim artışı, dondurma miksinde bulunan maddelerin bileşimi, dondurma makinesinin özelliğı (hava veren-kompresör sistem), üretim tekniğı vb. özelliklere bağılı olarak değışir (Aliyev, 2006). Kocayemiş meyveli dondurmanın hacim artışı değıerleri incelendiğinde; mikse ilave edilen kocayemiş meyve miktarının arttırılması örneklerin hacimlerinde artmaya neden olmuştur ve meydana gelen bu farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Bu durum meyve ilavesinin hacim artışına pozitif yönde katkısı olduğunu ortaya koymaktadır (Çizelge 2). Benzer şekilde Kavaz Yüksel vd.

(2017) farklı oranlarda yeşil çay tozu ilave ederek ürettikleri dondurmalarda yeşil çay tozu oranı arttıkça, hacim artışı değıerinin artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Dondurma örneklerinde kocayemiş püresi ilave oranı arttıkça ilk damlama ve tamamen erime süresi kısalmıştır ( $P < 0.05$ ). Meyve püresi ilavesi dondurmanın gevşek bir dokuya sahip olmasına neden olmuş ve bu durum sonucunda da erime süresi kısalmıştır. Antepüzümü (2005), bal ve glikoz şurubu kullanarak ürettikleri maraş tipi dondurmalarda kurumadde miktarlarının erime süresine etki ettiğini ve kurumaddece zengin örneklerin erimeye karşı daha dirençli olduğunu belirtmiştir.

Çizelge 2. Dondurma örneklerinin hacim artışı, ilk damlama ve tamamen erime süreleri

Table 2. Overrun, first dripping, and complete melting times of ice cream samples

Dondurma Örnekleri <i>Ice cream Samples</i>	Hacim Artışı <i>Overrun</i>	İlk Damlama Süresi <i>First Dripping Time</i>	Tamamen Erime Süresi <i>Complete Melting Time</i>
Kontrol <i>Control</i>	14.45±2.32 <sup>b</sup>	18.00±3.36 <sup>a</sup>	67.00±4.96 <sup>a</sup>
%15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	16.36±0.62 <sup>ab</sup>	11.75±2.62 <sup>b</sup>	63.00±7.52 <sup>b</sup>
%25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	20.17±4.37 <sup>a</sup>	6.50±2.64 <sup>c</sup>	59.00±9.89 <sup>c</sup>

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

Erime miktarı dondurmaların tüketilirken gösterdiği dayanıklılık ölçütlerinden biridir (Cottrell vd., 1979). Dondurmaların 15., 30., 45., ve 60. dakikalardaki % erime miktarı oranları

Çizelge 3'te verilmiştir. Kocayemiş dondurmalarında erime miktarları şeker ve meyve konsantrasyonundaki artışa paralel olarak artmıştır ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 3. Dondurma örneklerinin erime oranları (%)

Table 3. Melting rates of ice cream samples (%)

Dondurma Örnekleri <i>Ice cream Samples</i>	15.dk <i>15.min</i>	30.dk <i>30.min</i>	45.dk <i>45.min</i>	60.dk <i>60.min</i>
Kontrol <i>Control</i>	12.04±3.07 <sup>b</sup>	50.90±6.46 <sup>b</sup>	88.60±3.73 <sup>ab</sup>	95.82±1.96 <sup>a</sup>
%15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	15.66±7.30 <sup>b</sup>	53.01±12.04 <sup>b</sup>	82.45±8.35 <sup>b</sup>	96.38±0.80 <sup>a</sup>
%25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	28.68±16.59 <sup>a</sup>	64.96±15.68 <sup>a</sup>	91.38±3.05 <sup>a</sup>	-

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

- dondurma 60 dk. süresi tamamlanmadan erimiştir.

- the ice cream melted before the time was completed.

**C Vitamini (Askorbik Asit) Tayini**

Kocayemiş meyvesi yüksek miktarda C vitamini içermektedir. Üretildiği yere, meyvenin tipine bağlı olarak C vitamini oranı değişiklik göstermektedir (Ruiz-Rodríguez, vb., 2011). Yapılan bir çalışmada Giresun merkez ilçesinde yetiştirilen bir kocayemiş tipinin 100 gramında

150-280 mg C vitamini olduğu bildirilmiştir (Karadeniz ve Şişman, 2004). Çalışmada kullanılan kocayemiş meyvelerinin C vitamini değeri 252 mg/100g olarak bulunmuştur. Kocayemiş meyveli dondurmalarda yapılan ölçümlerden elde edilen C vitamini değerleri Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Dondurma örneklerinin C Vitamini, DPPH % inhibisyon oranı ve miktarı

Table 4. Vitamin C, DPPH % inhibition ratio and quantity

Dondurma Örnekleri	C Vitamini Miktarı (mg/g) Vitamin C Ratio (mg/g)	DPPH % İnhibisyon Oranı DPPH Inhibition Ratio %	mikromol troloks/g örnek micromole trolox/g sample
Kontrol <i>Control</i>	35±0.05 <sup>c</sup>	25.22±4.00 <sup>c</sup>	0.8623 <sup>c</sup>
%15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	70±1.09 <sup>b</sup>	62.30±8.47 <sup>b</sup>	2.6151 <sup>b</sup>
% 25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	84±0.67 <sup>a</sup>	74.53±3.64 <sup>a</sup>	3.3322 <sup>a</sup>
Kocayemiş Meyvesi <i>Strawberry Tree Fruit</i>	252±0.05	78.84±0.93	3.4193

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

Çizelgeden de görüldüğü üzere kocayemiş meyve oranı arttıkça örneklerin C vitamini değerleri artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Balcıoğlu (2013) askorbik asit ve çilek ilavesinin probiyotik fermente süt içeceğinin bazı özellikleri üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında çilekli fermente süt içeceklerinin askorbik asit değerlerinin 12-59 mg/100mL arasında olduğu saptamıştır.

Çakmak vd. 2016 kocayemiş meyvesinin kuruma kinetiğini incelediği araştırmalarında kocayemiş meyvesinin C vitamini, fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivite değerlerinin, kuruma işlemiyle azaldığını saptamışlardır. Genel olarak, askorbik asitteki en büyük kayıpların ısı işlemler sırasında meydana geldiği bilinse de, dondurma işlemi sırasında da askorbik asit içeriğinde kayıplar olmaktadır (Saldamlı, 1998). Dondurma işlemi sonucunda kocayemiş meyveli dondurmalarda askorbik asit miktarında kayıp yaşanmıştır. Askorbik asidin düşük sıcaklıkta bozunmasının nedeni, oksijenin çözünürlüğünün sıcaklıkla ters orantılı olarak artması ve askorbik asit oksidasyonunu arttırmasıdır. Bilindiği gibi askorbik asit ısı, ışık ve oksijene oldukça duyarlı

bir bileşiktir. Belirtildiği gibi kocayemiş özellikle C vitamini açısından önemli bir kaynaktır. Kocayemiş meyvesinin C vitamini içeriği portakaldan 3.32 kat, çilekten 3.08 kat ve kividan 1.80 kat daha yüksek değerlere sahiptir (Şeker vd., 2004). Yapılan farklı çalışmalarda kocayemiş meyvesinin 93.1-280 mg/100 g düzeyinde C vitamini içerdiği belirtilmektedir. Bu değer çoğu tropik meyveden daha yüksektir (Ötles ve Şentürk, 2015). Dağ çileğinin C vitamini, fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivite değerleri incelendiğinde, kuruma işlemiyle bu değerlerde azalma olduğu saptanmıştır.

**Antioksidan Tayini**

Fenolik bileşikler veya polifenoller, benzen halkasında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren organik bileşiklerdir. Bitkilerde yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler, antioksidan aktivite dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahiptirler. Antioksidatif etkiye sahip olmaları, fenolik bileşiklerin beslenme açısından önemini ortaya koymaktadır (Sarıçam, 2014). Kocayemiş meyveleri ile ilgili yapılan bir araştırmada antioksidan aktivite ile olgunlaşma aşamaları

arasında bir ilişki olduğu, ham ve yarı olgun meyvelerde EC50 değerleri düşük olduğu belirlenmiştir (Ötleş ve Şentürk, 2015). Bu nedenle bu çalışmada dondurma üretiminde olgunlaşmış meyveler kullanılmıştır. Çizelge 4'te görüldüğü gibi kocayemiş meyveli dondurmalarda meyve katım oranı arttıkça % inhibisyon değerleri de artmış ve bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Zenginbal ve Gündoğdu (2016)'nın yaptıkları araştırmada kocayemiş meyvesi toplam antioksidan kapasitesi bakımından (163 mmol/g TEC) 28 meyve türü arasında trabzon hurması, böğürtlen ve yaban mersini meyvelerinden sonra dördüncü sırada yer almıştır. Görüldüğü gibi kocayemiş meyveleri iyi bir antioksidan kaynağıdır çünkü yüksek flavonoid içeriğine sahiptirler (32.37 mg/100 g yenilebilir kısım) ve bu antioksidan bileşikler grubunda en yaygın olan proantosiyanidinler toplam flavonoidin % 80'inden fazlasını oluştururlar. Bu meyvede bulunan diğer antioksidanlar ellagik asit ve onun diglukozit türevi, C vitamini, E vitamini ve karotenoidlerdir (Pallauf vd., 2008). Ayrıca kocayemiş meyveleri ve yapraklarının antioksidan

özellikleri irdelendiğine antioksidan aktivitenin yapraklarda meyveden daha yüksek olduğu ifade edilmiş; EC50 değeri ve DPPH aktivitesi sırasıyla meyve ekstraktında  $2.894 \pm 0.049$  ve  $0.790 \pm 0.016$  mg/mL olarak saptanmıştır (Ötleş ve Şentürk, 2015).

#### ***L\**, *a\**, *b\** Renk Ölçüm Sonuçları**

Dondurmaların dış kesitinden yapılan ölçümlerden elde edilen *L\**, *a\**, *b\** değerleri Çizelge 5'te verilmiştir. Kontrol numunelerinin *L\** değerleri daha yüksek çıkmıştır. Kocayemiş meyve oranı arttıkça deneme örneklerinin *L\** değerleri azalma göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Meyvenin rengi dikkate alındığında *L\** değerinin azalması normal karşılanabilir. Dondurmaların *a\** değerlerinin negatif olması nedeni ile yeşillik daha yakın bir renk gösterdiği anlaşılmaktadır. Kocayemiş ilavesi *a\** değerinin negatif değerinin azalmasına neden olmuştur ( $P < 0.05$ ). Kocayemiş meyveli dondurmalarda meyve ilave oranına paralel olarak sarılığı ifade eden *b\** değerleri artış göstermiştir ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 5. Dondurma örneklerinin *L\**, *a\**, *b\** değerleri  
Table 5. *L\**, *a\**, *b\** values of ice cream samples

Dondurma Örnekleri <i>Ice cream Samples</i>	<i>L*</i> Değeri <i>L* Value</i>	<i>a*</i> Değeri <i>a* Value</i>	<i>b*</i> Değeri <i>b* Value</i>
Kontrol <i>Control</i>	81.69±0.84 <sup>a</sup>	-1.91±0.13 <sup>ab</sup>	10.38±0.70 <sup>c</sup>
% 15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	75.10±0.41 <sup>b</sup>	-1.59±0.03 <sup>b</sup>	15.02±0.10 <sup>b</sup>
%25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	73.4±0.02 <sup>b</sup>	-0.98±0.22 <sup>a</sup>	22.23±0.26 <sup>a</sup>
Meyve Püresi <i>Fruit Puree</i>	48.42±0.14	6.56±0.32	34.69±0.34

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

#### **Duyusal Analiz Sonuçları**

Dondurmaların duyu özellikleri renk ve görünüş, yapı ve kıvam, tat ve koku olmak üzere üç farklı kritere göre değerlendirilmiş ve elde edilen duyu puanları Çizelge 6'da verilmiştir.

Farklı oranlarda kocayemiş meyvesi kullanımının, dondurmaların renk ve görünüş puanları üzerine

etkileri önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En iyi renk ve görünüş puanını 5 ile kontrol örneği alırken bunu %15 kocayemiş meyve ilave edilerek üretilen örnekler izlemiştir. %25 kocayemiş meyvesi ilave edilerek üretilen örnekler ise en düşük puanlara sahip olmuşlardır (Çizelge 6). Kocayemiş meyve püresi miktarındaki artış ürünün renginde koyulaşmaya sebep olduğundan dondurmaların



renk ve görünüş puanları azalmıştır. Dondurma örnekleri arasında en yüksek yapı ve kıvam; tat ve koku puanını kontrol örneği, en düşük puanı ise %25 kocayemiş meyve ilaveli dondurma örneği almıştır. Kullanılan kocayemiş meyve püresi oranının artmasıyla birlikte dondurmaların yapı ve kıvam; tat ve koku puanlarında azalma olmuştur.

Dondurmaların aldığı toplam puanlar genel olarak değerlendirildiğinde; %15 kocayemiş meyve püresi ilavesinin kontrol dondurmasına yakın bir puan alması nedeni ile kabul edilebilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 6. Dondurmaların duysal analiz puanları  
Table 6. Sensory analysis scores of ice cream samples

Dondurma Örnekleri <i>Ice cream Samples</i>	Renk ve Görünüş <i>Color and Appearance</i>	Yapı ve Kıvam <i>Structure and Consistency</i>	Tat ve Koku <i>Taste and Odor</i>	Genel Beğeni <i>General Acceptance</i>
Kontrol <i>Control</i>	5.00±0.0 <sup>a</sup>	4.93±0.25 <sup>a</sup>	4.87±0.34 <sup>a</sup>	4.93±0.17 <sup>a</sup>
%15 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 15%</i>	4.81±0.40 <sup>ab</sup>	4.56±0.51 <sup>b</sup>	4.50±0.51 <sup>b</sup>	4.62±0.64 <sup>ab</sup>
%25 Meyveli Dondurma <i>Fruity Ice cream 25%</i>	4.68±0.47 <sup>b</sup>	4.37±0.71 <sup>c</sup>	4.31±0.70 <sup>c</sup>	4.45±0.13 <sup>b</sup>

\*Farklı harflerle gösterilen örnek ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır ( $P < 0.05$ ).

\*Different small letter depict the statistical difference between means for samples averages ( $P < 0.05$ ).

## SONUÇ

Bu çalışmada çocuk ve gençlerin büyük bir zevkle tükettiği, besleyici değeri yüksek bir süt ürünü olan dondurmaya özellikle C vitamini ve antioksidan değeri yüksek bir meyve eklenerek, fonksiyonel özelliğinin artırılması hedeflenmiştir. Kocayemiş meyvesinin kullanılması dondurmaların kurumadde, kül, protein, yağ, şeker, su aktivitesi üzerine önemli etki göstermezken; ilk damlama ve tamamen erime süresi, hacim artışı, titrasyon asitliği, pH, renk, C vitamini ve antioksidan değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Üretilen %15 kocayemişli dondurmalar genel olarak duysal açıdan beğenilmiştir. Özellikle C vitamini ve antioksidan değeri çok yüksek olan fakat küçük çekirdekli yapısı nedeni ile tüketimi nispeten zor olan kocayemiş meyvesinin dondurmaya eklenerek tüketiminin daha kolay olacağı ve yaygınlaşabileceği düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma TUBİTAK BİDEB 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

Aliyev, C. (2006). Kefir ve yaban mersininin dondurmanın fizikokimyasal, duysal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, Türkiye, 67s.

Anonim (2005). Dondurma Tebliği (Tebliğ No: 2004/45). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. 13 Ocak 2005 tarih ve 25699 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

Antepüzümü, F. (2005). Bal ve glikoz şurubu kullanımının karamanmaraş tipi dondurmaların kalitesi üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 50s.

Aydemir, K. (2015). Sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) ekstraktının dondurma üretiminde kullanılması. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Samsun, Türkiye, 79s.

Badem, A. (2006). Dondurma üretiminde kullanılan karragenan, ksantan ve keçiyoynuzlu zamkların dondurmaların kalite üzerine etkisi.

- Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 73s.
- Balcıoğlu, H. (2013). Askorbik asit ve çilek ilavesinin probiyotik fermente süt içeceğinin bazı özellikleri üzerine etkileri. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 90s.
- Belgeç Vardar, N. (2003). Probiyotik bakterileri kullanılarak üretilen çilekli dondurmaların bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Türkiye, 105s.
- Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Yayınları No:34 Ankara, Türkiye, 535s, ISBN:978-975-98578-3-7.
- Cottrell, J.I.L., Pass, G., Philips, G.O. (1979). Assessment of polysaccharides as ice cream stabilizers. *J Sci Food Agric*, 30: 1085-1089, doi: 10.1002/jsfa.2740301111.
- Çakmak, H., Bozdoğan, N., Turkut, G.M., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. (2016). Dağ çileğinin (*Arbutus unedo* L.) kuruma kinetiğinin incelenmesi ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Gıda* 41 (4): 227-234, doi: 10.15237/gida.GD16011.
- Çeliker, M.B. (2008). Alıç meyvesinin pekmeze işlenerek dondurma üretimine ilavesiyle dondurmanın kalite kriterleri üzerine etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Afyon, Türkiye, 62s.
- Dertli, E., Toker, O.S., Durak, M.Z., Yılmaz, M. T., Tatlısu, N.B., Sagdic, O., Cankurt, H. (2016): Development of a fermented ice-cream as influenced by in situ exopolysaccharide production: Rheological, molecular, microstructural and sensory characterization. *Carbohydr Polym*, 136, 427-440, doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.047.
- El Haouari, M., Mekhfi, H. (2017). Anti-platelet aggregation effects of extracts from *Arbutus unedo* leaves. *Plant Sci Today*, 4(2): 68-74, doi: 10.14719/pst.2017.4.2.298.
- Karadeniz, T., Şişman, T. (2004). Giresun'da yetiştirilen bir kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) tipinin bitkisel özellikleri. *Alatarım*, 3(1):43-45, ISSN: 1304-2653.
- Kavaz Yüksel, A., Yüksel, M., Şat, İ.G. (2017). Determination of certain physicochemical characteristics and sensory properties of green tea powder (matcha) added ice creams and detection of their organic acid and mineral contents. *Gıda*, 42(2): 116-126, doi: 10.15237/gida.GD16072.
- Metin, M. (2008). *Süt ve Mameülleri Analiz Yöntemleri*. Ege Üniversitesi, Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları No:24, İzmir, Türkiye, 439s, ISBN:975-97841-0-6.
- Naceiri Mrabti, H., Marmouzi, I., Sayah, K., Chemlal, L., El Ouadi, Y., Elmsellem, H., Cherrah, Y., Faouzi, My A. (2017). *Arbutus unedo* L. aqueous extract is associated with *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity. *J Mater Environ Sci*, 8(1), 217-224, ISSN : 2028-2508.
- Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J.A., Baptista, P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem Toxicol*, 47 1507-1511, doi:10.1016/j.fct.2009.03.042.
- Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., Pereira, J.A. (2011). Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Res Int*, 44, 1401-1407, doi:10.1016/j.foodres.2011.02.009.
- Öner, Z., Şanlıdere Aloğlu, H. (ed) (2018). *Süt ve Süt Ürünleri Analiz Yöntemleri*. Sidaş Medya, İzmir, Türkiye, 563s, ISBN:978-605-5267-44-5.
- Ötleş, S., Şentürk A. (2015). Kocayemiş (dağ çileği) bileşimini ve insan sağlığına etkisi. *Dünya Gıda*.
- Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., del Castillo, M.D., Cano, M.P., de Pascual-Teresa, S. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J Food Compos Anal*, 21, 273-281, doi:10.1016/j.jfca.2007.11.006.
- Pekdemir, M. (2010). Espiye ve Bulancak ilçelerinde (Giresun) yetişen kocayemişlerin

(*Arbutus unedo* L.) fenolojik ve pomolojik özellikleri. Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ordu, Türkiye, 67s.

Ruiz-Rodríguez, B.M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M.C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., Pardo-de-Santayana, M., Molina, M., Tardío, J. (2011). Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Res Int*, 44, 1244-1253, doi: 10.1016/j.foodres.2010.11.015.

Sakaldaş, A. (2012). Çanakkale doğal florasında bulunan kocayemiş (*Arbutus unedo* L.)' in pomolojik fenolojik ve biyokimyasal özelliklerinin aylık değişimlerinin incelenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye, 56s.

Saldamlı, İ. (ed) (1998). *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 527s, ISBN:975-8339-00-1.

Sarıçam, A. (2014). Üzüm çekirdeği ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Türkiye, 96s.

Şeker, M., Yücel, Z., Nurdan, E. (2004). Çanakkale yöresi doğal florasında bulunan kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) populasyonunun morfolojik ve pomolojik özelliklerin incelenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10(4), 422-427.

Ülgen, C. (2013). Certain chemical, physical and microbiological properties of the freeze-dried (lyophilized) apple of cain/cane apple (*Arbutus unedo*) fruit. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Tezi, Bolu, Türkiye, 67s.

Yavaş Sarıoğlu, A. (2015). Düşük kalorili dondurma üretiminde doğal tatlandırıcı olarak stevya ekstratı kullanımının ürünün kalite kriterleri üzerine etkisi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 61s.

Zenginbal, H., Gündoğdu, M. (2016). Düzce ve Zonguldak illerinde doğal olarak yetişen kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) genotiplerinin fizikokimyasal karakterizasyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 31, 332-336, doi: 10.7161/omuanajas.269985.



## ERİK VE ELMA SUYUNUN TAVUK ETİ MARİNASYONUNDA KULLANILMASI

**Aydın Erge\*, Kevser Cin, Ezgi Şeker**

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / *Received*: 07.06.2018; Kabul / *Accepted*: 19.11.2018; Online baskı / *Published online*: 06.12.2018

Erge, A., Cin, K., Şeker, E. (2018). Erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanılması. *GIDA* (2018) 43 (6): 1040-1052 doi: 10.15237/gida.GD18063

*Erge, A., Cin, K., Şeker, E. (2018). The use of plum and apple juice at chicken meat marination. GIDA (2018) 43 (6): 1040-1052 doi: 10.15237/gida.GD18063*

### ÖZ

Bu çalışmada kanatlı sektöründe bazı alternatif doğal marinasyon uygulamaları ile ürün çeşitliliğini artırmak ve katma değeri yüksek ürünlerin üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla doğal marinat olarak 10°Bx ve 14°Bx konsantrasyonlarında erik ve elma suyu konsantreleri kullanılmıştır. Diğer bir marinat olarak ise konvansiyonel bir katkı maddesi olan %1'lik sodyum tripolifosfat (STPP) kullanılmıştır. Marine edilen tavuk etleri duyuşal, fiziksel, teknolojik ve tekstürel kalite özellikleri bakımından değerlendirilmiştir. En yüksek marinat absorpsiyonunun %7.52 ile STPP uygulamasına; en düşük çözünme kaybının %2.77 ile 14°Bx elma suyu uygulamasına; en düşük pişme kaybının %25.28 ile 10°Bx elma suyu uygulamasına; en yüksek son ürün veriminin %76.65 ile STPP uygulamasına ve en yüksek duyuşal analiz genel beğeni puanının ise 14°Bx elma suyu uygulamasına ait olduğu görülmüştür. Sonuçta araştırma bulguları, elma suyunun piliç göğüs eti marinasyonunda ürün çeşitliliğini artırabileceğini ve doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Tavuk eti, marinasyon, elma suyu, erik suyu, sodyum tripolifosfat.

### THE USE OF PLUM AND APPLE JUICE AT CHICKEN MEAT MARINATION

#### ABSTRACT

At this research, it was aimed to increase product variety and to develop some added value products in poultry industry using some alternative natural marination process. For this purpose, chicken breast fillets were marinated with plum juice concentrate and apple juice concentrate at 10°Bx and 14°Bx concentrations as a natural marinades. Other marinade was 1% sodium tripolyphosphate (STPP) as a conventional additive. Marinated chicken breast fillets were evaluated by their sensory, physical, technological and textural quality parameters. STPP marination had the highest marinate absorption (7.52%), 14°Bx apple marination had lowest thaw loss (2.77%), 10°Bx apple marination had lowest cook loss (25.28%), STPP marination had highest product yield (76.65%), and 14°Bx apple marination had highest general choice value as a parameter of sensory analysis. The results showed us that the marination of chicken breast fillet with apple juice could be used as a natural additive and could increase the product variety.

**Keywords:** Chicken meat, marination, apple juice, plum juice, sodium tripolyphosphate.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉ aydin.erge@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000/5267

☎ (+90) 374 253 4346

## GİRİŞ

Kanatlı eti sağlıklı ve ulaşılabilir bir protein kaynağı olarak gösterilmektedir. Kanatlı eti tüketimi dünyada domuz etinden sonra global et tüketiminin yaklaşık %35'ine karşılık gelmektedir. Gelecek on yıl içerisinde toplam et tüketiminde meydana gelecek artışın yarısının kanatlı eti tarafından karşılanacağı, söz konusu tüketimin büyük bölümünün ise gelişmekte olan ülkelerde olacağı bildirilmektedir (Neeteson vd., 2017). Ülkemizde, piliç eti üretimindeki artış oranı, tüketimde görülmemektedir. Tüketimin artması için ürün çeşitliliğini artırarak tüketicilerin farklı taleplerine karşılık verilmesi, katma değeri yüksek yeni ürünlerin ve metotların geliştirilmesi gerektiği bildirilmektedir (BESD-BİR, 2013). Et ürünlerinde marinasyon işlemi bu metotlardan birisi olarak gösterilmektedir (Ergezer, 2005).

Marinasyon; tuz, fosfat, asit, gevreklik vericiler, şeker, baharat ve aroma vericiler gibi katkı maddelerini içeren bir solüsyonun et ürünlerine uygulanmasıdır (Suderman, 1993). Marinatlar etin verimini, su tutma özelliğini ve tekstürel özelliğini artırmak (Young vd., 1992); etin aromasını zenginleştirmek; kas liflerine gevreklik kazandırmak ve ürünü uzun süre muhafaza edebilmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu amaçla daldırma, masaj, tamburlama ve enjeksiyon gibi çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Marinasyon işlemi sonucunda tekstürel ve lezzet bakımından kendine has özellikte ürün elde edilmesi amaçlanmaktadır. Marinatların fonksiyonelliği, tamamen içeriğindeki katkılara göre değişmektedir. Baharat ve aroma ekstraktları, ürün aroma ve lezzetinde çeşitlilik kazandırmak ve ete uygun hoş bir lezzet dengesi kurmak amacıyla marinasyonlarda kullanılmaktadır (Parks vd., 2000).

En yoğun kullanılan katkılar tuz ve fosfatlardır. Bu katkılar, proteinleri bağlayarak etin pH değerini, iyonik yükünü, nem oranını ve gevrekliğini artırmakta; dolayısıyla etin yapısını geliştirmektedir (Young vd., 1992; Suderman, 1993). Alkali fosfatlar etin rengini, pH'sını, stabilitesini artırarak ve oksidatif acılaşmayı ve sızıntı kaybını azaltarak etin gevrekliğini, sululuğunu ve lezzetini artırmaktadırlar (Lawrence

vd., 2003; 2004). Kanatlı et ürünlerinin üzerinde polifosfatlar önemli bir etkiye sahiptir. Yapılan araştırmalarda polifosfatların etin renk ve lezzetini geliştirdikleri, pişme kaybını azalttığı, gevrekliği artırdığı, su tutma kapasitesini ve emülsiyon özelliklerini geliştirdikleri, kırmızılığı artırdığı ve TBA değerini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Lemos vd., 1999).

Diğer taraftan son yıllarda tüketicilerde satın aldıkları et ürünlerinde doğal katkıların kullanılması, lezzet üstünlüğü, besleyicilik, sağlıklı olması ve tazelik gibi beklentiler ön plana çıkmaktadır. Çoğu tüketici doğal katkı maddeleri ile hazırlanmış et ürünlerini, alkali fosfatlar gibi kimyasallar içeren konvansiyonel katkılara göre daha güvenilir bulmaktadır. Dolayısıyla gelecekte yeni ürün geliştirilmesi sürecinde doğal katkı maddelerin kullanılması gerektiği düşünülmektedir (Jarvis vd., 2012).

Meyve ekstrakt ve posalarının et ürünlerinde doğal antioksidan olarak kullanılabilirdiği bilinmektedir. Meyvelerin yağda çözünen vitaminler, karotenoidler, tokoferoller, flavanoidler, ve suda çözünen C vitamini gibi antioksidan maddeler içerdiği bilinmektedir (Banerjee vd., 2012). Meyve ürünlerinde yüksek oranda bulunan biyoaktif bileşenler ve diyet lifi aynı zamanda antimikrobiyel, renklendirici, aroma verici ve kıvam artırıcı olarak kullanılabilir (Abd El-Khalek ve Zahran, 2013).

Bu araştırmada doğal marinat olarak erik ve elma suyu kullanılmıştır. Erik ürünlerinde su tutma özelliğini artıran pektin ve sorbitol, aroma özelliğini geliştiren malik asit gibi fonksiyonel bileşiklerin bulunduğu; ayrıca antioksidan, antimikrobiyel, yağ ikame edici ve aroma verici fonksiyonları olduğu belirtilmektedir (Jarvis vd., 2015). Zheng vd. (1999)'nin tavuk göğüs etinde yaptıkları bir çalışmada marinasyon amacıyla kullanılan pektinin su tutma ve marinat tutma kapasitesinin STPP ile aynı olduğu bildirilmiştir. Eriğin antioksidatif etkisi, çeşitli et ürünlerinde yapılan marinasyon çalışmalarında görülmüştür (Lee ve Ahn, 2005; Nunez de Gonzalez vd., 2008a,b; Yıldız-Turp ve Serdaroglu, 2010). Diğer taraftan elmanın toplam fenolik

bileşik, karbonhidrat, pektin, mineral maddeler ve diyet lif bakımından zengin bir kaynak olduğu; suda çözünür ve çözünmeyen bileşik oranı bakımından dengeli bir dağılım içerdiği bildirilmektedir (Gorinstein vd., 2001). Elma suyu endüstrisi yan ürünü olan elma posasının kolay ulaşılır, güvenilir ve herhangi bir ayrıştırma veya saflaştırma işlemi gerektirmeksizin gıda zenginleştirme amacıyla veya et ürünlerinde diyet lif kaynağı olarak kullanılabilirdiği belirtilmektedir (Figuerola vd., 2005; Lantto vd., 2006; Verma vd., 2010; Huda vd., 2014). Nitekim Peschel vd. (2006)'nin yaptıkları çalışmada 12 adet meyve ve sebze çeşidine ait atıklar; ekstraksiyon verimi, toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri bakımından değerlendirilmiştir. Sonuçta en ekonomik, en yüksek aktivite gösteren ve en yüksek fenolik bileşik içeren ürünün elma olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada Parks vd. (2000) tavuk göğüs etlerini %0, %0.4, %0.8 ve %1.2 oranlarındaki sıvı elma aromasıyla marine etmişlerdir. Sonuçta elma aroma oranının artışıyla marinat absorpsiyonunun arttığını, diğer taraftan duyuusal analiz değerlendirmesi

bakımından ise kabul edilebilir maksimum elma oranının %0.4 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla tavuk göğüs eti marinasyonlarında farklı konsantrasyonlarda (10°Bx ve 14°Bx) erik ve elma suyu, %1'lik STPP ve kontrol örneği olarak saf su kullanılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmada Beypiliç A.Ş. BOLU kesimhanesinde üretilip +4°C'ye soğutulmuş tavuk göğüs etleri kullanılmıştır. Tavuk göğüs etleri soğuk zincir bozulmadan Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına getirilmiştir. Marinasyondan önce etler +4°C'lik buzdolabından çıkartılarak 1.5 cm kalınlıkta ve 100-150 g olacak şekilde hazırlanmıştır. Marinasyonda kullanılan erik ve elma suyu konsantreleri TARGİD, Mersin firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan marinat çözeltileri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge1. Marinat Çözeltileri  
Table 1. Marinade Solutions

Uygulama(Run)	Marinat (Marinade)
1	% 1.25 tuz içeren 10° briks elma suyu (10° brix apple juice containing 1.25% salt)
2	% 1.25 tuz içeren 14° briks elma suyu (14° brix apple juice containing 1.25% salt)
3	% 1.25 tuz içeren 10° briks erik suyu (10° brix plum juice containing 1.25% salt)
4	% 1.25 tuz içeren 14° briks erik suyu (14° brix plum juice containing 1.25% salt)
5	% 1.25 tuz içeren. %1'lik sodyumtripolifosfat (STPP) çözeltisi (1% STPP solution containing 1.25% salt)
6	Kontrol Çözeltisi - Saf su (Control Solution - Distilled water)

### Yöntem

#### Marinasyon ve Pişirme

Tavuk göğüs etleri kilitli buzdolabı poşetlerine konulmuş ve üzerlerine 1:1 (et:marinat) olacak şekilde önceden hazırlanmış olan marinasyon

çözeltileri ilave edilmiştir. Benzer işlem kontrol örneği olarak kullanılan örneklerde saf su ile yapılmıştır. Örnekler 36 saat süre ile +4°C'lik dolapta daldırma yöntemiyle marinasyona tabi tutulmuştur (Bor, 2011).

Marinasyon işlemi tamamlanan göğüs etleri oda sıcaklığında 10 dakika süzölmüş ve tartılmıştır. Daha sonra kilitli poşetler içerisinde dondurularak yaklaşık 4 gün -18°C'de bekletilmiştir. Dondurma işlemi, marinasyonların tavuk eti çözünme kaybı üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır. Daha sonra tavuk etleri +4°C'de 24 saat süreyle çözöndürölmüş ve bu örneklerde ağırlık, pH ve renk ölçümleri yapılmıştır. Çözönmüş olan örnekler 175°C'de 40 dakika önceden ısıtılmış konveksiyonlu fırında pişirme kağıdı sarılı tepsilere konularak pişirilmiştir. Bu işlem sırasında et iç sıcaklığı 75°C'ye ulaşması sağlanmıştır. Pişme sonrası örnekler 10 dakika oda sıcaklığında tutulduktan sonra ağırlık ölçümleri, duyuusal analiz, renk ve pH ölçümleri yapılmıştır. Tekstür analizi için ayrılan pişmiş örnekler kilitli buzdolabı poşetlerine koyulmuş ve 24 saat +4°C'de tutulmuştur.

### Analizler

#### pH analizi

Marinasyon işlemi öncesi, çözünme işlemi sonrası ve pişirme işlemi sonrası olmak üzere 3 kez pH ölçümü yapılmıştır. Her ölçümde 10 g örneğe 100 mL saf su ilave edilmiş, örnekler homojenizatörde (Ika, Almanya) bir dakika homojenize edildikten sonra pH metre (Schott Instruments, Lab 860, İngiltere) kullanılarak 4.00 ve 7.00'lük tampon çözeltileri ile kalibre edildikten sonra ölçümleri yapılmıştır (Gökalp vd., 2010).

#### Marinat Absorbsiyonu

Marine edilen örneklerin marinat absorpsiyonu ağırlık esasına göre aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Jarvis vd., 2012).

$$\text{Marinat absorpsiyonu} = 100 * (w_{tm} - w_{ti}) / w_{ti} \quad (1)$$

$w_{tm}$ : Marinasyon sonrası ağırlık  
 $w_{ti}$ : Marinasyon öncesi ağırlık

#### Çözünme Kaybı

Marine edilip dondurulduktan sonra çözöndürölen örneklerin çözünme kaybı ağırlık esasına göre, aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Jarvis vd., 2012).

$$\text{Çözünme kaybı} = 100 * (w_{tm} - w_{tc}) / w_{tm} \quad (2)$$

$w_{tm}$ : Marinasyon sonrası ağırlık  
 $w_{tc}$ : Çözünme sonrası ağırlık

#### Pişme Kaybı

Çözöndürölmüş örnekler pişirildikten sonra pişme kaybı ağırlık esasına göre aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Jarvis vd., 2012).

$$\text{Pişme kaybı} = [(w_{tc} - w_{tp}) / w_{tc}] * 100 \quad (3)$$

$w_{tp}$ : Pişmiş ağırlık  
 $w_{tc}$ : Çözünme sonrası ağırlık

#### Son Ürün Verimi

Pişirilmiş örneklerin son ürün verimi ağırlık esasına göre Young vd. (1999) tarafından belirlenen yöntemle göre belirlenmiştir.

$$\text{Verim} = 100 * (w_{tp} / w_{ti}) \quad (4)$$

$w_{tp}$ : Pişmiş ağırlık  
 $w_{ti}$ : Marinasyon öncesi ağırlık

#### Renk Tayini

Marinasyon işlemi öncesi, marinasyon sonrası ve pişme sonrası olmak üzere örneklerin yüzey renk ölçümleri, CIE L\*, a\*, b\* renk ölçüm sistemi ile Minolta renk ölçüm cihazı (Konica Minolta Chromameter CR-400, Japonya) kullanılarak L\* (açıklık-koyuluk), a\* (kırmızılık-yeşillik) ve b\* (sarılık-mavilik) değerleri belirlenmiştir. Her bir örnekten 3 farklı noktadan ölçüm yapılmış ve daha sonra bu değerlerin ortalaması alınmıştır (Gökalp vd., 2010).

#### Tekstür Analizi

Tekstür analizi, pişirilmiş örneklerde yapılmıştır. Örnekler bir gece +4°C'de tutulduktan sonra soğuk zincir altında Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne getirilmiştir. Pişmiş örneklerden 1.5x1.5x1.5 cm ebadında kübik numune hazırlanmıştır. Ölçümler tekstür analiz cihazında (TA-XT Plus Stable Micro Systems UK) Warner Bratzler kesme bıçağı ile "kesme direnci (kg)" ve "kesme işi (kgxsn)" cinsinden 50 kg ağırlık kullanılarak yapılmıştır. Her bir tekerrür için örnekte 2 tekrarlı okuma yapılmıştır (Söylemez ve Zorba, 2013).

#### Duyuusal Analiz

Pişirilen örnekler 10 dakika oda sıcaklığında soğutulduktan sonra (2x2x2) cm olacak şekilde porsiyonlanmıştır. Her bir örnek rastgele rakamlarla kodlanarak panelistlere sunulmuştur.

Tadım esnasında tadı nötrlemek için su kullanılmıştır. Duyusal panel Gıda Mühendisliği öğretim üyeleri, araştırma görevlileri ve yüksek lisans ve lisans öğrencilerinden oluşan 8 kişilik grup tarafından yapılmıştır. Örnekler panelistler tarafından dış görünüş, koku, ekşilik, sululuk, aroma, tekstür, gevreklik ve genel beğeni olarak değerlendirilmiş olup puanlama 1-8 arasında verilmiştir. 7-8 çok iyi, 6-4 iyi ve 1-3 kötü olmak üzere örnekler değerlendirilmiştir. Tüm panelistlere testin formatı ve değerlendirme hakkında bilgi verilmiştir (Söylemez ve Zorba, 2013).

### İstatistiksel Analizler

Bütün deneme grupları iki tekerrürlü olarak düzenlenmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak tek yönlü varyans analizi kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar Duncan çoklu karşılaştırma testiyle değerlendirilmiş, uygulama grupları arasında farklılık olup olmadığına bakılmıştır. Çalışmada SPSS 18.0.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) paket programı kullanılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Marinasyonların Tavuk Göğüs Eti pH Değerleri Üzerine Etkisi

Çalışmada kullanılan marinatların pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Marinatların pH Değerleri  
Table 2. pH Values of Marinades

	pH
Kontrol (saf su) <i>Control (distilled water)</i>	5.89
10°BxElma <i>10°Bx Apple</i>	3.71
14°BxElma <i>14°Bx Apple</i>	3.69
10°BxErik <i>10°Bx Plum</i>	3.24
14°BxErik <i>14°Bx Plum</i>	3.21
STPP	8.64

Tavuk göğüs etlerinin marinasyon öncesi, marinasyon sonrası ve pişme işlemi sonrası pH değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Tavuk Göğüs Etlerinin pH Değerleri

Table 3. pH Values of Chicken Breasts

Uygulama <i>Run</i>	Marinasyon Öncesi <i>Before Marination</i>	Marinasyon Sonrası <i>After Marination</i>	Pişme Sonrası <i>After Cooking</i>
Kontrol (saf su) <i>Control (distilled water)</i>	5.91 <sup>a</sup>	6.02 <sup>ab</sup>	6.17 <sup>a</sup>
10°BxElma <i>10°Bx Apple</i>	5.71 <sup>a</sup>	5.45 <sup>c</sup>	5.75 <sup>ab</sup>
14°BxElma <i>14°Bx Apple</i>	6.01 <sup>a</sup>	5.59 <sup>bc</sup>	5.98 <sup>a</sup>
10°BxErik <i>10°Bx Plum</i>	5.91 <sup>a</sup>	4.77 <sup>d</sup>	5.36 <sup>bc</sup>
14°BxErik <i>14°Bx Plum</i>	5.82 <sup>a</sup>	4.65 <sup>d</sup>	5.06 <sup>c</sup>
STPP	5.95 <sup>a</sup>	6.30 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup>P<0.05 Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-d</sup>P<0.05 Different letters within a column are significantly different



Tavuk göğüs etlerinin pH değerlerinin 5.71 ve 6.01 arasında olduğu ve bu değerler arasında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ). Bu sonuç, materyal olarak kullanılan tavuk göğüs etlerinin pH bakımından homojen olduğunu göstermektedir.

Marinasyon sonrası pH değerleri incelendiğinde elma ve erik konsantreleri ile yapılan marinasyonlarda pH değerlerinin düştüğü, buna karşın STPP marinasyonunda pH'nın yükseldiği tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). En yüksek pH'nın (6.30) STPP uygulamasına, buna karşın en düşük pH'nın ise (4.65) 14°Bx erik marine uygulamasına ait olduğu tespit edilmiştir. Asidik meyve suları ile yapılan marinasyon işleminin pH değerini düşürdüğü görülmektedir. Diğer taraftan STPP ile yapılan marinasyon sonucunda ise pH değeri yükselmiştir. Benzer sonuçlar çeşitli araştırmalarda da bildirilmiştir. Serdaroglu vd. (2007)'nin greyfurt suyu ile hindi eti üzerinde yaptığı çalışmada pH düşüşü tespit edilmiştir. Qiao vd. (2002)'in broiler göğüs etini %5 tuz ve %2.5 fosfat içeren çözelti kullanarak yaptıkları bir marinasyon çalışmasında marinasyon sonrası ve pişme sonrası etin pH değerinin yükseldiğini bildirmişlerdir.

Pişme sonrası marinasyonlar arasındaki pH değerleri farklılıklarının istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). En yüksek pH değerinin 6.28 ile STPP marine grubuna ve en düşük pH değerinin ise 5.06 ile 14°Bx elma marine örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Pişme sonucu pH değerlerindeki artış, et proteinlerinde gerçekleşen denatürasyon sonucu serbest asidik grupların yok olarak etin pH değerini yükseltmesine bağlanmıştır. Ayrıca özellikle sarkoplazmik proteinlerdeki denatürasyon sonucu ortaya çıkan -SH ve -OH grupları nedeniyle de pH'nın yükseldiği bildirilmektedir (Lawrie, 1979).

#### Marinasyonların Marinat Absorbsiyon Oranları Üzerine Etkisi

Tavuk göğüs etlerinin marinasyon işlemi sonrası marinat absorpsiyon oranları Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Marinat Absorbsiyonu (%)  
Table 4. Marinade Absorbition (%)

Uygulama <i>Run</i>	Marinat Absorbsiyon Oranı (%) <i>Marinade Absorbition Rate (%)</i>
Kontrol (saf su) <i>Control (distilled water)</i>	3.05 <sup>b</sup>
10°BxElma <i>10°Bx Apple</i>	0.78 <sup>c</sup>
14°BxElma <i>14°Bx Apple</i>	-0.46 <sup>c</sup>
10°BxErik <i>10°Bx Plum</i>	0.06 <sup>c</sup>
14°BxErik <i>14°Bx Plum</i>	-1.75 <sup>d</sup>
STPP	7.52 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup> $P < 0.05$  Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-d</sup> $P < 0.05$  Different letters within a column are significantly different

Marinat absorpsiyon oranlarının %-1.75 ile %7.52 arasında değiştiği; marinasyon örnekleri arasında istatistiksel olarak farklar olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). En yüksek marinat absorpsiyon oranının STPP örneğine, ikinci yüksek absorpsiyon oranının kontrol grubuna ve en düşük marinat absorpsiyon oranının ise 14°Bx erik marine grubuna ait olduğu görülmüştür. 14°Bx elma, 10°Bx elma ve 10°Bx erik marinasyonları arasında marinat absorpsiyonu bakımından istatistiksel olarak fark olmadığı görülmüştür ( $P > 0.05$ ).

Bu çalışmada uygulanan daldırma yöntemi, marinasyon aşamasında herhangi bir mekanik etki içermediği için kollajende bulunan çapraz bağların yeterince kırılmadığı dolayısıyla bu nedenle marinat absorpsiyonunun düşük seviyelerde kaldığı düşünülmektedir. Ayrıca asidik marinatlarda bulunan katı maddelerin etteki serbest radikaller ile tepkimeye girerek etin su tutma kapasitesinde düşüşe neden olduğu düşünülmektedir (Gökalp vd., 2012). Nitekim Jarvis vd. (2012)'nin vakumlu tambur sistemi kullanarak yaptıkları tavuk göğüs eti marinasyon çalışmasında kurutulmuş erik tozu ve erik konsantresi kullanmışlar, marinat absorpsiyon

oranı bakımından STPP'ya en yakın sonucun %1.1 erik konsantrisinde olduğunu rapor etmişlerdir.

### Marinasyonların Çözünme Kaybı Üzerine Etkisi

Marine tavuk gruplarının % çözünme kaybı değerleri Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Çözünme Kaybı (%)  
Table 5. Thaw Loss (%)

Uygulama <i>Rum</i>	Çözünme Kaybı (%) <i>Thaw Loss (%)</i>
Kontrol (saf su) <i>Control (distilled water)</i>	11.30 <sup>a</sup>
10°BxElma <i>10°Bx Apple</i>	4.16 <sup>cd</sup>
14°BxElma <i>14°Bx Apple</i>	2.77 <sup>d</sup>
10°BxErik <i>10°Bx Plum</i>	6.61 <sup>b</sup>
14°BxErik <i>14°Bx Plum</i>	6.55 <sup>b</sup>
STPP	4.91 <sup>bc</sup>

<sup>a-d</sup> $P < 0.05$  Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-d</sup> $P < 0.05$  Different letters within a column are significantly different

Marinasyon gruplarının çözünme kaybı değerlerinin %2.77 ile %11.30 arasında değiştiği ve gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). En yüksek çözünme kaybı oranının kontrol grubuna ait olduğu ve bunu erik marinasyon ürünlerinin takip ettiği görülmüştür. Diğer taraftan en düşük çözünme kaybının ise (%2.77) 14°Bx elma marinasyonunda olduğu belirlenmiştir. Çizelge incelendiğinde elma suyu ile yapılan marinasyonların STPP ile yapılan marinasyona kıyasla çözünme kaybı bakımından daha düşük olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Nitekim Jarvis vd. (2012)'nin yaptıkları çalışmada erik konsantrisi, erik tozu ve STPP marinasyonları arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığını ( $P > 0.05$ ), en düşük çözünme kaybının %2.2 ile erik konsantrisi marinasyon grubuna ait olduğunu bildirmişlerdir.

**Marinasyonların Pişme Kaybı Üzerine Etkisi**  
Marine tavuk gruplarına ait pişme kayıpları Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Pişme Kaybı (%)  
Table 6. Cooking Loss (%)

Uygulama <i>Rum</i>	% Pişme Kaybı <i>Cooking Loss (%)</i>
Kontrol (saf su) <i>Control (distilled water)</i>	35.03 <sup>a</sup>
10°BxElma <i>10°Bx Apple</i>	25.28 <sup>b</sup>
14°BxElma <i>14°Bx Apple</i>	25.33 <sup>b</sup>
10°BxErik <i>10°Bx Plum</i>	28.80 <sup>ab</sup>
14°BxErik <i>14°Bx Plum</i>	30.96 <sup>ab</sup>
STPP	26.06 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> $P < 0.05$  Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-b</sup> $P < 0.05$  Different letters within a column are significantly different

Marinasyon gruplarının pişme kaybı değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek pişme kaybı oranının %35.03 ile kontrol grubuna ve en düşük pişme kaybı oranının ise %25.28 ile 10°Bx elma marine grubuna ait olduğu gözlenmiştir (Çizelge 6). Elma ve STPP marine örneklerinde pişme kaybı bakımından istatistiksel olarak farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Bu sonuç, pişme kaybı bakımından elma suyunun alternatif bir marinat olabileceğini göstermiştir. Marinasyon sonucu pişme kayıplarının azaldığı pek çok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Young ve Lyon, 1997; Young vd. 1999). Obuz ve Cesur (2009)'un tavuk göğüs etlerini vişne, nar, portakal, üzüm ve elma suyuna daldırarak yaptıkları çalışmada pişme kayıplarını %22-30 arasında bulmuşlardır. Yapılan bir başka çalışmada daldırma yöntemiyle farklı oranlarda sitrik asit ve üzüm suyunun kullanıldığı hindi göğüs eti marinasyonunda pişme kayıpları %22-33 arasında rapor edilmiştir (Serdaroğlu vd., 2007). Nunez de Gonzalez vd. (2009) yaptıkları çalışmada sığır but etlerini erik suyu konsantrisi ve kurutulmuş erik tozu ile enjeksiyon yöntemi kullanarak marine etmişlerdir. Sonuçta en yüksek pişme kaybının

(%17.7) %5'lik kuru erik tozu marinasyonuna ait olduğunu bildirmişlerdir.

### Marinasyonların Son Ürün Verimi Üzerine Etkisi

Marinasyon gruplarının % verim değerleri Çizelge 7'de verilmiştir.

Çizelge 7. Son Ürün Verimi (%)  
Table 7. Finished Product Yield (%)

Uygulama Run	% Verim % Yield
Kontrol (saf su) Control (distilled water)	59.85 <sup>c</sup>
10°BxElma 10°Bx Apple	72.37 <sup>ab</sup>
14°BxElma 14°Bx Apple	72.63 <sup>ab</sup>
10°BxErik 10°Bx Plum	66.38 <sup>bc</sup>
14°BxErik 14°Bx Plum	63.90 <sup>bc</sup>
STPP	76.65 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>P<0.05 Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-c</sup>P<0.05 Different letters within a column are significantly different

Marinasyon işleminde STPP kullanımının en yüksek verim (%76.65) ile sonuçlanmasına karşın

en düşük verim değeri %59.85 ile kontrol grubuna aittir ( $P < 0.05$ ). Elma marine grupları verim değerlerinin STPP'a kıyasla daha düşük ( $P < 0.05$ ) ve erik marine grubuna kıyasla daha yüksek olduğu ( $P < 0.05$ ) gözlenmiştir. Parks vd. (2000), yaptıkları tavuk eti marinasyon çalışmasında %0, %0.4, %0.8 ve %1.2 oranlarında elma aroma ekstraktı kullanmışlar ve sonuçta son ürün verimi bakımından kontrol grubu ile marine örnekler arasında istatistiksel bir farklılık olmadığını ( $P > 0.05$ ) bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Yıldız-Turp ve Serdaroglu (2010), dana köftelerinde erik püresi oranının artışıyla pişme veriminin azaldığını ( $P < 0.05$ ) rapor etmişlerdir. Bu çalışmada elma suyu ile yapılan marinasyonların verim bakımından kontrol grubundan yüksek ve STPP grubuna yakın olması nedeniyle alternatif bir marinat olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

### Marinasyonların Renk Değerleri Üzerine Etkisi

Marinasyon öncesi, marinasyon sonrası ve pişme sonrası olmak üzere etin yüzeyinde Hunterlab cihazı ile yapılan renk analizi sonuçları Çizelge 8'de verilmiştir. Renkte meydana gelen değişimleri ortaya koyabilmek amacıyla etin yüzeyinde ölçümler yapılmış; L\* değeri parlaklık, a\* değeri kırmızılık ve b\* değeri de sarılık olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 8. Tavuk Göğüs Eti Yüzey Renk Değerleri  
Table 8. Color Values of Chicken Breast Meat Surfaces

Uygulamalar Runs	Marinasyon Öncesi Before Marination			Marinasyon Sonrası After Marination			Pişme Sonrası After Cooking		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol (saf su) Control (distilled water)	61.66 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>	9.62 <sup>a</sup>	70.69 <sup>a</sup>	-0.25 <sup>cd</sup>	8.47 <sup>b</sup>	76.73 <sup>ab</sup>	2.62 <sup>d</sup>	21.65 <sup>a</sup>
10°BxElma 10°Bx Apple	59.14 <sup>a</sup>	1.22 <sup>a</sup>	8.41 <sup>a</sup>	66.65 <sup>a</sup>	-1.38 <sup>d</sup>	10.62 <sup>b</sup>	70.54 <sup>b</sup>	6.36 <sup>c</sup>	26.94 <sup>a</sup>
14°BxElma 14°Bx Apple	56.57 <sup>a</sup>	1.10 <sup>a</sup>	8.84 <sup>a</sup>	63.33 <sup>a</sup>	-1.29 <sup>d</sup>	10.69 <sup>b</sup>	72.28 <sup>ab</sup>	5.90 <sup>c</sup>	26.94 <sup>a</sup>
10°BxErik 10°Bx Plum	57.84 <sup>a</sup>	1.42 <sup>a</sup>	7.04 <sup>a</sup>	55.43 <sup>b</sup>	12.58 <sup>b</sup>	21.80 <sup>a</sup>	54.72 <sup>c</sup>	11.14 <sup>b</sup>	18.65 <sup>a</sup>
14°BxErik 14°Bx Plum	57.67 <sup>a</sup>	3.02 <sup>a</sup>	8.34 <sup>a</sup>	48.83 <sup>b</sup>	14.86 <sup>a</sup>	19.90 <sup>a</sup>	45.63 <sup>d</sup>	14.53 <sup>a</sup>	19.12 <sup>a</sup>
STPP	60.03 <sup>a</sup>	2.51 <sup>a</sup>	9.13 <sup>a</sup>	54.91 <sup>b</sup>	0.61 <sup>c</sup>	0.77 <sup>c</sup>	78.44 <sup>a</sup>	1.95 <sup>d</sup>	17.40 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup>P<0.05 Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-d</sup>P<0.05 Different letters within a column are significantly different

Çalışmada materyal olarak kullanılan tavuk göğüs eti yüzey  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri bakımından istatistiksel olarak farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Bu sonuç kullanılan materyalin renk değerleri bakımından homojen olduğunu bize göstermektedir.

Marinasyon sonrası yüzey renk değerleri incelendiğinde  $L^*$  değerleri bakımından olan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Kontrol ve elma marine örnekleri  $L^*$  değerlerinin, erik ve STPP marine örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu ( $P < 0.05$ ) gözlenmiştir. Marinasyon sonrası  $a^*$  değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek  $a^*$  değerinin (14.86) erik marine örneklerinde, en düşük  $a^*$  değerinin ise (-1.38) elma marine örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Marinasyon sonrası  $b^*$  değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek  $b^*$  değerinin (21.80) ile erik marine örneklerinde, en düşük  $b^*$  değerinin ise (0.77) ile STPP marine örneklerinde olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Burada erik uygulamasının  $L^*$  ve  $b^*$  değerlerini düşürdüğü,  $a^*$  değerini ise artırdığı söylenebilir.

Pişme sonrası yüzey renk değerleri incelendiğinde  $L^*$  değerleri bakımından olan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek  $L^*$  değerinin (78.44) STPP marine örneklerinde, en düşük  $L^*$  değerinin ise (45.63) erik marine örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Pişme sonrası  $a^*$  değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek  $a^*$  değerinin (14.53) erik marine örneklerinde, en düşük  $a^*$  değerinin ise (2.62) kontrol örneklerine ait olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Pişme sonrası  $b^*$  değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Bu sonuçlara göre parlaklık pişirme sonrasında protein denatürasyonuna bağlı olarak marinasyon öncesine göre artmıştır. Etin kırmızılık değeri ise miyogloblin denatürasyonu sonucu STPP, elma ve kontrol örneklerinde azalırken erik marinasyon örneklerinde artmıştır. Etin sarılık değeri ise tüm örneklerde artış göstermiştir. Bu sonuçlar, daha önce yapılan çalışmalar ile paralellik

göstermektedir. Nitekim Nunez de Gonzalez vd. (2008b)'nin yaptıkları çalışmada sığır etine %2.5 ve %5 oranlarında taze veya kuru erik türevlerini enjeksiyon yöntemiyle uygulamışlardır. Pişirilen etlerde erik uygulamasının etin  $L^*$  değerini düşürdüğünü ( $P < 0.05$ ) ve et rengini koyulaştırdığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada da benzer şekilde dana köftelerine eklenen erik püresi oranı arttıkça çiğ ve pişmiş köfte örneklerinin  $L^*$  değerlerinin düştüğü, kırmızılığın arttığı ve sarılığın ise düştüğü rapor edilmiştir (Yıldız-Turp ve Serdaroglu, 2010). Obuz ve Cesur (2009), yaptıkları çalışmada elma suyu ile marinasyon sonucunda çiğ tavuk göğüs eti  $L^*$  ve  $a^*$  değerlerinde istatistiksel olarak bir fark olmadığını ( $P > 0.05$ ),  $b^*$  değerinin ise kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ( $P < 0.05$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

#### **Marinasyonların Tekstür Analiz Sonuçları Üzerine Etkisi**

Pişmiş marine tavuk gruplarının kesme direnci ve kesme işi değerleri Çizelge 9'da verilmiştir.

Marinasyonlar arasında kesme direnci ve kesme işi bakımından istatistiksel olarak farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). En düşük kesme direncinin 1.72 kg ile elma marine örneklerinde olduğu en yüksek kesme direncinin ise 3.23 kg ile kontrol grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde en düşük kesme işinin 15.22 kg.sn ile elma marine örneklerinde olduğu en yüksek kesme işinin ise 26.83 kg.sn ile erik marine grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Nunez de Gonzalez vd. (2008b) yaptıkları çalışmada enjeksiyon yöntemiyle erik suyu konsantresi ve kurutulmuş erik tozu uygulanmış sığır but eti örnekleri arasında kesme kuvveti bakımından istatistiksel olarak düşük seviyede bir farklılık olduğu, bu farklılığın duyu analizde tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada %0, %0.4, %0.8 ve %1.2 oranlarında sıvı elma aroması kullanılarak tavuk göğüs eti marinasyonu uygulanmıştır. Sonuçta kesme kuvveti parametresi bakımından %0.4 ve %1.2'lik uygulamalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık olmadığı ( $P > 0.05$ ), fakat diğer taraftan en düşük kesme direncinin ( $P < 0.05$ ) %0.8'lik elma aroma uygulamasına ait olduğu bildirilmiştir (Parks vd., 2000).

Çizelge 9. Tekstür Analiz Sonuçları  
Table 9. Texture Analysis Results

Uygulama Run	Kesme Direnci (kg) Cutting Strength (kg)	Kesme İşi (kg.sn) Cutting Work (kg.s)
Kontrol (saf su) Control (distilled water)	3.23 <sup>a</sup>	25.58 <sup>a</sup>
10°BxElma 10°Bx Apple	2.71 <sup>a</sup>	23.44 <sup>a</sup>
14°BxElma 14°Bx Apple	1.72 <sup>a</sup>	15.22 <sup>a</sup>
10°BxErik 10°Bx Plum	2.26 <sup>a</sup>	18.52 <sup>a</sup>
14°BxErik 14°Bx Plum	3.03 <sup>a</sup>	26.83 <sup>a</sup>
STPP	2.28 <sup>a</sup>	18.12 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a</sup>P<0.05 Different letters within a column are significantly different

### Marinasyonların Duyusal Analiz Sonuçları Üzerine Etkisi

Pişmiş marine tavuk gruplarında yapılan duyusal değerlendirme sonuçları Çizelge 10'da verilmiştir. Marinasyonlar arasında duyusal analiz sonuçları bakımından istatistiksel olarak farklılık olduğu tespit edilmiştir (P <0.05).

Dış görünüş bakımından en düşük değerin 3.62 ile erik marine grubuna ait olduğu, en yüksek

değerin ise 6.0 ile elma marine grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında dış görünüş açısından elma ve STPP örnekleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı (P >0.05) ve erik örneklerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (P <0.05).

Koku, ekşilik ve gevreklik özellikleri bakımından değerler arasında istatistiksel olarak fark olmadığı (P >0.05) tespit edilmiştir.

Çizelge 10. Duyusal Analiz Sonuçları  
Table 10. Sensory Analysis Results

Marinat Marinade	Dış Görünüş Appearance	Koku Smell	Ekşilik Sourness	Sululuk Juicy	Aroma Aroma	Tekstür Texture	Gevreklik Tenderness	Genel Beğeni General Choice
Kontrol (saf su) Control (distilled water)	5.75 <sup>a</sup>	5.75 <sup>a</sup>	3.56 <sup>a</sup>	4.81 <sup>abc</sup>	3.37 <sup>b</sup>	4.87 <sup>c</sup>	4.31 <sup>a</sup>	4.12 <sup>b</sup>
10°BxElma 10°Bx Apple	5.87 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	5.93 <sup>a</sup>	5.50 <sup>a</sup>	6.25 <sup>ab</sup>	5.18 <sup>a</sup>	5.81 <sup>a</sup>
14°BxElma 14°Bx Apple	6.00 <sup>a</sup>	6.56 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>	5.43 <sup>ab</sup>	5.18 <sup>a</sup>	6.50 <sup>a</sup>	5.68 <sup>a</sup>	5.87 <sup>a</sup>
10°BxErik 10°Bx Plum	4.25 <sup>b</sup>	5.50 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	3.68 <sup>c</sup>	4.68 <sup>a</sup>	4.75 <sup>c</sup>	4.81 <sup>a</sup>	4.75 <sup>ab</sup>
14°BxErik 14°Bx Plum	3.62 <sup>b</sup>	5.50 <sup>a</sup>	5.12 <sup>a</sup>	4.31 <sup>bc</sup>	4.75 <sup>a</sup>	5.18 <sup>bc</sup>	4.62 <sup>a</sup>	4.87 <sup>ab</sup>
STPP	5.87 <sup>a</sup>	5.93 <sup>a</sup>	4.50 <sup>a</sup>	5.43 <sup>ab</sup>	4.81 <sup>a</sup>	6.06 <sup>ab</sup>	4.93 <sup>a</sup>	5.43 <sup>a</sup>

<sup>a-c</sup>P<0.05 Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan farklıdır.

<sup>a-c</sup>P<0.05 Different letters within a column are significantly different

Sululuk değerlerindeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). En düşük sululuk değeri 3.68 ile erik marine grubuna ait olduğu en yüksek sululuk değerinin ise 5.93 ile elma marine grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında sululuk açısından elma ve STPP örnekleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı ( $P > 0.05$ ) tespit edilmiştir.

Aroma bakımından marinasyon grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P > 0.05$ ) tespit edilmiştir. En düşük değeri 3.37 ile kontrol grubuna ait olduğu en yüksek değeri ise 5.50 ile elma marine grubuna ait olduğu tespit edilmiştir.

Tekstür değerlerindeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). En düşük değeri 4.75 ile erik marine grubuna ait olduğu en yüksek değeri ise 6.50 ile elma marine grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Elma ve STPP grupları tekstür değerlerinin, erik örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür ( $P < 0.05$ ). 14°Bx elma tekstür değerinin STPP marine örneğine kıyasla daha yüksek olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $P < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Genel beğeni bakımından elma ve STPP örnekleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ( $P > 0.05$ ); ayrıca bu uygulama gruplarının erik marine örneklerine kıyasla daha yüksek ( $P < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. En düşük genel beğeni değerinin 4.12 ile kontrol grubuna ait olduğu, en yüksek değeri ise 5.87 ile 14°Bx elma grubuna ait olduğu tespit edilmiştir.

Bu konuda yapılmış araştırmalarda da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Yapılan bir çalışmada çeşitli marinatlarla marine edilen hindi etlerinin gevreklik ve sululuk değerlerinde kontrol örneklerine göre artış olduğu gözlenmiştir (Serदारoğlu vd., 2007). Obuz ve Cesur (2009) tavuk göğüs etini çeşitli asidik meyve suları kullanarak marine ettikleri bir çalışmada marineli örneklerin duyuşal anlamda olumlu etkilendiğini ifade etmiştir. Ayrıca Desmond ve Troy (2001) sığır etinin sitrik asit ile marinasyonunda; Lin, Chen ve Chou (2000) da kırmızı şarap ile marine

edilen sosislerde ekşiliğin yüksek olduğunu saptamışlardır.

## SONUÇ

Bu çalışmada farklı konsantrasyondaki (10°Bx ve 14°Bx) erik ve elma suyu ile %1'lik STPP çözeltisi tavuk göğüs eti marinasyonu amacıyla kullanılmıştır. Burada, alternatif doğal bir marinat olarak elma ve erik suyunun tavuk göğüs eti üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonunda genel olarak elma suyu ile yapılan marinasyonların erik suyuna kıyasla daha iyi sonuçlar gösterdiği görülmüştür. Elma suyu ile tavuk eti marinasyonuna ilişkin çalışmaların az olması sebebiyle araştırmamızın literatüre önemli katkı sağladığı düşünülmektedir.

Pişme kaybı ve son ürün verimi bakımından elma marine örneklerinin, STPP gruplarına yakın, erik marine örneklerinden ise daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar elma suyunun su tutma ve verim özellikleri bakımından tavuk göğüs eti marinasyonunda alternatif doğal bir marinat olabileceğini göstermektedir.

Duyusal analiz sonuçları bakımından da aynı şekilde elma marine örneklerinin, erik marine örneklerinden daha yüksek ve STPP marine gruplarına ise oldukça yakın olduğu görülmüştür. Özellikle dış görünüş ve genel beğeni parametreleri bakımından elma marine örnekleri ile STPP grupları arasında istatistiksel olarak bir farklılık görülmemiş ( $P > 0.05$ ) ve en beğenilen örnekler olmuşlardır.

Yukarıda bahsedilen olumlu sonuçlara rağmen elma marine gruplarında marinat absorpsiyon parametresi bakımından düşük sonuçlar alınmıştır. Bu nedenle asidik karakterdeki elma suyu marinasyonunun daha sonraki araştırmalarda tambur veya enjeksiyon gibi yöntemlerle kombine edilmesi gerektiği önerilmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada 10°Bx ve 14°Bx elma suyu marinatlarının piliç göğüs eti marinasyonunda ürün çeşitliliğini artırabileceği ve ayrıca doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

**TEŞEKKÜR**

Bu çalışma, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (BİDEB) tarafından yürütülen, 2209-B - Sanayi Odaklı Lisans Bitirme Tezi Destekleme Programı kapsamında 1139B411402794 başvuru nolu proje tarafından desteklenmiştir.

**KAYNAKLAR**

Abd El-Khalek, H.H., Zahran, D.A. (2013). Utilization of fruit by-product in ground meat preservation. *Food Science and Quality Management*, 11, 49-60.

Banerjee, R., Verma, A.K., Das, A.K., Rajkumar, V., Shewalkar, A.A., Narkhede, H.P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Sci*, 91, 179-184.

BESD-BİR (2013), Piliç Eti Sektör Raporu.

Bor, Y. (2011). Hindi etlerinin Marinasyonunda Bazı Doğal Antioksidan Kaynakların Kullanımı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, Türkiye.

Desmond, E.M., Troy, D.J. (2001). The Effect of Lactic Acid on Low Value Beef used for Emulsion Type Meat Products. *Lebensm-Wiss Technol*, 34: 374-379.

Ergezer, H. (2005). Değişik yöntemlerle Marine edilmiş kanatlı etlerin kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal özellikleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi, Denizli, Türkiye.

Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estevez, A.M., Chiffelle, I., Asenjo, F.S. (2005). Fiber concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fiber sources for food enrichment. *Food Chem*, 91, 395-401.

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zember, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., Martín-Belloso, O. (2001). Comparative content of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. *J Agric Food Chem*, 49, 952-957.

Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y ve Zorba Ö. (2010). *Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar*

*Uygulama Kılavuzu*, beşinci baskı, Atatürk Üniversitesi Yayın no 751, Erzurum, Türkiye, s.121-125.

Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y ve Zorba Ö. (2012). *Et Ürünleri İşleme Mühendisliği*, Atatürk Üniversitesi Yayınları no 786, Erzurum, Türkiye, Beşinci Bölüm, s. 141 - 150.

Huda, A., Parveen, S., Rather, S.A., Akhter, R., Hassan, M. (2014). Effect of incorporation of apple pomace on the physico-chemical, sensory and textural properties of mutton nuggets. *International Journal of Advanced Research*, 2, 974-983.

Jarvis, N., Clement, A.R., O'Bryan, C.A., Babu, D., Crandall, P.G., Owens, C.M., Meullenet, J., Ricke, S.C. (2012). Dried Plum Products as a Substitute for Phosphate in Chicken Marinade. *J Food Sci*, Vol. 77, Nr. 6.

Jarvis, N., O'Bryan, C.A., Ricke, S.C., Crandall, P.G. (2015). The functionality of plum ingredients in meat products: A review. *Meat Sci*, 102, 41-48.

Lantto, R., Plathin, P., Niemisto, M., Buchert, J., Autio, K. (2006). Effects of transglutaminase, tyrosinase and freeze-dried apple pomace powder on gel forming and structure of pork meat. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 1117-1124.

Lawrence, T.E., Dikeman, M.E., Hunt, M.C., Kastner, C.L., Johnson, D.E. (2003). Staged Injection Marination with Calcium Lactate, Phosphate, and Salt may Improve Beef Water-Binding Ability and Palatability Traits. *Meat Sci*, 65(4): 967-972.

Lawrence, T.E., Dikeman, M.E., Hunt, M.C., Kastner, C.L., Johnson, D.E. (2004). Effects of Enhancing Beef Longissimus with Phosphate plus Salt or Calcium Lactate plus Non-Phosphate Water Binders plus Rosemary Extract, *Meat Sci*, 67(1): 129-137.

Lawrie, R. A. (1979). *The Storage and Preservation of Meat Moisture Control*. Meat Science (3rd Ed.), Pergamon Press, Oxford.

Lee, E.J. and Ahn, D.U. (2005). Quality characteristics of irradiated turkey breast rolls formulated with plum extract. *Meat Sci*, 71(2): 300-305.

- Lemos, A. L. S. C., Nunes, D. R. M., Viana, A.G. (1999). Optimization of the stillmarinating process of chicken parts. *Meat Sci*, 52: 227-234.
- Lin, Y.C., Chen, W.T., Chou, R.G.R. (2000). Postmortem Changes in Muscle Duck Muscle Marinated in Red Wine. *J Food Sci*, 65(5): 906-908
- Neeteson A., Avendano S., Swalander M. (2017). Broyler Sektörünün Sürdürülebilir Büyümesi İçin Günümüz ve Gelecekte Önemli Yaklaşımlar. Aviagen Group. 4th International Poultry Meat Congress, Syf. 19-30, 26-30 April 2017, Antalya-TURKEY.
- Nunez de Gonzalez, M.T., Boleman, R.M., Miller, R.K., Keeton, J.T., Rhee, K.S. (2008a). Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage. *J. Food Sci.*, 73(5): H63-H71.
- Nunez de Gonzalez, M.T., Hafley, B.S., Boleman, R.M., Miller, R.K., Rhee, K.S., Keeton, J.T. (2008b). Antioxidant properties of plum concentrates and powder in precooked roast beef to reduce lipid oxidation. *Meat Sci.*, 80: 997-1004.
- Nunez de Gonzalez, M.T., Hafley, B.S., Boleman, R.M., Miller, R.K., Rhee, K.S., Keeton, J.T. (2009). Qualitative effects of fresh and dried plum ingredients on vacuum-packaged, sliced hams. *Meat Sci.*, 83: 74-81.
- Obuz, E., Cesur, E. (2009). Effects of marinating on different properties on chicken breast meat. *Fleischwirtschaft*, 89(3): 95-99.
- Parks, S.S., Reynolds, A.E., Wicker, L. (2000) Aqueous apple flavoring in breast muscle has physical, chemical, and sensory properties similar to those of phosphate-marinated controls. *Poultry Sci*, 79:1183-1188.
- Peschel, W., Sanchez-Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzęa, I., Jim nez, D., Lamuela-Raventós, R., Buxaderas, S., & Codina, C. (2006). An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chem*, 97, 137-150.
- Qiao, M., Fletcher, D. L., Smith, D. P., Nothcutt, J. K. (2002). Effects of Raw Broiler Breast Meat Color Variation on Marination and Cooked Meat Quality. *Poultry Sci*, 81, 276-280, 2002.
- Serdaroğlu, M., Abdramov, K., Önenç, A. (2007). The Effects of Marinating with Citric Acid Solutions and Grapefruit Juice on Cooking and Eating Quality of Turkey Breast, *Journal of Muscle Foods*, 18: 162-172, 2007.
- Söylemez, N., Zorba, Ö. (2013). Galeta Unu, Yumurta Akı Tozu ve Jelatinin Anaç Tavuk Köftelerinin Çeşitli Özellikleri Üzerindeki Etkilerinin Yanıt Yüzey Yöntemi ile Modellenmesi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Bolu, Türkiye.
- Suderman, D. R. (1993). *Selecting flavorings and seasonings for batter and breading systems*. Cereal Foods World 38:689-694
- Verma, A.K., Sharma, B.D. and Banerjee, R. (2010). Effect of sodium chloride replacement and apple pulp inclusion on the physicochemical, textural and sensory properties of low fat chicken nuggets. *LWT – Food Science and Technology*, 43, 715-719.
- Yıldız-Turp, G., Serdaroglu, M. (2010). Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties. *Meat Sci.*, 86: 896-900.
- Young, L. L., C. M. Papa, C. E. Lyon, Wilson, R. L. (1992). Moisture retention and textural properties of ground chicken meat as affected by sodium tripolyphosphate, ionic strength and pH. *J. Food Sci.* 57:1291– 293.
- Young, L. L., Lyon, C. E. (1997). Effect of Postchill Aging and Sodium Tripolyphosphate on Moisture Binding Properties, Color and Warner-Bratzler Shear Values of Chicken Breast Meat. *Poultry Sci*, 76, 1587-1590.
- Young, L. L., Buhr, R. J., Lyon, C. E. (1999). Effect of Polyphosphate Treatment and Electrical Stimulation on Postchill Changes in Quality of Broiler Breast Meat. *Poultry Sci*, 78, 267-271.
- Zheng M, Toledo R, Wicker L. (1999), Effect of phosphate and pectin on quality and shelf-life of marinated chicken breast. *J Food Qual* 22:553–64.





## OKRATOKSİN A'NIN EKMEKTE BULUNMA MİKTARINDA FERMANTASYON VE PİŞİRMENİN ETKİSİ

Işıl Var<sup>1\*</sup>, Özlem Atasever Savaş<sup>1</sup>, Selin Sağlam<sup>1</sup>, Okşan Uçkun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Adana Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Adana, Türkiye

Geliş / *Received*: 20.09.2018; Kabul/*Accepted*: 24.11.2018; Online baskı/*Published online*: 06.12.2018

Var, I., Atasever Savaş, Ö., Sağlam, S., Uçkun, O. (2018). Okratoksin a'nın ekmekte bulunma miktarında fermantasyon ve pişirmenin etkisi. *GIDA* (2018) 43 (6): 1053-1060 doi: 10.15237/gida.GD180110

Var, I., Atasever Savaş, Ö., Sağlam, S., Uçkun, O. (2018). Okratoksin a'nın ekmekte bulunma miktarında fermantasyon ve pişirmenin etkisi. *GIDA* (2018) 43 (6): 1053-1060 doi: 10.15237/gida.GD180110

### ÖZ

Okratoksin A (OTA) sıklıkla tahıllarda görülen bir mikotoksin olup, ekme gibi tahıl ürünlerine de geçebilmektedir. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki OTA'nın unda bulunması durumunda ekme yapım süresince uygulanan işlemlerden sonraki değişimi incelenmiştir. Ekme yapımı 5 µg/kg ve 10 µg/kg olmak üzere iki farklı OTA konsantrasyonu ile kontamine edilen beyaz un kullanılarak yapılmıştır. Kontamine edilen bu örneklerin OTA seviyeleri, hamur yapımı, hamur fermantasyonu ve pişirme işlemleri sonunda analiz edilmiştir. Hamur yapımı, hamur fermantasyonu ve pişirme işlemlerinden sonra 5 µg/kg konsantrasyonu için tespit edilen OTA seviyesi sırasıyla 2.76 µg/kg, 1.35 µg/kg ve 0.635 µg/kg olarak tespit edilmiş olup, 10 µg/kg konsantrasyonu için OTA seviyesi sırasıyla 7.36 µg/kg, 4.69 µg/kg ve 2.37 µg/kg olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ekmekte tespit edilen OTA değerleri 0.38 µg/kg ile 2.915 µg/kg aralığında değişmekte olup, son üründe bulunan OTA seviyeleri Avrupa Komisyonu ve Türk Gıda Kodeksi tarafından önerilen yasal limitin (3 µg/kg) altında bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Okratoksin A, HPLC, ekme yapımı, fermantasyon

## THE EFFECT OF FERMENTATION AND COOKING PROCESS ON THE AMOUNT OF OTA IN BREADS

### ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin can be passed to cereal products such as bread. In this study, if the OTA of different concentrations is found in flour, the change after the processes applied during the bread making process is examined. Bread-making was performed, using white flour which was spiked with two different levels of 5 µg/kg, and 10 µg/kg OTA. OTA levels were analyzed at the end of the dough making, dough fermentation, and cooking processes. For 5 µg/kg and 10 µg/kg concentration the OTA levels was found as in dough making 2.76-7.36 µg/kg, in dough fermentation 1.35-4.69 µg/kg, in baking process 0.635 -2.37 µg/kg, respectively. The OTA levels detected in the final product ranged from 0.38 µg/kg to 2.915 µg/kg. It was seen that OTA levels in final products were at concentrations below the legal limit (3 µg/kg) recommended by European Commission and Turkish Food Codex Regulation.

**Keywords:** Ochratoxin A, HPLC, baking, fermentation

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ivar@cu.edu.tr,

☎ (+90) 322 338 60 84/2177/ 126

☎ (+90) 322 338 6614

## GİRİŞ

Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa, çavdar, yulaf, pirinç vb) ve bunlardan elde edilen un, irmik gibi gıdalar daha çok düşük nemli (kuru) gıda olarak kabul edilmektedir ve bu tür gıdalar uzun raf ömrüne sahip olup bozulmamaktadırlar fakat nemlenme durumlarında küflenmeler yaygın olarak görülebilmektedir. Tahıl ve tahıl bazlı ürünlerde en yaygın olarak bozulma etkeni olarak görülen küfler bu ürünleri bozmakla kalmayıp aynı zamanda oluşturdukları çeşitli toksinlerle (mikotoksinler) insan ve hayvan sağlığını etkileyebilmektedirler. Önemli mikotoksinlerden biri olarak bilinen okratoksinler, *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsi küfler tarafından üretilmektedir. Okratoksinlerin 10'u aşkın türevi bilinmektedir. Teknolojik olarak en önemlileri kimyasal yapıları bakımından birbirinden farklılık gösteren Okratoksin A (OTA), Okratoksin B (OTB) ve Okratoksin C (OTC)'dir (Çelik, 2008; Anonymus, 2006; Pohland ve ark. 1992). Tahılın OTA ile kontaminasyonu çok değişken olup, hasat esnasında ve sonrasındaki bölgesel koşullardan etkilenmektedir (Girgin vd., 2001). Özellikle %20'nin üzerindeki nem varlığında hasat edilmesi durumunda OTA özellikle tahıl ürünlerinin depolanması sırasında oluşmakta ve besin zincirine girmekte ve tahıllarda ciddi bir risk oluşturabilmektedir (Valle-Algarra vd., 2009).

Okratoksin A'nın sıklıkla tahıllarda görülen bir mikotoksin olması onlardan elde edilen unlara geçmesine neden olabilmekte ve bu unlarla yapılan başta ekmek olmak üzere tahıl ürünlerinde bulunabileceği ihtimali söz konusu olabilmektedir. Ekmek üretiminde hammadde olarak birçok girdinin kullanılması, sıcaklık, süre, ekmek boyutu gibi birçok kontrol parametresi undan ekmeğe bulaşan OTA miktarını etkilemekte, beyaz ekmek ve diğer tahıl bazlı ekmeklerde farklılıklar olabilmektedir. Ekmek yapımında kullanılan unlar farklı tahıllardan elde edilebilmektedir. Bu tahıllar içinde OTA riskinin en çok görüldüğü ve unlu mamul yapımında en çok kullanılan buğday tanesinin dış kısımları kısmen uzaklaştırıldığından buğday unundan yapılan ekmekte OTA varlığı daha düşük oranlarda tespit edilebilmektedir (Zinedine vd., 2007; Duarte vd., 2010). Bunun yanı sıra ekmek

yapım prosesinde hamur fermantasyonu ve pişirme aşamaları da başlangıç OTA seviyesindeki azalmaya neden olabilmekte ve nihai üründe tahıldan gelen OTA riski azaltılabilmektedir (Scudamore vd., 2003; Valle-Algarra vd., 2009). Fakat tüm bu işlemlere rağmen ekmekte zaman zaman limitlerin altı veya üstünde OTA ile karşılaşılabilmektedir.

Koç, 2017 yılında Adana piyasasında satılmakta olan ekmeklerle ilgili yaptığı çalışmada 46 somun ve 4 pide ekmek olmak üzere toplam 50 ekmek örneğinin 5'inde 0.13-0.98 µg/kg aralığında OTA tespit etmiştir. OTA miktarını en yüksek 0.98 ppb olarak pide ekmeğinde saptamıştır. Gölge ve Kabak 2016 yılında yaptıkları çalışmada 102 beyaz ekmek örneğinin 10'unda <2.83 µg/kg LOQ seviyelerinde OTA bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkındaki Tebliğ'e (2008/26) göre; işlenmemiş tahıllar maksimum limit 5µg/kg, işlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil) maksimum limit 3 µg/kg olarak belirlenmiştir (Anonymus, 2008). Sonuçlar limitlerin altında olsa da son ürün olan ekmekte OTA'nın tespit edilmiş olmasının önemli olduğu vurgulanmıştır.

Bu çalışma ekmek hammaddesi olarak seçilen OTA içermeyen buğday ununa farklı konsantrasyonlarda (5 ve 10 µg/kg) OTA aşılı olarak ekmeğe ne kadar oranda OTA geçtiğinin tartışılması amacıyla kurgulanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Piyasadan temin edilen buğday unu OTA açısından kontrol edilerek temiz olduğu görülen unlara farklı konsantrasyonlarda OTA aşılı olmuş (5 µg/kg ve 10 µg/kg) bu OTA aşılı unlarla enzim karışımı (α-amilaz, selülaz, glukozoksidaz), pres yaş maya, tuz, su ve buz kullanılarak hazırlanan hamur, fermente hamur ve 240±5°C'de 30 dk süre boyunca pişirilmiş ekmekler çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

### Yöntem

#### Ekmek Üretimi

Çalışmamızda “Doğrudan Yoğurmanın uygulandığı Klasik Üretim” tekniği ile ekmek yapımı gerçekleştirilmiştir. Ekmek üretimi Çukurova Üniversitesi Tahıl ve Tahıl ürünleri laboratuvarında yapılmıştır. Yoğurma işlemi için ekmek yapma makinesi kullanılmış olup öncelikle tüm bileşenler (un, su, tuz, pres yaş maya, enzim karışımı) karıştırılmış ve sonrasında ortalama 15-20 dakikalık bir yoğurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yoğurma işlemi sonunda elde edilen hamur eşit parçalara bölünerek beze haline getirilmiş ve sonrasında yuvarlak şekil verilen hamurlar yaklaşık olarak 5-7 dakika süren ara dinlendirmeye alınmıştır. Ara dinlendirme sonunda yuvarlak şekilli bu hamurlara dar ve uzun şekilli olan somun ekmek şekli verildikten sonra  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de yaklaşık olarak %65-70 nemde 75 dakika boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyonu tamamlanan hamurlar  $240\pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki fırında 30 dakikalık süre boyunca pişirilmiştir.

#### OTA Ara Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

6 ml hacimde 1000 ng/ml konsantrasyondaki OTA standardından un, hamur ve fermente hamura aşılacak üzere 5 ve 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lik Okratoksin A ara stok çözeltileri hazırlanmıştır. HPLC-FLD'de kullanılacak mobil faz olarak asetonitril/su/asetik asit (48/51/1) hazırlanmış ve poliamid membran filtreden (0.2  $\mu\text{m}$ , 50 mm, Whatman GmbH, Dassel, Almanya) geçirilmiştir.

#### Una OTA Eklenmesi ve Ekmek Üretimi

Analizlerde kullanılan buğday unu piyasadan temin edilmiştir. Öncelikle kullanılan unun tespit edilebilir limitin altında toksin içerdiğinin kontrol edilmesi için örneklerde OTA analizi yapılmıştır.

Ekmek yapımında; OTA içermediği tespit edilen unlardan 50'şer gram alınarak unlar ayrı ayrı 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  düzeylerinde kontamine edilmiş ve ekmek yapımı süresi boyunca her bir aşamada başlangıçtaki OTA düzeyindeki azalmalar ölçülmüştür. Örnekler hamur yapımından, hamur fermantasyonundan ve pişirme işleminden sonra alınmış ve tüm bu aşamalardan alınan örneklerde OTA miktarı

incelenmiştir. Yapılan bu analiz sonucunda unda bulunan başlangıçtaki OTA seviyelerine göre hamurda, fermente hamurda ve ekmekte tespit edilen OTA seviyeleri karşılaştırılmıştır. Denemeler iki paralelli üç tekerrürlü gerçekleştirilmiş olup, toplamda 48 örnek analiz edilmiştir.

#### Örneklerin Ekstraksiyonu

Çalışmamızda un, hamur ve ekmek örneklerinin ekstraksiyonu için çalışılacak metot gerekli literatür araştırmalarından (Juan vd., 2008; Kabak, 2009; Bento vd., 2009; Entwisle vd., 2000) sonra bazı modifikasyonlarla AOAC Official Method 2000.03'e göre uygulanmıştır.

Analize alınan un, hamur ve ekmek örnekleri 25 g olarak tartılıp üzerine asetonitril-su karışımı eklenerek blenderda 2 dakika (dk.) yüksek devirde (22.000 rpm) karıştırılmıştır. Un ve ekmek örnekleri için 25 g örneğe 100 ml asetonitril: su (60:40) karışımı eklenerek, hamur örneklerine ise 50 ml asetonitril:su (30:20) karışımı ilave edilerek homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Blenderdaki karışımın homojenizasyonu sağlandıktan sonra 4 numaralı Whatman filtre kâğıdından süzölmüştür. Süzme işleminden sonra elde edilen filtratın 10 ml'si ile 40 ml PBS karıştırılmıştır. Bu karışımın 10 ml'si alınarak vakum manifold yardımı ile OTA'ya karşı spesifik antikorlar içeren immunoaffinity kolondan dakikada 1 ml hızla olacak şekilde geçirilmiştir. Daha sonra immunoaffinity kolon sırasıyla 10 ml PBS ve 10 ml ultra saf su kullanılarak yıkanmış ve kolon şırınga aracılığıyla hava ile kurutulmuştur. Spesifik antikorlara bağlı halde bulunan OTA kolondan 1.5 ml metanol ve 1.5 ml ultra saf su geçirilerek 10 ml lik viallere alınmıştır.

#### HPLC-FD ile Okratoksin A Tayini

Çalışmamızda ekstraksiyonu yapılan un, hamur, fermente hamur ve ekmek örneklerindeki OTA varlığı analizi Floresan dedektörlü HPLC (HPLC-FLD) (Agilent-1100) cihazında yapılmıştır. Bu sistemde CSI-6150 online vakum degaser (Cambridge, İngiltere), izokratik pompa (G 1310 A9, Agilent) ve otomatik enjeksiyon sistemi yer almaktadır. OTA analizi için aşağıdaki HPLC koşulları uygulanmıştır.

Kolon: C18 (250x4.6 mm, 5 µm, Advanced Chromatography Technologies, İskoçya)  
Hareketli faz: Asetonitril/su/ asetik asit (48/51/1, vol/vol/vol)  
Hareketli faz akış hızı: 1 ml/dk  
Basınç: Minimum 0 bar, maksimum 200 bar  
Analiz süresi: 15 dakika  
Alıkonma zamanı: 11.2-12.4 dakika  
Enjeksiyon miktarı: 100 µl  
Excitation (uyarıcı dalga boyu): 333 nm  
Emission (yayılan dalga boyu): 443 nm  
Kolon sıcaklığı: 40°C

HPLC-FLD'de analizi yapılan örneklerin OTA konsantrasyon düzeylerini tespit etmek amacıyla değişik konsantrasyonlarda hazırlanan OTA standart çözeltileri HPLC kolonuna enjekte edilmiştir. Kalibrasyonda OTA standart çözeltilerinden hazırlanmış olan 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 µg/kg olmak üzere 5 farklı konsantrasyon kullanılmıştır. HPLC kolonuna enjekte edilen OTA standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre cihazda bulunan yazılım "Chemstation software (Agilent) paket programı" kullanılarak 5 farklı noktadan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur ( $r^2=0.9997$ ). Un, hamur, fermente hamur ve ekmek örneklerindeki OTA varlığı hazırlanan bu kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

### Geri Kazanım, Tespit ve Ölçüm Limiti Çalışmaları

Analize alınan ve OTA açısından sorunsuz olduğu görülen un numuneleri tespit limiti ve geri kazanım çalışmaları için kullanılmıştır. Tespit limiti çalışması için OTA açısından sorunsuz olan un numunelerine OTA konsantrasyonları 5 µg/kg ve 10 µg/kg olacak şekilde toksin eklenerek geri alma çalışmaları yapılmıştır.

% Geri Kazanım aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = (a / b) \times 100$$

a = Cihazda okunan OTA konsantrasyonu değeri  
b = Numuneye ilave edilen OTA konsantrasyonu  
Tespit ve ölçüm limitlerinin belirlenmesinde sinyal-gürültü oranı baz alınmış olup, sinyal/gürültü oranının 3 katı tespit limiti (LOD), 10 katı ise ölçüm limiti (LOQ) olarak çalışılmıştır.

Tespit ve ölçüm limitleri 0.25 µg/kg ve 0.75 µg/kg olarak belirlenmiştir.

OTA'nın standart eğrisinin belirtme katsayısı 0.9997 olarak bulunmuştur. Un örnekleri OTA ile iki farklı konsantrasyonda (5 µg/kg ve 10 µg/kg) kontamine edilmiştir. Ortalama geri kazanım oranları 5 µg/kg konsantrasyon için %76 iken, 10 µg/kg konsantrasyon için %93 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda oluşturulan metot, Avrupa Komisyonu ve Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Mikotoksinlerin Seviyesinin Resmî Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliğine göre yapılmış ve elde ettiğimiz sonuçlar tebliğde yer alan OTA için yapılan kabul edilebilir geri kazanım değerleri; 1 µg/kg'den az olan konsantrasyonlar için %50-120 ve 1-10 µg/kg aralığındaki konsantrasyonlar için %70-110 olarak belirlenen değerlere uygun bulunmuştur.

### Ekmek Yapım Aşamalarında OTA Miktarındaki Değişimler

Ekmek yapımında kullanılan 50'şer gram un ayrı ayrı 5 µg/kg ve 10 µg/kg düzeylerinde OTA ile kontamine edilmiştir. Ekmek yapım süreci boyunca; elde edilen hamurdan, fermente hamurdan ve pişirilmiş ekmekten örnekler alınarak OTA miktarı incelenmiştir. Yapılan bu analiz sonucunda una aşılansız 5 µg/kg ve 10 µg/kg OTA seviyelerindeki azalma hamurda, fermente hamurda ve ekmekte ölçülen OTA seviyeleri ile karşılaştırılmıştır.

Denemeden elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de gösterilmiştir. Çizelge 1'de görüleceği üzere, unun 5 µg/kg'lik OTA ile kontamine edilmesi durumunda hamur yapımı sonunda OTA miktarı 2.76 µg/kg ve hamur fermentasyonu sonunda 1.35 µg/kg iken; pişirme sonunda OTA miktarı 0.635 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

Unun 10 µg/kg ile kontamine edilmesi ile gerçekleştirilen ekmek yapımında hamurda OTA miktarı 7.36 µg/kg ve hamur fermentasyonu sonunda fermente hamurda OTA miktarı 4.69 µg/kg iken; pişirme sonunda OTA miktarı 2.37 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

## Ekmek prosesinde okratoksin A varlığının incelenmesi

Çizelge 1. OTA ile kontamine edilmiş unla yapılan çalışma sonuçları  
Table 1. Results of work with flour contaminated with OTA

Örnekler Examples	OTA konsantrasyonu OTA concentration (mean $\pm$ SD*, $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	OTA konsantrasyonu OTA concentration (mean $\pm$ SD*, $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
UN flour	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (başlangıç) 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (started)	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (başlangıç) 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (started)
Hamur dough	2.76 $\pm$ 0.36 <sup>Aa**</sup>	7.36 $\pm$ 0.33 <sup>Ba</sup>
Fermente Hamur fermented dough	1.35 $\pm$ 0.11 <sup>Ab</sup>	4.69 $\pm$ 0.20 <sup>Bb</sup>
Ekmek bread	0.63 $\pm$ 0.07 <sup>Ac</sup>	2.37 $\pm$ 0.22 <sup>Bc</sup>

\*SD, Standart sapma

\*SD, Standard deviation

\*\*Çizelgede farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

\*\*Differences between the values shown in the table with different letters are important according to 0.05 confidence limits.

NOT: Satırlar kendi içinde incelendiklerinde farklı büyük harfi taşıyanlar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre fark vardır. Sütunlar kendi içinde incelendiklerinde farklı küçük harfi taşıyanlar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre fark vardır.

NOTE: There are differences between the Duncan multiple comparison test between the different capital letters when the lines are examined in themselves. When the columns are examined in themselves, there is a difference according to the Duncan multiple comparison test among the different lower case

Çizelge 1'e göre iki farklı konsantrasyon (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ayrı ayrı incelendiğinde, hamur yapımı, hamur fermantasyonu ve pişirme aşamaları sonunda elde edilen OTA konsantrasyonları (OTA konsantrasyon miktarına göre) farklı büyük harfi taşıyan (A, B) işlem basamakları arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre farkın önemli olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Çalışmamızda kullanılan iki farklı konsantrasyon için (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ve 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) hamur yapımı, hamur fermantasyonu ve pişirme aşamaları kendi aralarında incelendiğinde (örnekler arası) farklı küçük harfleri taşıyan (a, b, c) OTA konsantrasyonları arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre fark görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Satırların kendi içinde incelenmesi sonucunda görülen farklılık unda bulunan başlangıç OTA seviyesi ile ilişkili olup, unda bulunan OTA seviyesi ne kadar az oranda ise ekmek yapım aşamaları sonunda bu oran daha düşük seviyelere indirgenebilmektedir. Hamur, fermente hamur ve

ekmek örneklerinde tespit edilen edilen OTA seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmaktadır. OTA seviyesindeki azalma olarak görülen bu farklılık hamur yapımında kontamine edilmiş una diğer bileşenlerin (özellikle su) ilavesi ile oluşan seyrelmeden kaynaklanmaktadır. Bunun yanı sıra, hamur fermantasyonu sonunda OTA seviyesi başlangıç seviyeye göre daha da azalmıştır. Bu aşamada, belirli bir sıcaklık ve süre normunda (30  $\pm$ 1°C, 75 dk) fermantasyonun gerçekleştirilmesi için kullanılan *S.cerevisiae* mayasının etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan çeşitli araştırmalar mayanın belli bir yüzde de olsa toksini bağlayıcı ve degrade edici özelliği olabileceğinden söz etmektedir. Var ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada 10<sup>8</sup> CFU/mL mayaların 10 ng OTA içeren beyaz şarapta maksimum % 21.40 azalttığını bildirmişlerdir. Böhm ve arkadaşları (2000) tarafından, *Saccharomyces cerevisiae*'nin OTA'yı degrade edebilme özelliği üzerine yapılan bir diğer çalışmada ise 0.05 mg OTA/L'nin ancak %38'ini degrade edilebildiğini ve degradasyon

metabolitlerinin ise bu aşamada neler olabileceğinin henüz araştırılmadığını bildirmişlerdir. Yine bazı araştırmacılar (Valle-Algarra vd., 2009; Scudamore vd., 2003; Cecchini, 2006; Armando vd., 2013) hamur fermantasyonunda görülen bu OTA düzeyindeki azalmanın kullanılan *S.cerevisiae* mayasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Pişirme ile ( $240 \pm 5^\circ\text{C}/30$  dk) bu konsantrasyon daha da azalmış ve yasal limitlerin altına düşmüştür. OTA erime noktası  $169^\circ\text{C}$  olduğundan kullanılan pişirme sıcaklığında her ne kadar ekmek içindeki sıcaklık pişirme sıcaklığının altında kalmaktaysa da fırın içi sıcaklığından dolayı OTA'nın zarar görebileceği düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada da sonuçta OTA azalmasının en çok pişirme sürecinde olduğu görülmektedir. Her iki OTA konsantrasyondaki bu azalışa baktığımızda ekmekte tespit edilen OTA miktarının yasal limitlerin altında kalmasını sağladığı görülmüştür.

Una ilave edilen  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  konsantrasyonundaki OTA ile yapılan çalışmada ekmek yapım süresince görülen OTA düzeyindeki azalma oranı hamur yapımı sonunda %44.8, hamur fermantasyonu sonunda %51.08 ve pişirme sonrasında %53.3 olarak görülmüştür.

Una  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  konsantrasyonunda OTA aşılması ile yapılan çalışmada ise; OTA miktarındaki azalma oranı ortalama olarak hamur yapımı sonunda %35.86 ve hamur fermantasyonu sonunda %36.27 iken pişirme sonunda bu oran %49.46 olarak tespit edilmiştir.

Una OTA aşılması yapılarak ekmek yapım sürecinin OTA üzerindeki etkisini inceleyen Valle-Algarra ve ark. (2009),  $29-30^\circ\text{C}$ 'de bir saat boyunca yapılan hamur fermantasyonunda OTA seviyesindeki azalmanın %29.5 ve %33.5 aralığında gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda hamur fermantasyonundan sonra, ekmek hamuruna  $240^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika boyunca pişirme işlemi uygulanmıştır. Pişirme işlemi sonunda elde edilen OTA düzeyindeki azalma oranı  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$  ve  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  konsantrasyonları için

sırasıyla %53.3 ve %49.46 olarak tespit edilmiştir. Una OTA aşılması yapılarak ekmek yapım sürecinin OTA üzerindeki etkisini inceleyen Valle-Algarra ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada ise farklı OTA konsantrasyonları ( $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) üzerine fermantasyondan sonra farklı sıcaklık ve süre kombinasyonlarında ( $190^\circ\text{C}/50$  dk,  $207^\circ\text{C}/40$  dk,  $223^\circ\text{C}/35$  dk,  $240^\circ\text{C}/30$  dk) pişirme işlemi uygulanmış ve pişirme sonunda OTA'nın ortalama azalma oranı %32.9 olarak tespit edilmiştir. Farklı sıcaklık ve süre kombinasyonlarının OTA üzerindeki etkisinin incelendiği bu çalışmada en iyi azalma oranının  $223^\circ\text{C}/35$  dk pişirme koşullarında gerçekleştiği bildirilmiş olup, bu OTA düzeyindeki azalma oranının %25 ile %45 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Ekmek yapım aşamalarının OTA seviyesi üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmamızda OTA yıkımı üzerine en belirgin azalma oranı fermantasyon ve pişirme aşamalarında görülürken, pişirme işleminin OTA yıkımı üzerindeki etkisi daha yüksek oranda bulunmuştur. Ekmek yapım süreci sonunda elde edilen son ürünlerdeki OTA değerlerinin Avrupa Birliği ülkelerinde ve Türk Gıda Kodeksi'nde kabul edilebilir maksimum OTA miktarının  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  olduğu göz önüne alındığında yasal limitlerin altında olduğu görülmektedir. Ancak ekmek hammaddesi olan unda OTA miktarı arttıkça son ürün olan ekmekte toksinin kalma oranı o oranda arttığı yapılan bu çalışmada da gösterilmiştir (Bkz Çizelge1).

Ülkemizin farklı bölgelerinde tahıl ve tahıl unlarında OTA düzeylerinin araştırıldığı çalışmalara baktığımızda (Karagözlü ve Karapınar, 2000; Baydar vd., 2005; Özturan vd., 2007) Türkiye'de ve Avrupa birliğinin tahıl ve türevlerinde OTA için tolere edilebilir maksimum değerlerden ( $3 \text{ ng}/\text{g}$ ) yüksek olması durumunda ya da bu gıdalardaki OTA seviyesinin yasal limitlerin altında olması durumunda tüketimin fazla olması nedeniyle sağlık açısından risk oluşturabilmektedir. Kabak (2009)'da Adana'da yaptığı bir çalışmada çeşitli tahıl ürünlerinde OTA'ya

rastladığını ve tespit edilen değerlerin Avrupa birliğinin tahıl ve türevlerinde OTA için tolere edilebilir maksimum değerlerinden (3 ng/g) düşük bulunmasına rağmen tahıl ve türevlerinin tüketim oranının yüksek olması nedeniyle sağlık yönünden risk oluşturulabileceğinin önemini vurgulamıştır. Avrupa'nın diğer ülkelerine kıyasla Türkiye'de fazla tüketilen tahıl ürünlerinin çeşitliliği de göz önüne alındığında, tahılların OTA seviyesindeki minimum artışlarda bile büyük sağlık sorunlarına neden olabileceği bildirilmiştir.

Bu nedenle bu ürünlere OTA üreten küflerin bulaşmasını engellemek ve OTA sorunu yaşamamak için üniversiteler, tahıl yetiştiricileri, unlu mamul sanayi ve diğer ilgili kurumlar işbirliği yapmalı, alınması gereken önlemler ve uygulama olanakları araştırılmalı, iyi tarım uygulamaları (GAP) ve HACCP uygulamaları entegre şekilde kullanılmalıdır. Ayrıca ülkemizde tahıl ve tahıl ürünlerinin OTA ve diğer mikotoksinler açısından risk oluşturup oluşturmadığı tarlada, depolarda ve nihai ürünlerde araştırılmalı ve elde edilen bulgular ile tarım ve sanayi açısından sorun çözülmeye çalışılmalıdır.

### TEŞEKKÜR

Bölümümüzde yürütülen "Ekmek yapım aşamasında fermantasyon ve pişirmenin okratoksin A üzerine etkisinin incelenmesi" projesi kapsamında oluşturulan bu çalışmanın gerçekleşmesindeki desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

Anonymus, 2006. Ochratoxin A in Food, May 2006. Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. <http://www.cfs.gov.hk> (Erişim Tarihi: 10.02.2013).

Anonymus, 2007. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Mikotoksinlerin Seviyesinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 26.04.2007 tarih ve 26504 sayılı resmi gazete.

Anonymus, 2008. TGK Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. 17.05.2008-26879.

AOAC, 2000. Ochratoxin A in Barley Immunoaffinity By Column. *J AOAC Int.*, 83, s.1377.

Armando MR, Dogi CA, Poloni V, Rosa CAR, Dalcero AM, Cavaglieri LR. 2013. Invitro study on the effect of *Saccharomyces cerevisiae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum*. *Int J Food Microbiol*, 161,s.182–188.

Baydar T, Engin AB, Girgin G, Aydın S, Şahin G. 2005. Aflatoxin and ochratoxin in various types of commonly consumed retail ground samples in Ankara, Türkiye. *Ann Agric Environ Med.*, 12:193-197.

Bento JMV, Pena A, Lino CM, Pereira J. 2009. Determination of Ochratoxin A Content in Wheat Bread Samples Collected From Alvarge and Bragança Regions, Portugal: Winter 2007. *Microchem J*, 91, s.165-169.

Böhm J, Grajewski J, Asperger H, Cecon B, Rabus B, Razzazi E. 2000. Study on Biodegradation of Some A- and B-Trichothecenes and Ochratoxin A by Use of Probiotic Microorganisms. *Mycotoxin Res*, 16(1), s.70-74.

Cecchini, F, Morassut M, Garcia-Moruno E, Di Stefano R. 2006. Influence of yeaststrain on ochratoxin A content during fermentation of white and red must. *Food Microbiol*, 23, s.411–417.

Çelik, C. 2008. Adana'da bazı marketlerde satışı sunulan çekirdeksiz kuru üzümde okratoksin A varlığının HPLC yöntemi ile araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 55 s.

Duarte SC, Pena A, Lino CM. 2010. A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. *Food Microbiol*, 27, s. 187-198.

EC (European Commission), 2002. Commission Directive 2002/26/EC of 13 March 2002 Laying down the sampling methods and the methods of

- analysis for the official Control of the levels OTA in foodstuffs. *Off J the Eur Communities*, L75, s.38-43.
- Entwisle AC, Williams AC, Mann PJ, Slack PT, Gilbert J. 2000. Liquid Chromatographic Method with Immunoaffinity Column clean-up for Determination of Ochratoxin A in Barley: collaborative study. *J AOAC Int*, 83,s.1377-1383.
- Girgin G, Başaran N, Şahin G. 2001. Dünyada ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. Derleme. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 58(3), 97-118.
- Gölge, Ö., Kabak, B., 2016. First report: Exposure estimates to ochratoxin A through wheat bread and rice intake in Turkey. *J Cereal Sci*, 69, 213-217.
- Juan C, Pena A, Lino CM, Molto JN, Manes J. 2008. Levels of Ochratoxin A in Wheat and Maize Bread from the Central Zone of Portugal, *Intl J Food Microbiol*, 127, s.284-289.
- Kabak, B., 2009. Ochratoxin A in Cereal-derived products in Turkey. Occurrence and Exposure assessment. *Food Chem Toxicol*, 47, 348-352.
- Karagözü N, Karapınar M. 2000. Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin A ve Fungal Kontaminasyon. *Türk J Biol*, 24, s. 561-572.
- Koç, N.F., 2017. Adanada fırın ve marketlerde satışa sunulan ekmeklerde okratoksin A varlığının HPLC yöntemi ile araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana. 60 s.
- Özturan K, Ünsal C, Karakaya Y, Atasever M, Ceylan ZG, Aydemir Atasever M, Demirkaya AK. 2007. Erzurum’da tüketime sunulan buğday unlarının toplam aflatoksin, aflatoksin B1 ve okratoksin A yönünden incelenmesi. Ankara Üniversitesi, *Vet. Bil. Derg.*, 2(4): 172-176.
- Pohland AE, Nesheim S, Friedman L. 1992. Ochratoxin A, a review. *Pure Appl Chem*, 64, s.1029-1046.
- Scudamore KA, Banks J, Macdonald SJ. 2003. Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production. *Food Addit Contam*, 20 (12), s.1153–1163.
- Valle-Algarra FM, Mateo EM, Medin, A, Mateo AF, Gimeno Adelantado JV, Jiménez M. 2009. Changes in ochratoxin A and type B Trichothecenes contained in wheat flour during dough fermentation and bread-baking. *Food Addit Contam*, 26, s.896-906.
- Var, I., Erginkaya, Z., Kabak, B. Reduction of Ochratoxin A levels in white wine by Yeast Treatments. *J Inst Brew*, Vol:115. Issue:1, 30-34 (2009).
- Zinedine A, Juan C, Idrisi L, Manes J. 2007. Occurrence of ochratoxin a in bread consumed in Morocco. *Microchem J*, 87, s.154-158.





## ***Zymomonas mobilis* LEVANSUKRAZ ENZİMİNİN LEVAN ÜRETİMİNDE KULLANILMASI**

**Güler Sözgen<sup>1</sup>, Gökçenaz Özdoğan<sup>2</sup>, Burcu Kaplan Türköz<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye

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

Geliş / *Received*: 09.08.2018; Kabul / *Accepted*: 22.11.2018; Online baskı / *Published online*: 07.12.2018

Sözgen, G., Özdoğan, G., Kaplan Türköz, B. (2018). *Zymomonas mobilis* levansukraz enziminin levan üretiminde kullanılması. *GIDA* (2018) 43 (6): 1061-1074 doi: 10.15237/gida.GD18087

*Sözgen, G., Özdoğan, G., Kaplan Türköz, B. (2018). Use of Zymomonas mobilis levansucrase in levan production. GIDA (2018) 43 (6): 1061-1074 doi: 10.15237/gida.GD18087*

### **ÖZ**

Levan gıda, kozmetik ve ilaç sanayi gibi birbirinden farklı endüstrilerde kullanım alanına sahip bir fruktoz polimeridir. Levansukrazlar sakkarozu substrat olarak kullanarak fruktoz polimerleri oluşumunu katalizleyen enzimlerdir. Bakteriler tarafından hücre dışına salgılanan levansukrazlar bakterinin yüksek sakkaroz konsantrasyonunda levan ve/veya fruktoooligosakkarit polimerlerini sentezlemesini sağlar. Bu çalışmada *Zymomonas mobilis* NRRL B-14023 kullanılarak levansukraz enziminin üretilmesi ve levan polimeri üretme koşulları incelenmiştir. Yapılan çalışmada *Z. mobilis* levansukrazı üretilmiş ve ham enzimin levan aktivitesi gösterilmiştir. Levansukraz, *Z. mobilis* B-14023 hücreleri tarafından 36 saat boyunca 30.3 °C'de 159 g/L sakkaroz, pH 4.91 ortamında statik kültürde üretilmiştir. Levansukrazın levan üretimi için optimum inkübasyon süresi ve sıcaklığı 24 saat ve 25 °C olarak bulunduktan sonra aktiviteye etki eden faktörler araştırılmıştır. Artan NaCl konsantrasyonunda levan üretiminde azalma olduğu görülmüştür. Ayrıca 10 mM EDTA ve MgCl<sub>2</sub> varlığında enzimin levan üretim aktivitesinde azalma olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak *Z. mobilis* NRRL B-14023 levansukrazı ile ortalama 62.42 g/L levan üretilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Zymomonas mobilis*, Levansukraz, Levan

### **USE of *Zymomonas mobilis* LEVANSUCRASE IN LEVAN PRODUCTION**

#### **ABSTRACT**

Levan has a wide range of uses in different industries such as food, cosmetics and pharmaceutical. Levansucrases are enzymes, which catalyze the formation of fructose polymers using sucrose as substrate. Levansucrases are produced and secreted by bacteria and enable them to synthesize levan/fructooligosaccharides in medium containing high sucrose concentrations. In this study, *Zymomonas mobilis* levansucrase was produced and its levan activity was investigated. Levansucrase was produced by *Z. mobilis* NRRL B-14023 cells in static culture in medium with 159 g/L sucrose, pH 4.91 at 30.3 °C for 36 h. The optimum incubation time, temperature of crude enzyme for levan production were found as 24 h and 25 °C. The levan production of levansucrase decreased with increasing NaCl concentrations. Furthermore the presence of 10 mM EDTA and MgCl<sub>2</sub> showed an inhibitory effect on levan production. As a result, on average 62.42 g/L levan was produced using *Z. mobilis* NRRL B-1423 levansucrase.

**Keywords:** *Zymomonas mobilis*, Levansucrase, Levan

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ burcu.kaplan.turkoz@ege.edu.tr

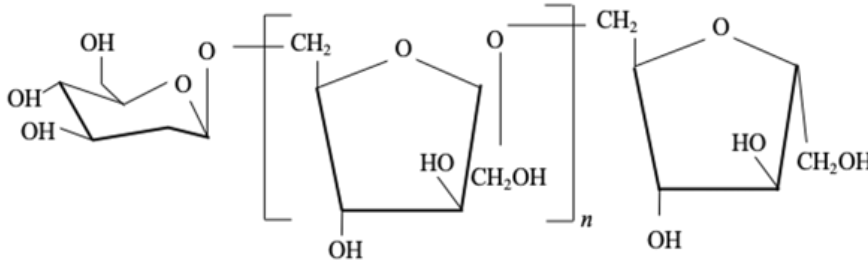
☎ (+90) 232 311 3011

☎ (+90) 232 311 4831

## GİRİŞ

Fruktanlar sakkarozdan türetilen fruktoz polimerleridir (Ritsema ve Smeekens, 2003). Fruktanlar gıda endüstrisinde oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. İnülin tipi fruktanlar tatlandırıcı, yağ ikamesi, tekstür düzeltici, stabilizatör ve jelleştirici olarak, ekmekçilikte, pastacılıkta, bebek mamalarında, dondurma ve tatlılarda kullanılmaktadır (Roberfroid, 2000). Levan tipi fruktanlar ise hem suda hem yağda

çözünebilir olmaları, yüksek molekül ağırlığı ve düşük viskoziteye sahip olmaları, oda sıcaklığında su içinde şişmemeleri gibi bir çok özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde jelleştirici ajan, emülgatör, stabilizatör ve kıvam arttırıcı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir (Arvidson vd., 2006; Srikanth vd., 2015a). Levan, ana zincire D- fruktofuranosil halkalarının  $\beta$ -(2,6) bağları ile bağlanmasından oluşan doğal bir fruktoz polimeridir (Bekers vd., 2005) (Şekil 1).



Şekil 1: Levan polimerinin kimyasal yapısı.

Figure 1: Chemical structure of levan polymer.

Levan polimerinin ticari üretiminin ABD'de 1930'lu yıllarda başladığı bildirilmiştir (Srikanth vd., 2014). Levan, gıda, kozmetik, ilaç gibi birbirinden farklı endüstrilerde kullanım alanı bulmuştur (Ergene ve Avcı, 2016). Levan kimyasal özellikleri sayesinde diğer moleküllerle kovalent bağ yapabilir ve fonksiyonel polimerlerin oluşumuna olanak sağlar. Örneğin levan fosfatın bu özelliği ile yağ ikamesi olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (Roberts ve Garegg, 1998). Levanın yağ ikamesi olarak kullanılmasında yüksek molekül ağırlığı ile tat reseptörleri tarafından algılanamayacak kadar büyük olması ve uçuculuk özelliğinin algılanabilir seviye için çok düşük olması da avantaj sağlamaktadır (Xiao vd., 2014). Ekmek ile ilgili yapılan bir çalışmada levanın mikrojel oluşturmasının raf ömrünün uzamasına etkili olduğu bulunmuştur. Buğday ekmeğine en az %1 oranında levan eklendiğinde kontrole kıyasla %18-26 oranında daha yumuşak ekmek elde edildiği gösterilmiştir (Jakob vd., 2012). Levanın biyobozunur ambalaj malzemesi olarak da kullanılabilmesi bildirilmektedir. Levanın yapısında uzun esnek parçalar bulunmadığı için levan polimerinden yapılan filmler kullanım için çok kırılmandır ancak kil veya diğer plastikleştiricilerle birlikte kullanılması bu

soruna çözüm bulunmuştur (Vijayendra ve Shamala, 2014). Bütün bu özelliklerinin yanında levan ayrıca prebiyotik özellik de göstermektedir (Ki-Hyo vd., 2003). Anti-irritan, antioksidan ve antienflamatuar aktiviteleri de olduğu için levan tıbbi açıdan da değerli bir polimerdir (Öner vd., 2016).

Levan üretimi mikrobiyal fermantasyon ile yapılabilmektedir. *Zymomonas mobilis* fermantasyonu sonrası elde edilen üst fazlarda doğrudan levan bulunduğu gösterilmiştir (Silbir vd., 2014). Silbir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Z. mobilis* ile levan üretimi koşulları optimize edilmiştir ve 299.1 g/L başlangıç substrat (sakkaroz) konsantrasyonu, 42.3 saat inkübasyon süresi ve pH 6.0 başlangıç değerinde maksimum levan konsantrasyonu olan 40.2 g/L'ye ulaşıldığı belirtilmiştir. *Bacillus subtilis* (Natto) Takahashi kullanılarak yapılan bir çalışmada 200 g/L sakkaroz konsantrasyonu, 37 °C'de pH 7.0 değerinde 21 saat inkübasyon süresi sonunda 49.4 g/L levan elde edildiği bildirilmiştir (Shih vd., 2005). İmmobilize *B. subtilis* (Natto) Takahashi kullanılarak da 72 saat inkübasyon süresinde 70.6 g/L levan üretimi gerçekleştirildiği

bildirilmiştir (Shih vd., 2010). *Bacillus licheniformis* NS032 kullanılan bir çalışmada 96 saat inkübasyon sonunda 47.8 g/L levande elde edildiği (Kekez vd., 2015), *Acetobacter xylinum* NCIM 2526 kullanılarak da 60 saat sonunda 13.25 g/L levande elde edildiği (Srikanth vd., 2015b) bildirilmiştir.

Mikroorganizmaların sakkaroz fermantasyonu sırasında levan üretimlerini sağlayan hücre dışına salgıladıkları levansukraz enzimleridir.

Levansukrazlar, sakkarozu parçalayan ve açığa çıkan fruktozları şeker polimerlerine dönüştüren enzimlerdir. Bakteriler tarafından hücre dışına salgılanan levansukrazlar bakterinin yüksek sakkaroz konsantrasyonunda FOS ve levan polimerlerini sentezlemesini sağlar. Levansukrazlar mikrobiyal kökenlerine ve reaksiyon koşullarına bağlı olarak uzun levan polimerleri ya da FOS üretirler (Öner vd., 2016). Levansukraz enzimi çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilir ve bunlardan *B. subtilis* (Chambert vd., 1974), *Acetobacter diazotrophicus* (Hernandez vd., 1995), *Erwinia amylovora* (Caputi vd., 2013), *Pseudomonas syringae* pathovar (Hettwer vd., 1995) ve *Z. mobilis* (Erdal vd., 2017; Santos-Moriano vd., 2015) levansukrazları karakterize edilmiştir. Enzim aktivitesi için önemli değişkenler sakkaroz konsantrasyonu, pH ve sıcaklıktır. *Z. mobilis* levansukrazının reaksiyon koşullarına bağlı olarak hem FOS hem de levan ürettiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada 4-40 °C arasındaki reaksiyonlar incelenmiş ve 4 °C'de en yüksek levan verimi elde edildiği, sıcaklık yükseldikçe FOS üretiminin arttığı bildirilmiştir (Santos-Moriano vd., 2015). Başka bir çalışmada *Z. mobilis* levansukrazın pH 5.4 tamponunda ve 45 °C'de FOS aktivitesi olduğu gösterilmiştir (Erdal vd., 2017). *B. subtilis* levansukrazı pH 6'da ve 22 °C'de levande üretirken (Chambert vd., 1974), *E. amylovora* levansukrazı pH 6.5 tamponunda ve 37 °C sıcaklıkta FOS üretmektedir (Caputi vd., 2013). Doğrudan saflaştırılmış levansukraz enzimlerinin kullanılmasıyla levande üretimi ile ilgili literatürde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Örneğin *B. subtilis*'ten levansukraz üretimi ve enzimatik levande sentezi incelenmiştir. Artan protein konsantrasyonlarında levande üretiminin arttığı ve 1000 µg/mL enzim kullanılarak %84 verimle

levande üretilebileceği bildirilmiştir (Abdel-Fattah vd., 2005). Enzimatik levande üretimi; düşük yan ürün oluşması, üretimin kontrollü olması ve istenilen sürede gerçekleşmesi nedeniyle avantajlıdır. Bu çalışmada *Z. mobilis* levansukraz enziminin eldesi ve ham enzim ile levande üretim koşulları araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

di-nitro salisilik asit (DNS) ve diğer bütün analitik saflıktaki kimyasallar Sigma-Aldrich ya da Merck'ten temin edilmiştir.

### Mikroorganizma ve Üreme Koşulları

Bu çalışmada kullanılan *Z. mobilis* NRRL B-14023 hücresi Agricultural Research Service Culture Collection (Peoria, USA)'dan temin edilmiştir. Mikroorganizma, taze stok besiyeri ortamında (glukoz; 20 g/L, bacto peptone; 10 g/L, maya özütü; 10 g/L) 28 °C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası %50 gliserol ile karıştırılarak -86 °C'de dondurularak saklanmıştır.

### *Z. mobilis* Levansukraz Fermantasyonu

Taze stok besiyeri ortamında geliştirilen *Z. mobilis*, %5(v/v) oranında aşı kültür ortamına (sakkaroz; 50 g/L, maya özütü; 7 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 2.5 g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1.6 g/L, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1 g/L, pH 5.0) ekilmiş ve 28 °C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında aşı kültürden %5(v/v) oranında üretim ortamına (sakkaroz; 159 g/L, maya özütü; 2.5 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 2 g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 2 g/L, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1 g/L, pH 4.91) inokülasyon yapılmıştır. Fermantasyon, içerisinde 200 mL üretim ortamı bulunan 1 L erlenlerde statik kültür olarak 30.3 °C'de yapılmıştır. Fermantasyon süresince farklı zamanlarda örnek alınarak hücre yoğunluğu, protein miktarı ve levansukraz aktivitesi ölçülmüştür.

### Hücre Yoğunluğu

Fermantasyon ortamındaki hücrelerin yoğunluğu Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda belirlenmiştir.

### Ham Enzim Eldesi

Hücre dışına salgılanan enzimin eldesi, hücre dışı proteinlerin hücrelerden ayrılması yoluyla gerçekleşmiştir. Fermantasyon sonrasında hücrelerin uzaklaştırılması için iki farklı yöntem denenmiştir. Santrifugasyon yönteminde fermantasyon sonrasında alınan üretim ortamları 4 °C'de 6500 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve temiz üst faz ham enzim olarak ayrılmıştır. Filtrasyon yönteminde ise fermantasyon sonrası üst faz 0.22 µm selüloz asetat filtreden geçirilmiş ve temiz alt faz ham enzim olarak ayrılmıştır.

### Enzim Aktivite Tayini

Levansukraz aktivitesi, açığa çıkan indirgen şeker (glukoz ve fruktoz) ya da glukoz miktarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. İndirgen şeker miktarı Miller'ın DNS yöntemine göre belirlenmiştir (Miller, 1959). 250 µL seyreltilmiş enzim örneği 0.5 M sakkaroz içeren 750 µL tampon A (22 mM sitrat-fosfat, pH 5.4) ile karıştırılmış ve 35 °C su banyosunda 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. 3 mL DNS (3,5-di-nitro salisilik asit) çözeltisi eklendikten hemen sonra, örnek 100 °C su banyosunda 5 dakika boyunca kaynamaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığına getirilen örneklerin 540 nm'deki absorbans değerleri GENESYS 10S UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Örnekteki indirgen şeker miktarı glukoz standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Bir birim levansukraz aktivitesi, dakikada 1 µmol indirgen şekeri açığa çıkaran enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

### Elektroforez

Protein saflığı ve moleküler kütlesi SDS-poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlenmiştir (Laemmli, 1970). Hücrelerden ayrılan ham enzim liyofilize edilmiş ve elde edilen toz, tampon A'da çözülmüştür. Ultrafiltrasyon üniteleri (Amicon 500, NMWCO 10 kDa) kullanılarak santrifugasyon ile 30 kat konsantre edilmiş, %12 akrilamid jelde yürütülmüş ve Coomassie Brilliant Blue G-250 ile boyanmıştır (Lawrence ve Besir, 2009).

### Zimogram

Jel üzerinde enzim aktivitesi zimogram (P. O'Mullan vd., 1991) ile belirlenmiştir. 100 µg protein içeren 40 µL örnekler denatüre edici

olmayan %10'luk poliakrilamid jelde yürütülmüş %5 sakkaroz içeren tampon A ile gece boyu inkübasyona bırakılmıştır.

### Protein Tayini

Protein miktarı Bradford yöntemi ile belirlenmiştir (Bradford, 1976). 200 µL Bradford boya çözeltisi üzerine 4 µL örnek ilave edilerek Thermo Scientific Multiscan Go sistemde 96 kuyulu plakalarda 595 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. BSA ile oluşturulan standart eğri denklem kullanılarak protein miktarı hesaplanmıştır.

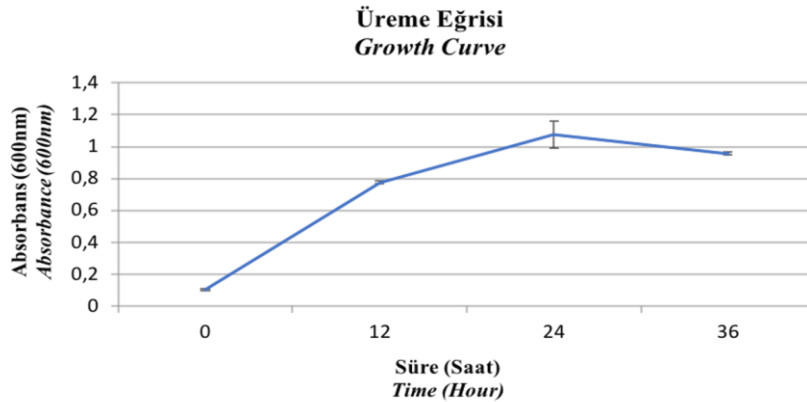
### Levan Üretimi ve Miktar Tayini

Levan üretimi için 30 birim enzim 0.2 M sakkaroz içeren tampon A (22 mM sitrat-fosfat, pH 5.4) ile karıştırılmıştır. Levan üretimi iki farklı sıcaklıkta (15 °C ve 25 °C) su banyosunda, toplam 15 mL hacimde gerçekleştirilmiş ve farklı zaman aralıklarında örnek alınmıştır. Reaksiyon sonucu oluşan levan miktarı iki farklı yöntem ile hesaplanmıştır. Doğrudan levan miktarı belirlenmesi için reaksiyonların 400 nm'deki bulanıklık değişimi takip edilmiştir (Vigants, vd., 2001). Ticari levan ile oluşturulan standart eğriler kullanılarak levan miktarı g/L cinsinden hesaplanmıştır. Oluşan levan miktarının indirgen şeker cinsinden belirlenmesi için ise levan çöktürülmüş ve elde edilen levan çökeltisi 0.1 M HCl asit ile 100 °C su banyosunda 1 saat boyunca hidroliz edilmiştir (Viikari, 1984). Açığa çıkan indirgen şeker DNS yöntemi ile fruktoz standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Levansukrazın levan üretimine iyonik yük etkisinin belirlenmesi için farklı NaCl konsantrasyonları içeren tamponlarda reaksiyonlar yapılmıştır. Ayrıca EDTA ve 10 mM MgCl<sub>2</sub>, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> ve ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O iyonları varlığında da reaksiyonlar yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### *Z. mobilis* B-14023 Üreme Eğrisi

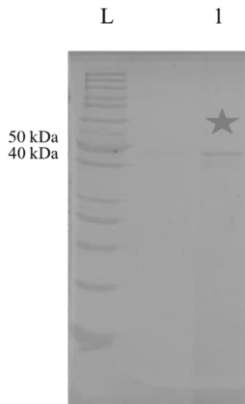
Fermantasyon ortamından 0., 12., 24. ve 36. saatlerde örnek alınarak 600 nm dalga boyunda absorbans okunmuş ve en yüksek değer 36. saatte görülmüştür (Şekil 2). Bu sonuç Silbir ve ark. (2014) ile paralellik göstermektedir, mikroorganizma sayısının en yüksek olduğu saat 36.saat olarak belirtilmiştir.



Şekil 2: *Z. mobilis* üreme eğrisi  
Figure 2: *Z. mobilis* growth curve

### *Z. mobilis* Levansukraz Üretimine Sürenin Etkisi

Fermantasyon sırasında farklı saatlerde alınan örneklerden santrifüj yoluyla üst fazlar elde edilmiştir. Elde edilen üst fazlar elektroforez ile incelenmiş ve tek belirgin protein bandı olduğu görülmüştür (Şekil 3). Ayrıca daha önce yapılan çalışma ile bu protein bandı sekanslanmıştır (Erdal vd., 2017). Levansukraz enzimi hücre dışı bir enzim olduğundan ve üst fazlarda levansukrazdan başka belirgin bir protein bandı görülmediğinden elde edilen üst faz ile enzim aktivite tayini yapılmıştır.



Şekil 3: *Z. mobilis* fermantasyon sonrası üst fazın %12 SDS-poliakrilamid jelde incelenmesi L: Protein ladder, 1: örnek. Levansukraz bandı yıldız ile işaretlenmiştir.

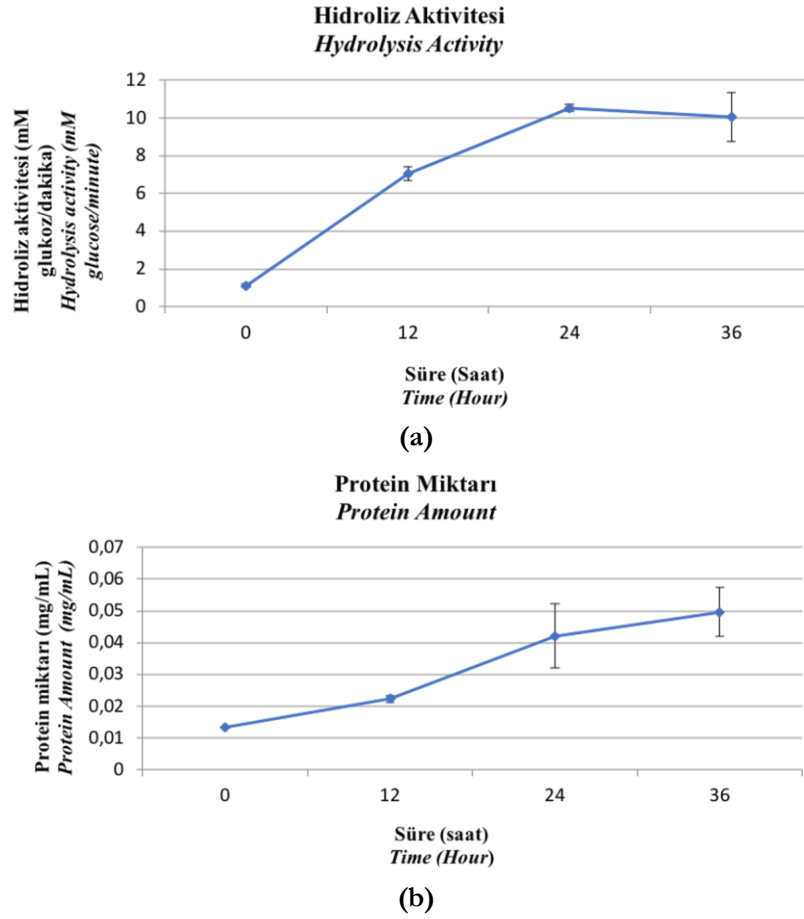
Figure 3: Analysis of cell free supernatant of *Z. mobilis* on 12% SDS-polyacrylamide gel L: protein ladder, 1: sample. Levansucrase band is marked with a star.

Levansukraz enziminin hidroliz aktivitesinin belirlenmesi için indirgen şeker yöntemi kullanılmıştır ve enzimin en yüksek hidroliz aktivitesi değerinin 36. saatte bulunduğu görülmüştür (Şekil 4a). Hücrelerden ayrılmış üst fazdan toplam protein tayini yapılarak, protein miktarında artış incelenmiştir. Fermantasyon süresince artan protein miktarı levansukraz miktarındaki artıştan kaynaklanmaktadır. Hidroliz aktivitesi sonuçlarıyla aynı şekilde en yüksek protein miktarı 36. saatte görülmüştür (Şekil 4b).

36 saat fermantasyon sonunda üst faz protein miktarı  $0.049 \pm 0.007$  mg/mL ve hidroliz aktivitesi  $10.07 \pm 1.3$  mM glukoz/dakika olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar ışığında inkübasyon süresi 36 saat olarak belirlenmiştir.

### Levansukraz ile Levan Üretimi

Ham enzim eldesi hücre dışı proteinlerin hücrelerden ayrılması yoluyla gerçekleştirilmiştir. Hücre dışı proteinlerin hücrelerden ayrılması santrifugasyon ve filtrasyon ile gerçekleştirilmiş ve elde edilen ham enzim levan üretim denemelerinde kullanılmıştır. Reaksiyonlar sonucunda görülen beyaz bulanıklığın levan olduğu bildirilmiştir (Vigants vd., 2001; Viikari, 1984). Yapılan ön denemede 25 °C'de 30 birim levansukraz ile 0.2 M sakkaroz varlığında reaksiyon gerçekleştirilmiş ve 24 saat sonunda levan oluştuğu görülmüştür (Şekil 5a). Levan üretimi ayrıca zimogram ile de gösterilmiş ve jelde belirgin beyaz bir bant oluştuğu görülmüştür (Şekil 5b).



Şekil 4: *Z. mobilis* fermantasyon üst fazının (a) hidroliz aktivitesi ve (b) protein miktarı  
Figure 4: Hydrolysis activity (a) and protein amount (b) of *Z. mobilis* fermentation supernatant

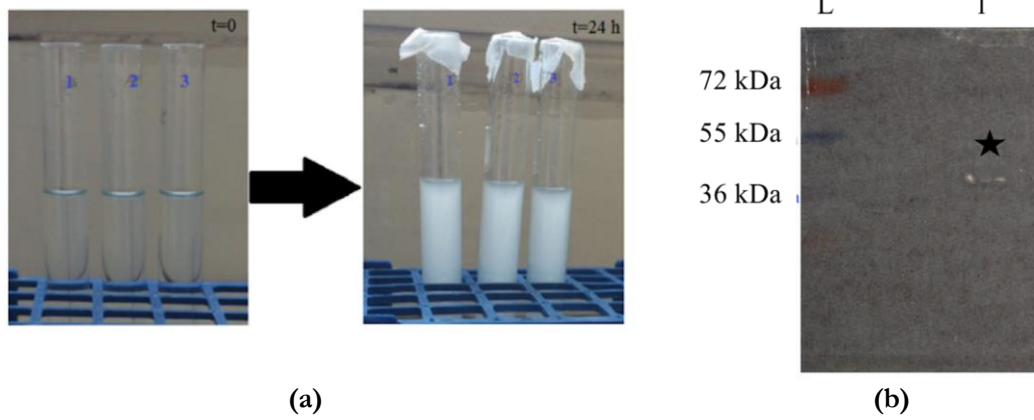
### Levan Üretimine Etki Eden Faktörler

#### Reaksiyon Süresi ve Sıcaklık

Levansukraz ile levan üretimi için optimum zaman ve sıcaklık koşullarını belirlemek amacıyla yapılan deneyler sonucunda artan süre ile levan üretiminin arttığı gözlenmiştir (Şekil 6a). Bu çalışmada en fazla 24 saat reaksiyon yapılmış ve en yüksek levan miktarı 24. saatte elde edilmiştir. Reaksiyon için iki farklı sıcaklık denenmiş ve *Z. mobilis* levansukrazının 25 °C'de daha yüksek miktarda levan ürettiği görülmüştür (Şekil 6b).

Literatürde yapılan bir çalışmada *Z. mobilis* CT2 levansukrazının optimum reaksiyon koşulunun 0.5 M sakkaroz ve 50 mM asetat pH 5.0 tamponda

25 °C'de olduğu gösterilmiştir (Senthilkumar ve Gunasekaran, 2005). Bir başka çalışmada *Z. mobilis* UQM 2716 levansukrazın 0.16 M sakkaroz 0.02 M sitrat fosfat pH 5.4 tamponda levan aktivitesi için optimum sıcaklık 25 °C olarak belirlenmiş ve 35 °C'de aktivitenin görülmediği bildirilmiştir (Crittenden ve Doelle, 1994). Diğer bir çalışmada da *E. coli*'de üretilmiş rekombinant *Z. mobilis* ZMI levansukrazının levan üretimi için optimum sıcaklığın 0 °C olduğu bildirilmiştir (Belghith, 1996). Hettwer ve ark., (1995) yaptıkları çalışmada *P. syringae* levansukrazının en yüksek levan aktivitesini 18 °C'de gösterdiğini bildirmiştir. *Bacillus sp.* TH4-2 levansukrazının levan aktivitesi için en uygun sıcaklığın 50 °C olduğu bildirilmiştir (Ammar vd., 2002).



Şekil 5: (a) t=0 ve t=24 saat anında levansukraz reaksiyon tüpleri (b) Zimogram analizi. L: Protein Ladder 1: örnek. Levansukraz bandı yıldız ile işaretlenmiştir.

Figure 5: Levansucrose production in reaction tubes at t=0 and t=24 hours (a) and zymography (b) L: protein ladder, 1: sample. Levansucrase band is marked with a star.

#### Enzimin Elde Edilme Yöntemi

Levan reaksiyonları hem santrifugasyon hem de filtrasyon ile elde edilen ham enzim ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen levansukrazın 400 nm'deki absorbans değerleri çok yakın bulunmuş (filtrasyon: 1,76; santrifugasyon: 1,66) daha kolay ve hızlı bir yöntem olduğu için çalışmalarda santrifugasyon yöntemi kullanılmıştır (Şekil 6c).

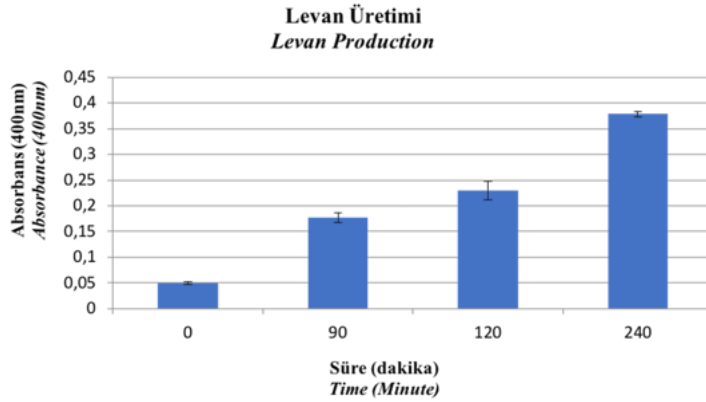
#### İyonik Yük, EDTA ve Metal İyonlar

*Z. mobilis* levansukrazından levansukraz üretimi için optimum inkübasyon süresi ve sıcaklık belirlendikten sonra levansukraz üretimini etkileyebilecek parametrelerden iyonik yük ve metal iyonları incelenmiştir. Reaksiyonlara farklı konsantrasyonlarda NaCl, EDTA ve farklı metal iyonları (MgCl<sub>2</sub>, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) eklenerek reaksiyonlar 30 birim levansukraz enzimi ile 25 °C'de 24 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar üç tekrar halinde

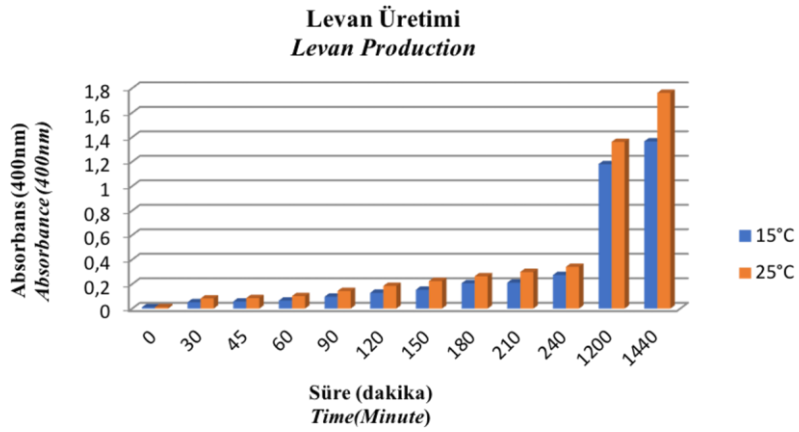
gerçekleştirilmiş ve levansukraz miktarı 400 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

#### İyonik Yük

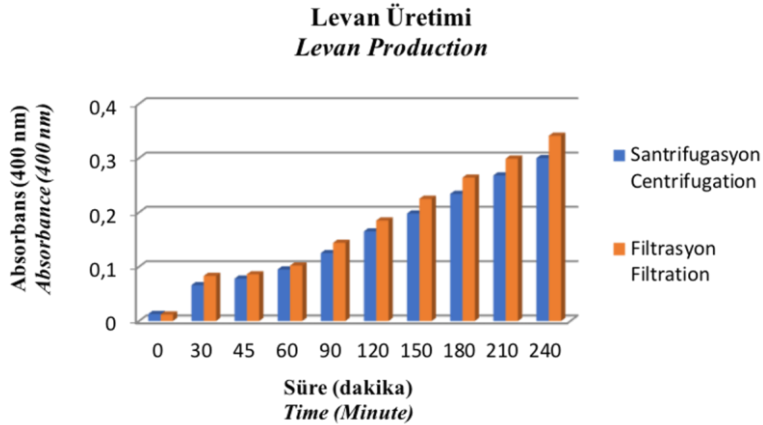
Sonuçlar artan NaCl konsantrasyonunun levansukraz üretimini olumsuz etkilediğini göstermiştir (Şekil 7). 500 mM NaCl varlığında levansukraz bulanıklık değerinde %18.5'lük bir azalma gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar literatürde daha önce yapılan çalışmalar ile farklılık göstermektedir. Vigants ve ark., (1998) yaptığı çalışmada *Z. mobilis* 113 S levansukrazı kullanılmış ve 0.4 M NaCl varlığında levansukraz üretiminin kontrole kıyasla 1.2 kat arttığı bildirilmiştir. Trujillo Toledo ve ark., (2004) *Gluconacetobacter diazotrophicus* SRT4 levansukrazı kullanarak yaptıkları çalışmada ise 0.1 M sakkaroz varlığında 30 °C'de levansukraz üretiminin artan (0-1.2 M) NaCl konsantrasyonu ile arttığı gösterilmiştir. Bu sonuçların farklılığı kullanılan farklı mikroorganizma türlerine ve diğer reaksiyon parametrelerine bağlı olarak açıklanabilir.



(a)



(b)

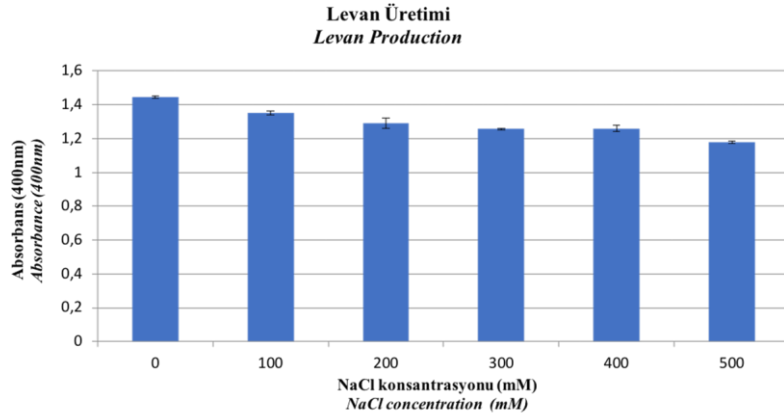


(c)

Şekil 6: (a) Farklı reaksiyon zamanlarında ve (b) farklı sıcaklıklarda levan üretimi (c) Filtrasyon ve santrifugasyon ile elde edilen ham levansukrazın 25 °C'de levan üretimi.

Figure 6: Levan production at different reaction time (a) and temperature (b). Levan production of levansucrase obtained by filtration and centrifugation at 25 °C (c).





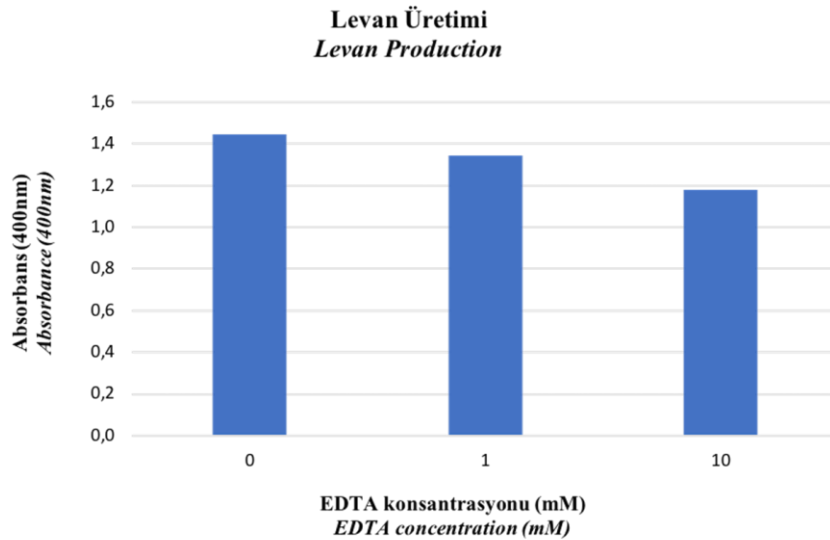
Şekil 7: Farklı NaCl konsantrasyonlarında 25 °C'de gerçekleştirilen levansukroz reaksiyonlarının 24 saat sonundaki 400 nm absorban değerleri.

Figure 7: 400 nm absorbance values of levansucrose reactions with different NaCl concentrations. Reactions were done at 25 °C for 24 hours.

#### Metal Şelat (EDTA)

*Z. mobilis* levansukrazının levansukroz aktivitesi 1 mM EDTA varlığında %7 ve 10 mM EDTA varlığında %18.5 azalmıştır (Şekil 8). Menéndez ve ark., (2002) *G. diazotrophicus* SRT 4 levansukrazını rekombinant olarak *E. coli*'de üretmiş ve 1 mM EDTA varlığının levansukroz aktivitesi üzerine etkisini

incelemiş ve levansukroz üretiminin yaklaşık %5 oranında azaldığını göstermiştir. Immobilize levansukraz-hidroksiapetit kompleksi ile yapılan bir çalışmada, 1 mM EDTA aktivitede %2'lik bir azalmaya neden olmuştur (Jang, vd., 2000). Bu fark immobilize enzimin artan stabilitesi ile açıklanabilir.



Şekil 8: Farklı EDTA konsantrasyonlarında 25 °C'de gerçekleştirilen levansukroz reaksiyonlarının 24 saat sonundaki 400 nm absorban değerleri.

Figure 8: 400 nm absorbance values of levansucrose reactions in the presence of EDTA. Reactions were done at 25 °C for 24 hours.

*Metal İyon*

10 mM EDTA varlığı *Z. mobilis* levansukrazının levan aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (Şekil 8). Bu sonuç *Z. mobilis* levansukrazının levan üretimi için metal iyonlarına gereksinimi olabileceğini göstermektedir. Bu sebeple farklı metal iyonları varlığında reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1: Farklı metal iyonlarının 10 mM konsantrasyonda levan üretimine etkileri.

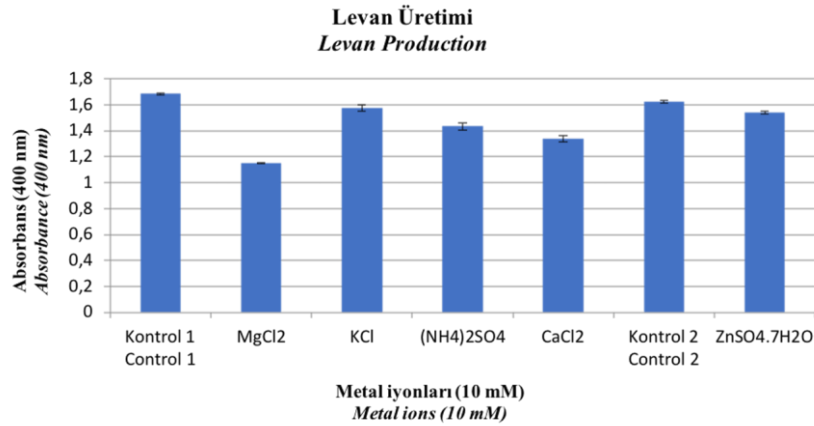
Table 1: Effect of different metal ions (10 mM) on levan production.

Reaksiyon Reactions	Levan Üretimi (%) Levan Production (%)
Kontrol (Control)	100
MgCl <sub>2</sub>	68.2
KCl	93.52
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	85.05
CaCl <sub>2</sub>	79.44
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	94.77

10 mM MgCl<sub>2</sub>, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> ve ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O iyonları varlığında levan üretiminde bir miktar azalma gözlenmiştir, MgCl<sub>2</sub> varlığındaki aktivite (%68.2) diğerlerine göre daha düşük bulunmuştur (Şekil 9 ve Çizelge 1).

EDTA ile elde edilen sonuçlar (Şekil 8) ile birlikte değerlendirildiğinde, levan üretimine olumlu etki eden bir metal iyonun olduğu düşünülmüş ancak denenen iyonlar arasında tespit edilememiştir.

*B. methylotrophicus* SK 21.002 levansukrazı ile yapılan bir çalışmada Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> metal iyonlarının levan üretimi üzerine anlamlı bir etkiye sahip olmadığı, bununla birlikte Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> ve Zn<sup>2+</sup> iyonlarının levan oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Mg<sup>2+</sup> metal iyonunun ise kontrole göre aktiviteyi %15 arttırdığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2014). Çalışmada *Z. mobilis*'ten farklı bir mikroorganizma kullanıldığı için elde edilen farklı sonuçların mikroorganizma farkından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 9: Farklı metal iyonları varlığında 25 °C'de gerçekleştirilen levansukraz reaksiyonlarının 24 saat sonundaki 400 nm absorbans değerleri.

Figure 9: 400 nm absorbance values of levansucrose reactions in the presence of different metal ions. Reactions were done at 25 °C for 24 hours.

*Z. mobilis* levansukraz ile yapılan bir çalışmada, farklı iyonlar içeren çözeltilerin bulunduğu reaksiyonlar 37 °C'de 60 dakika inkübe edilerek hidroliz aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. 1 mM konsantrasyonda K<sup>+</sup> ve Na<sup>+</sup> iyonlarının kontrole göre aktiviteyi %5 ve %2 arttırdığı, ancak metal iyonlarının konsantrasyonunun artması ile

aktivitenin azaldığı bildirilmiştir. Ca<sup>2+</sup> iyonu varlığında sırasıyla 1 mM, 5 mM ve 10 mM çözeltilerde %25, %33 ve %36 artış gözlenmiştir. Zn<sup>2+</sup> iyonu ile yapılan deneyde ise artan konsantrasyonda, aktivitede %3, %8 ve %10 azalış gözlenmiştir (Shaheen vd., 2017). Literatürde *Z. mobilis* levansukrazının metal iyon

varlığında levan üretim aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. Levan üretiminin ve hidroliz aktivitesinin farklı mekanizmaları olduğu yapısı çözülen *E. amylovora* levansukrazında gösterilmiştir (Wuerges vd., 2015). Ayrıca *Z. mobilis* levansukrazı ile yapılan yapı modellemesi çalışmasında da hidroliz aktivitesi ve levan üretiminde enzimin farklı bölgelerinin aktif rol oynadığı gösterilmiştir (Bakar ve Kaplan-Türköz, 2017). Metal iyonların hidroliz ve levan aktivitesi üzerine farklı etki göstermesinin sebebinin, reaksiyon mekanizmalarındaki farktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

### Levan Verimi

Levan miktarının belirlenmesi için iki farklı yöntemle hesaplama yapılmıştır.

Oluşan levanın fruktoz içeriğinin belirlenmesine dayanan yöntemle göre levan çöktürülmüş, asit hidrolizi ile parçalanmış ve indirgen şeker tayin yöntemiyle levan miktarı 69.159 mg fruktoz/mL olarak hesaplanmıştır. Levan miktarı için kullanılan diğer yöntemde ise levan miktarı 400 nm'deki absorpsiyon değeri ve oluşturulan levan standart eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Bu yöntemle 24 saat reaksiyon sonunda  $62.42 \pm 0.28$  g/L levan oluştuğu hesaplanmıştır, bu değer literatür ile karşılaştırıldığında yüksektir. Literatürde rekombinant *Z. mobilis* levansukrazları ile çalışmalar yapılmıştır. Chiang vd., (2009) 10 mL %20 0.5 M sakkaroz 100 mM sodyum asetat pH 5.0 tamponda reaksiyon hazırlanmış ve 15 °C'de 9 saat inkübasyon sonrası 53 g/L levan elde edildiği bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada 50 mM asetat pH 5.0 tamponda %20 sakkaroz kullanılmış ve 0 °C'de 70 saat inkübasyon sonrası 50 g/L levan elde edilmiştir (Belghith, 1996).

### SONUÇ

Bu çalışmada *Z. mobilis* kullanılarak levansukraz enzimin eldesi ve elde edilen enzim ile levan üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Levan gıda ve diğer birçok farklı endüstride prebiyotik, yağ ikamesi, antioksidan ve biyofilm oluşturma gibi özellikleri sayesinde kullanım alanına sahiptir. Levanın bu geniş endüstriyel uygulamalarına rağmen büyük ölçekte üretimleri için yeni yöntemler aranmaktadır. Levanın ekonomik

olarak üretilmesi için yeni stratejiler gerekmektedir.

Bu çalışmada levan üretimi için ham levansukraz enzimi kullanılmış ve levan üretimi için optimum süre ve sıcaklık 25 °C'de 24 saat olarak bulunmuştur. Bu üretim süresi ve sıcaklıkta ortalama  $62.42 \pm 0.28$  g/L levan üretimi gerçekleştirilmiştir.

Levan üretimi gerçekleştirildikten sonra üretime etki eden faktörler incelenmiştir ve 10 mM EDTA, 10 mM MgCl<sub>2</sub> varlığında ve artan NaCl konsantrasyonlarında üretilen levan miktarında azalma olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmayla *Z. mobilis* NRRL B-14023 hücrelerinden üretilen levansukraz enziminin levan üretiminde kullanılabileceği ilk kez gösterilmiş olduğundan literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca ham enzim ile maliyetli saflaştırma işlemlerine gerek kalmadan ve oda sıcaklığında verimli levan üretimi yapılabileceği gösterilmiştir. Bütün bunlar büyük ölçek üretimin uygulanabilir olduğunu göstermektedir. Üretimin endüstriye uygulanması ve üretilen levanın özelliklerinin incelenmesi önerilmektedir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma "*Zymomonas mobilis* levansukraz enziminin üretilmesi, saflaştırılması, karakterizasyonu ve endüstriyel kullanımı" başlıklı TÜBİTAK-TOVAG (proje no: 214O174) proje kapsamında desteklenmiştir.

### KAYNAKÇA

- Abdel-Fattah, A. F., Mahmoud, D. A. R., Esawy, M. A. T. (2005). Production of levansucrase from *Bacillus subtilis* NRC 33a and enzymic synthesis of levan and fructo-oligosaccharides. *Curr Microbiol*, 51(6), 402-407, doi:10.1007/s00284-005-0111-1.
- Arvidson, S. A., Rinehart, B. T., Gadala-Maria, F. (2006). Concentration regimes of solutions of levan polysaccharide from *Bacillus* sp. *Carbohydr Polym*, 65(2), 144-149, doi: 10.1016/j.carbpol.2005.12.039.

- AU - Lawrence, A.-M., AU - Besir, H. (2009). Staining of Proteins in Gels with Coomassie G-250 without Organic Solvent and Acetic Acid. *JoVE*, (30), e1350, doi:10.3791/1350.
- Bakar, B., Kaplan-Türköz, B. (2017). Structural Modelling and Structure-Function Analysis of *Zymomonas mobilis* Levansucrase. *SDÜ Fen Bil Enst Der*, 21(1), 279, doi: 10.19113/sdufbed.81065.
- Bekers, M., Upite, D., Kaminska, E., Laukevics, J., Grube, M., Vigants, A., Linde, R. (2005). Stability of levan produced by *Zymomonas mobilis*. *Process Biochem*, 40(5), 1535-1539, doi: 10.1016/j.procbio.2004.01.052.
- Belghith, H. (1996). Optimal conditions for levan formation by an overexpressed recombinant levansucrase. *Biotechnol Lett*, 18(4), 467-472, doi: 10.1007/BF00143472.
- Ben Ammar, Y., Matsubara, T., Ito, K., Iizuka, M., Limpaseni, T., Pongsawasdi, P., Minamiura, N. (2002). Characterization of a thermostable levansucrase from *Bacillus* sp. TH4-2 capable of producing high molecular weight levan at high temperature. *J Biotechnol* 99(2), 111-119, doi: 10.1016/S0168-1656(02)00160-8.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1-2), 248-254, doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Caputi, L., Nepogodiev, S. A., Malnoy, M., Rejzek, M., Field, R. A., Benini, S. (2013). Biomolecular characterization of the levansucrase of *Erwinia amylovora*, a promising biocatalyst for the synthesis of fructooligosaccharides. *J Agric Food Chem*, 61(50), 12265-12273, doi: 10.1021/jf4023178.
- Chambert, R., Gonzy-Treboul, G., Dedonder, R. (1974). Kinetic Studies of Levansucrase of *Bacillus subtilis*. *Eur J Biochem* 41, 285-300, doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03269.x.
- Chiang, C. J., Wang, J. Y., Chen, P. T., Chao, Y. P. (2009). Enhanced levan production using chitin-binding domain fused levansucrase immobilized on chitin beads. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82(3), 445-451, doi: 10.1007/s00253-008-1772-z.
- Crittenden, R. G., Doelle, H. W. (1994). Identification and Characterization of the Extracellular Sucrases of *Zymomonas mobilis* Uqm-2716 (Atcc-39676). *Appl Microbiol Biotechnol*, 41(3), 302-308, doi: 10.1007/BF00221223.
- Erdal, Ö., Kaplan-Türköz, B., Taştan, Ö., Gökşungur, Y. (2017). Levansucrase production by *Zymomonas mobilis*: Optimization of process parameters and fructooligosaccharide production. *J Food Biochem*, 41(3), 1-9, doi: 10.1111/jfbc.12361.
- Ergene, E., Avcı, A. (2016). Mikrobiyel ekzopolisakkaritler. *SAÜ Fen Bil Der*, 20(2), 193-202.
- Hernandez, L., Arrieta, J., Menendez, C., Vazquez, R., Coego, A., Suarez, V., Chambert, R. (1995). Isolation and enzymic properties of levansucrase secreted by *Acetobacter diazotrophicus* SRT4, a bacterium associated with sugar cane. *Biochem J*, 309(1), 113-118, doi: 10.1042/bj3090113.
- Hettwer, U., Gross, M., Rudolph, K. (1995). Purification and characterization of an extracellular levansucrase from *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. *J Bacteriol*, 177(10), 2834-2839, doi: 10.1128/jb.177.10.2834-2839.1995.
- Jakob, F., Meißner, D., Vogel, R. F. (2012). Comparison of novel GH 68 levansucrases of levan-overproducing *Gluconobacter* species. *Acetic Acid Bacteria*, 1(1), 2, doi: 10.4081/aab.2012.e2.
- Jang, K., Song, K., Kim, J., Kim, H., Chung, B., Rhee, K. (2000). Production of levan using recombinant levansucrase immobilized on hydroxyapatite. *Bioprocess Eng* 23: 89, doi: 10.1007/s004499900153.
- Kekez, B. D., Gojic-Cvijovic, G. D., Jakovljevic, D. M., Stefanovic Kojic, J. R., Markovic, M. D., Beskoski, V. P., Vrvic, M. M. (2015). High Levan Production by *Bacillus licheniformis* NS032 Using Ammonium Chloride as the Sole Nitrogen Source. *Appl Biochem Biotechnol*, 175(6), 3068-3083, doi: 10.1007/s12010-015-1475-8.
- Ki-hyo, J., Kang, S. A., Cho, Y., Kim, Y., Lee, Y.-J., Hong, K., Choue, R. W. (2003). Prebiotic

- Properties of Levan in Rats. *J. Microbiol. Biotechnol*, 13(3), 348-353.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680, doi: 10.1038/227680a0.
- Menéndez, C., Hernández, L., Selman, G., Mendoza, M. F., Hevia, P., Sotolongo, M., Arrieta, J. G. (2002). Molecular cloning and expression in *Escherichia coli* of an exo-levanase gene from the endophytic bacterium *Gluconacetobacter diazotrophicus* SRT4. *Curr Microbiol*, 45(1), 5-12, doi: 10.1007/s00284-001-0044-2.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal Chem*, 31(3), 426-428, doi: 10.1021/ac60147a030.
- Öner, E. T., Hernández, L., Combie, J. (2016). Review of Levan polysaccharide: From a century of past experiences to future prospects. *Biotechnol Adv*, 34(5), 827-844, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.05.002.
- P. O'Mullan, M. S.-D. and D. E. E. (1991). Identification of Saccharolytic Enzymes of *Zymomonas mobilis* CP4, 13(2), 137-142.
- Ritsema, T., Smeekens, S. (2003). Fructans: Beneficial for plants and humans. *Curr Opin Plant Biol*, 6(3), 223-230, doi: 10.1016/S1369-5266(03)00034-7.
- Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1682S-7S; discussion 1688S-90S, doi: 10.1093/ajcn/71.6.1682S.
- Roberts, E.J., Garegg, P. J. (1998). Levan derivatives, their preparation, composition and applications including medical and food applications. *World patent appl*, WO9803184.
- Santos-Moriano, P., Fernandez-Arrojo, L., Poveda, A., Jimenez-Barbero, J., Ballesteros, A. O., Plou, F. J. (2015). Levan versus fructooligosaccharide synthesis using the levansucrase from *Zymomonas mobilis*: Effect of reaction conditions. *J Mol Catal B Enzym*, 119, 18-25, doi: 10.1016/j.molcatb.2015.05.011.
- Senthilkumar, V., Gunasekaran, P. (2005). Influence of fermentation conditions on levan production by *Zymomonas mobilis* CT2. *Indian J Biotechnol*, 4(4), 491-496.
- Shaheen, S., Aman, A., Siddiqui, N. N. (2017). Influence of Metal ions, Surfactants and Organic Solvents on the Catalytic Performance of Levansucrase from *Zymomonas mobilis*. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 13,41-46.
- Shih, I. L., Chen, L. D., Wang, T. C., Wu, J. Y., Liaw, K. S. (2010). Tandem production of levan and ethanol by microbial fermentation. *Green Chemistry*, 12(7), 1242-1247, doi: 10.1039/b924765c.
- Shih, I. L., Yu, Y. T., Shieh, C. J., Hsieh, C. Y. (2005). Selective production and characterization of levan by *Bacillus subtilis* (Natto) Takahashi. *J Agric Food Chem*, 53(21), 8211-8215, doi: 10.1021/jf058084o.
- Silbir, S., Dagbagli, S., Yegin, S., Baysal, T., Goksungur, Y. (2014). Levan production by *Zymomonas mobilis* in batch and continuous fermentation systems. *Carbohydr Polym*, 99, 454-461, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.031.
- Srikanth, R., Reddy, C. H. S. S., Siddartha, G., Ramaiah, M. J., Uppuluri, K. B. (2015a). Review on production, characterization and applications of microbial levan. *Carbohydr Polym*, 120, 102-114, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.12.003.
- Srikanth, R., Siddartha, G., Sundhar Reddy, C. H. S. S., Harish, B. S., Janaki Ramaiah, M., Uppuluri, K. B. (2015b). Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. *Carbohydr Polym*, 123, 8-16, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.12.079.
- Srikanth, S., Swathi, M., Tejaswini, M., Sharmila, G., Muthukumar, C., Jaganathan, M. K., Tamilarasan, K. (2014). Statistical optimization of molasses based exopolysaccharide and biomass production by *Aureobasidium pullulans* MTCC 2195. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(3), 7-12, doi: 10.1016/j.bcab.2013.11.011.
- Trujillo Toledo, L. E., Gómez Riera, R., Banguela Castillo, A., Soto Romero, M., Arrieta Sosa, J. G.,

- Hernández García, L. (2004). Catalytic properties of N-glycosylated *Gluconacetobacter diazotrophicus* levansucrase produced in yeast. *Electron J Biotechnol*, 7(2), 0-0, doi: 10.2225/vol7-issue2-fulltext-4.
- Vigants, A., Hicke, H.-G., Marx, S. P. (2001). A Simple and Efficient Method for the Purification of Membrane-Bound Levansucrase from *Zymomonas mobilis*. *Curr Microbiol*, 42(6), 415-418, doi: 10.1007/s002840010239.
- Vigants, A., Kruce, R., Bekers, M., Zikmanis, P. (1998). Response of *Zymomonas mobilis* levansucrase activity to sodium chloride. *Biotechnol Lett*, 20(11), 1017-1019, doi: 10.1023/A:1005454921301.
- Viiikari, L. (1984). Formation of levan and sorbitol from sucrose by *Zymomonas mobilis*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 19: 252, doi: 10.1007/BF00251846.
- Vijayendra, S. V. N., Shamala, T. R. (2014). Film forming microbial biopolymers for commercial applications-A review. *Crit Rev Biotechnol*, 34(4), 338-357, doi: 10.3109/07388551.2013.798254.
- Wuerges, J., Caputi, L., Cianci, M., Boivin, S., Meijers, R., Benini, S. (2015). The crystal structure of *Erwinia amylovora* levansucrase provides a snapshot of the products of sucrose hydrolysis trapped into the active site. *J Struct Biol*, 191(3), 290-298, doi: 10.1016/j.jsb.2015.07.010.
- Xiao, M., Feng, F., Lu, L. (2014). Preparation method of levan-contained yogurt. *Chinese patent* CN103190478B.
- Zhang, T., Li, R., Qian, H., Mu, W., Miao, M., Jiang, B. (2014). Biosynthesis of levan by levansucrase from *Bacillus methylotrophicus* SK 21.002. *Carbohydr Polym* 101(1), 975-981, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.045.

**ÖN İŞLEMSİZ DONMUŞ DEPOLANAN (-22± 1 °C) HAMSİ (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) VE PALAMUT (*Sarda sarda*, Bloch 1793) BALIKLARININ DUYUSAL, BESİNSEL, KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

**Bengünur Çorapçı\***

Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Akliman, Sinop, Türkiye

Geliş / Received: 21.06.2018; Kabul / Accepted: 15.10.2018; Online baskı / Published online: 12.12.2018

Çorapçı, B. (2018). Ön işlemsiz donmuş depolanan (-22± 1 °C) hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyusal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *GIDA* (2018) 43 (6): 1075-1090 doi: 10.15237/gida.GD18068

Çorapçı, B. (2018). *The sensory, nutritional, chemical and microbiological properties of without pre-treatment frozen stored (-22± 1 °C) anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) and bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793) meats.* *GIDA* (2018) 43 (6): 1075-1090 doi: 10.15237/gida.GD18068

**ÖZ**

Bu çalışmanın amacı, hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının ön işlemsiz donmuş depolama süresince duyusal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesidir. Palamut balıkları buzdolabı poşetlerine konularak, hamsi balıkları ise polistiren tabaklara konularak ve ardından streç film ile kaplanarak paketlenmiştir. Her iki grup da -22±1°C'de 12 ay depolanmıştır. Besin kompozisyonu, pH, su aktivitesi, TVB-N, TBA ve mikrobiyolojik analizler taze balıkta (0. gün) ve dondurulmuş balıklarda (12 ay sonu), peroksit analizi, aminoasit ve yağ asitleri analizleri dondurulmuş balıklarda (12 ay sonu) ve duyusal analizler ise 0. gün, 6. ay ve 12 ay sonunda gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak; ön işlemsiz olarak buzdolabı poşetlerinde depolanan palamut balıklarının -22± 1°C'de 12 ay sonunda dahi duyusal açıdan tüketilebilirlik özelliklerini koruduğu, polistiren tabaklara konularak streç film ile paketlenen hamsi balıklarının ise 6 ayın sonunda duyusal olarak bozulduğu söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Palamut, hamsi, dondurma, duyusal, besinsel, kimyasal, mikrobiyolojik

**THE SENSORY, NUTRITIONAL, CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF WITHOUT PRE-TREATMENT FROZEN STORED (-22± 1 °C) ANCHOVY (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) AND BONITO (*Sarda sarda*, Bloch 1793) MEATS**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to determine the sensory, nutritional, chemical and microbiological properties of two fish species, anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) and bonito (*Sarda sarda* Bloch 1793), without pre-treatment at frozen storage period. Bonito samples were then packed into freezer bags and anchovy samples were place into styrofoam plates and then wrapped with cling wrap. Both groups were stored at -22 ± 1 °C during 12 month. Analysis of nutritional composition, pH, water activity, TVB-N, TBA and microbiological analyzes in fresh fish (0. day) and frozen fish (12 months), peroxide analysis, amino acid and fatty acid analyzes in frozen fish (end of 12 months) and sensory analyses were carried out at the end of day 0, month 6 and month 12. It was determined that bonito samples stored in refrigerator bags maintained consumable properties even after 12 months at -22±1 °C, and the anchovy samples that placed into styrofoam plates and then wrapped with cling wrap deteriorated as sensory properties at the end of 6 month.

**Keywords:** Bonito, anchovy, freezing, sensory, nutritional, chemical, microbiological

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ bengucorapci@hotmail.com,

☎(+90) 368 287 6265

☎(+90) 368 287 6268

### GİRİŞ

Deniz balıkları, içerdiği protein, yağ, vitamin ve mineraller açısından yüksek besin değeri olan besin kaynaklarıdır. Ayrıca, yüksek oranda doymamış yağ asitleri (HUFA, EPA, DHA) içermektedir. İnsan yaşamında, anne karnından yaşlılık evresine kadar olan her aşamada n-3, n-6 yağ asitleri ve temel aminoasitler son derece önemli ve vücudun ihtiyacı olan organik bileşenlerdir (Fidanbaş vd., 2015). Yağlı balık türlerinden biri olan hamsi balığı, bütün avlanma sezonu boyunca önemli miktarda EPA ve DHA içermektedir (Öksüz ve Özyılmaz, 2010). Çoğunlukla Karadeniz bölgesinde yaşayan insanlar için temel protein kaynaklarından biridir. Ucuz olmasının yanında, birçok çeşitte tüketilebilme olanağının olması tercih edilebilirliğini oldukça arttırmaktadır (İnanlı vd., 2011; İnat vd., 2013). Palamut balığı da benzer şekilde ülkemizde, taze ve işlenmiş olarak çok severek tüketilen bir besindir. Taze tüketiminin yanı sıra, dondurularak muhafaza edildikten sonra arzu edildiği şekilde hazırlanıp, tüketilebilir. Ayrıca lakerda ve tuzlama gibi şekillerde tüketilmektedir (Gargacı, 2014). Avlanan deniz balıkları miktarları içerisinde TÜİK (2017) verilerine göre palamut balığı (*Sarda sarda*, Bloch 1793) miktarı 2016 yılında 39,459.6 ton, hamsi balığı (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ise 102,565.2 ton olarak bildirilmiştir.

Dondurma işlemi taze balık ve diğer su ürünleri için en çok tercih edilen muhafaza metodlarından biridir. Ancak bu muhafaza tekniği dondurulacak ürünün kalitesi en üst tazelik derecesinde iken etkili olabilmektedir. Donmuş su ürünlerinin kalitesi direkt olarak dondurulacak ham materyalin kalitesi ile ilişkilidir (Dinstel, 2013). Dondurularak muhafazayı etkileyen temel faktörler arasında ham materyal dışında uygulanan ön işlemler, donma hızı, dondurma sıcaklığı, glazeleme, depolama sıcaklığı, depolama şartları, depolama süresi, paketlenme, transport ve çözündürme sayılabilir (Varlık vd., 2004). Hamsi ve palamut gibi yağlı balıklar çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA) yüksek düzeyde içerebildiğinden (Bayır vd., 2006; Güner vd., 1998; Balçık Mısır vd., 2014; Kocatepe ve Turan, 2012) donmuş depolama sırasında yağların bozulmasına karşı

oldukça hassastır (Aranda vd., 2006). Otoksidasyon ve hidrolitik bozulma biyokimyasal değişikliklerin temel sebebidir. Donmuş depolama sırasında balık oksijen ile temas ettiğinde yağlar acılaştır ve sonuç olarak istenmeyen tat değişiklikleri meydana gelebilir (Gunderson, 1984; Nazemroaya vd., 2011). Günümüzde, insanların besinlerini doğal durumlarına en yakın tüketme yönündeki eğilimleri besinlerin donmuş durumda depolanmasının daha çok yaygınlaşan bir teknoloji olmasını sağlamıştır. Gelişen teknoloji sayesinde su ürünleri de, avcılığının bol yapıldığı dönemlerde daha ucuza temin edilerek pratik olarak evde hazırlanıp kolaylıkla buzdolaplarında dondurularak depolanabilir (Çaklı vd., 2003). Dondurma işlemi için streç film ile paketlenen vakum paketlenmeden sonra gelen en iyi ikinci paketlenme metodu olarak bildirilmektedir. Diğer bir popüler paketlenme metodu ise buzdolabı poşetleri olarak gösterilmektedir (Dinstel, 2013). Özellikle kıyasal kesimlerde yaşayan insanlar buzdolabı poşeti ve streç film gibi paketlenme metodları kullanarak hamsi ve palamut gibi belirli dönemlerde avlanan balıkları dondurularak saklamaktadırlar. Dondurma teknolojilerinde uygulanan ön işlemler dondurularak muhafazayı etkileyen temel faktörler olmasına rağmen, evlerinde dondurucularına balık atıp muhafaza eden çoğu insanın bu bilgilerden yoksun olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada,  $-22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'deki ön işlemsiz donmuş depolama süresince hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyuusal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Araştırmada Karadeniz bölgesinde (Sinop) 2015 yılında (Ocak) avlanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve palamut (*Sarda sarda*) balıkları kullanılmıştır. Toplam ağırlığı 5 kg olan palamut ve hamsi balıkları, avlandıktan 5-6 saat sonra içi buz dolu polistiren kutularla laboratuara getirilmiştir. Çalışmada ortalama boyları  $29.5\pm 0.70$  cm ve ortalama ağırlıkları  $295.04\pm 23.74$  g olan palamut



balıkları ile ortalama boyları  $10.86 \pm 0.66$  cm ve ortalama ağırlıkları  $7.78 \pm 1.36$  g olan hamsi balıkları kullanılmıştır.

### **Paketleme ve Depolama**

Çalışmada kullanılan balıklar yıkama vb. işlemlere tabi tutulmamıştır. Palamut balıkları  $30 \times 40$  cm büyüklüğündeki buzdolabı poşetlerine ortalama  $295.04 \pm 23.74$  g olarak konulmuştur. Hamsi balıkları ise  $22,5 \times 13,5 \times 2,7$  cm büyüklüğündeki polistiren tabaklara ortalama  $763.16 \pm 30.79$  gr konularak ve üzerleri streç film ile kaplanarak paketlenmiştir. Paketlenen örnekler ön soğutmaya ve şoklamaya tabi tutulmaksızın, günümüzde no-frost olarak da bilinen, direkt ürün depolanmasında sıkça kullanılan  $-22 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 12 ay boyunca depolanmıştır. Örnekler daha sonra oda koşullarında ( $25^\circ\text{C}$ 'de 1 saat) çözündürülmüş ve analizlere alınmıştır. Analizler taze balıkta ve 12 ay depolanan balıklarda olmak üzere aminoasit ve yağ asitleri analizleri hariç, 2 tekerrür 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

### **Besin Kompozisyonu Analizleri**

Protein (AOAC, 1980a, metot no: 38012), yağ (Bligh & Dyer, 1959) ve kül (AOAC, 1980b, metot no: 16196) analizleri belirtilen metotlara göre, nem analizi ise Ludorf ve Meyer'e (1973) göre yapılmıştır.

### **Fiziksel ve Kimyasal Analizler**

pH ölçümleri Werkstätten 82362 Weilheim, Germany marka pH metre ile (Curran vd., 1980) su aktivitesi ölçümleri ise Novasina LabSwift marka su aktivitesi cihazı ile (AOAC, 1980) gerçekleştirilmiştir. pH ölçümlerinde her bir örnek için 3 kez, su aktivitesi ölçümlerinde ise 5 kez okuma yapılmış ve okunan değerler kaydedilmiştir. TVB-N değeri Antonacopoulos tarafından modifiye edilen Lucke ve Geidel metoduna göre (Hall, 1992), TBA değeri ise Tarladgis vd., (1960)'a göre yapılmıştır. Peroksit sayısı analizi, AOCS Official Method Cd 8-53'e göre TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezine gönderilerek yaptırılmış, sonuçlar meq O<sub>2</sub>/kg yağ cinsinden verilmiştir (Anonymous, 1989).

### **Aminoasit Analizi**

Örneklerin aminoasit analizleri TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezine gönderilerek

yaptırılmış, sonuçlar g/100 g olarak verilmiştir (Dimova, 2003).

### **Yağ Asitleri Analizi**

Örneklerin yağ asitleri analizleri TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezine gönderilerek yaptırılmış, sonuçlar % olarak verilmiştir (Demirtaş vd., 2013).

### **Mikrobiyolojik Analizler**

Aseptik koşullarda 10 gr balık eti alınarak, Stomacher cihazında (Mayo/HG 400) 5 dk boyunca homojenize edilmiş ve örnek 90 mL %0.85'lik serum fizyolojik ile karıştırılarak ekim için dilüsyonlar hazırlanmıştır. Toplam mezofilik aerobik ve psikrofilik aerobik bakteriler için Plate Count Agar (PCA) (Merck), Toplam maya ve küf için Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck) ve Toplam koliform bakteriler için ise Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck) besiyerleri kullanılmıştır. Ekimler standart yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir. Toplam mezofilik aerobik bakteri için  $28^\circ\text{C}$ 'de 2 gün, toplam maya ve küf için  $28^\circ\text{C}$ 'de 4 gün, toplam koliform bakteri için  $37^\circ\text{C}$ 'de 1 gün inkübe edilmiştir (Anonymous, 2005). Toplam psikrofil bakteriler için ise  $7^\circ\text{C}$ 'de 10 gün inkübasyon süresi uygulanmıştır (AOAC, 2000).

### **Duyusal Analiz**

Duyusal analizler deneyimli 5 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Örnekler panelistlere ayçiçeği yağında kızartıldıktan sonra sunulmuştur. Panelistler örnekleri görünüş, koku, tat ve tekstür özellikleri bakımından değerlendirmiş ve buna göre ortalamalar hesaplanarak genel kabul edilebilirlik puanı oluşturulmuştur. Puanlama skalasına göre; toplam puanlamada 20 'mükemmel', 19.9-18.2 'çok iyi', 18.1-15.2 'iyi', 15.1-11.2 'orta', 11.1-7.2 'kabul edilebilir' ve 7.1-4.0 'bozulmuş' olarak nitelendirilmiştir (Neuman vd., 1983).

### **İstatistiksel Analiz**

Örneklerin istatistiksel analizlerinin değerlendirilmesinde Minitab 17 (Minitab Inc. USA) programı kullanılmıştır. Yapılan analizler arasındaki farklar varyans analizleri (ANOVA) ile duyusal analiz sonuçları ise parametrik olmayan

Friedman testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ( $P < 0.05$ ). (Özdamar, 2015).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Besin kompozisyonu

Taze ve  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 ay boyunca depolanan palamut ve hamsi balıklarının besin kompozisyonuna ait değerler Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Buna göre; protein, yağ, nem ve kül içerikleri bakımından taze ve dondurarak depolanmış palamut balıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Bununla beraber, protein, nem ve kül değerleri bakımından taze ve dondurarak depolanmış hamsi balıkları arasında istatistiksel fark gözlenmezken, yağ değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 1.  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait besin kompozisyonu analiz sonuçları

Table 1. Nutrient composition analysis results of the bonito and anchovy samples stored at  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  during 12 month

	Taze palamut (raw bonito)	12 ay depolanan palamut (raw bonito stored during 12 month)	Taze hamsi (raw anchovy)	12 ay depolanan hamsi (raw anchovy stored during 12 month)
Protein (g/100g) Protein (g/100g)	19.08±0.00 <sup>a</sup>	18.65±0.63 <sup>a</sup>	17.15±0.63 <sup>a</sup>	16.62±0.62 <sup>a</sup>
Yağ (g/100g) Fat (g/100g)	6.88±0.02 <sup>a</sup>	7.24±0.24 <sup>a</sup>	9.28±0.18 <sup>b</sup>	10.77±0.03 <sup>a</sup>
Nem (%) Moisture(%)	73.01±0.01 <sup>a</sup>	72.70±0.00 <sup>a</sup>	72.56±1.08 <sup>a</sup>	71.43±0.00 <sup>a</sup>
Kül (%) Ash (%)	1.02±0.00 <sup>a</sup>	1.14±0.03 <sup>a</sup>	0.95±0.03 <sup>a</sup>	0.82±0.00 <sup>a</sup>

±Standart hata. Aynı satırda gruplar arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

±Standard error. Different letters between groups are statistically significant in the same row. ( $P < 0.05$ ).

Palamut ve hamsinin dondurularak depolanması ile ilgili çeşitli çalışmalar (Turan ve Erkoyuncu, 2004; Aydın, 2011; Orak ve Kayışoğlu, 2008) yapılmış ancak en fazla 6-9 aya kadar yapılan bu çalışmalarda besin kompozisyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Lakshmisha vd., (2008) hint uskumrusunu (*Rastrelliger kanagurta*)  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de çabuk dondurma uyguladıktan sonra  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolamışlardır. 3 aylık depolama süresince besin kompozisyonunda önemli farklar bulunmadığı bildirilmiştir. Beklevik vd., (2005)  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 9 ay süreyle depolanan deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) filetolarında çalışmamıza benzer şekilde depolama sonunda yağ oranının arttığını ve nem oranının azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda yağ miktarının depolama süresine bağlı olarak artış göstermesinin sebebinin, depolama ve çözündürme ile meydana gelen su kaybıyla ilişkili oransal bir artış olduğu düşünülmektedir.

### Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Taze ve  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 ay boyunca depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait pH, su aktivitesi (aw), TVB-N, TBA ve peroksit sayısı değerleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Orak ve Kayışoğlu (2008),  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de şoklayıp,  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 9 ay buzdolabı poşetlerinde depoladıkları hamsi balıklarının depolama sonu pH değerini 6.30 olarak bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada;  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de şoklanmış ve plastik kaplarda üzeri folyo kağıt ile kapatılarak  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmış hamsi balıklarının pH değeri depolamanın 5. ayı 6.68 olarak bildirilmiştir (Boran, 1991). pH değerinin taze balık eti için 6.0-6.5 arasında, tüketilebilirlik sınır değerinin ise 6.8-7.0 arasında olmasına rağmen, bu değer depolama süresine bağlı olarak yavaş yavaş yükseldiği ve kesin bir kriter olmadığı bildirilmiştir (Varlık vd., 1993). Bu nedenle çalışmamızda pH değerinin 12 aylık depolama süresine bağlı olarak yükseldiği ve kalite

## Donmuş depolanan Hamsi ve Palamut balıklarının bazı kalite parametreleri

kriteri açısından tek başına değerlendirilmesinin uygun olmayacağı düşünülmektedir.

Çizelge 2. -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

*Table 2. Physical and chemical analysis results of bonito and anchovy samples stored at -22°C during 12 month*

	Taze palamut ( <i>raw bonito</i> )	12 ay depolanan palamut ( <i>raw bonito stored during 12 month</i> )	Taze hamsi ( <i>raw anchovy</i> )	12 ay depolanan hamsi ( <i>raw anchovy stored during 12 month</i> )
pH	6.50±0.02 <sup>b</sup>	7.44±0.01 <sup>a</sup>	6.10±0.01 <sup>b</sup>	7.43±0.03 <sup>a</sup>
Su aktivitesi (aw) <i>Water activity (aw)</i>	0.98±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>b</sup>	0.97±0.00 <sup>a</sup>	0.96±0.00 <sup>a</sup>
TVB-N (mg/100 g) <i>TVB-N(mg/100 g)</i>	12.87±0.08 <sup>b</sup>	27.76±0.02 <sup>a</sup>	8.94±0.12 <sup>b</sup>	15.31±1.37 <sup>a</sup>
TBA (mg malonaldehit/kg) <i>TBA (mg malonaldehyde/kg)</i>	0.95±0.03 <sup>b</sup>	1.33±0.03 <sup>a</sup>	2.13±0.01 <sup>b</sup>	22.26±1.19 <sup>a</sup>
Peroksit sayısı (mEq O <sub>2</sub> /kg) <i>Peroxide number (mEq O<sub>2</sub>/kg)</i>	-	50.03±0.02	-	325.65±5.65

±Standart hata. Aynı satırda gruplar arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

±Standard error. Different letters between groups are statistically significant in the same row. ( $P < 0.05$ ).

Su aktivitesi, gıda maddelerindeki suyun yapıya ne şekilde bağlı olduğunu, bazı kimyasal ve enzimatik reaksiyonlarla mikrobiyolojik faaliyetler için kullanılabilirlik durumunu ve derecesini belirlemektedir (Akbulut ve Karagözlü, 2012). Taze balık ya da et ürünlerinde su aktivitesi değeri 0.98-0.99 arasında belirtilmektedir (Yiğit, 1983; Temiz, 1998; Şengör, 2004). Palamut balığı için depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli iken ( $P < 0.05$ ), hamsi balığı için önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Külcü (2017) 0, 2 ve 4 °C'de 7 gün boyunca muhafaza edilen bütün palamut balıklarının su aktivitesi değerlerini 0.99 civarında olduğunu ve muhafaza süresine bağlı olarak bu değerlerin istatistiksel açıdan önemli olmadığını bildirmiştir. Bir başka çalışmada; -25 °C'de dondurulan ve -20 °C'de 3 ay süresince depolanan ve farklı koşullarda çözündürülen palamut balığına ait su aktivitesi değerlerinin 0.98-0.99 arasında değiştiği bildirilmiştir (Turan vd., 2015). Donmuş balıkta depolama sıcaklığı sabit tutulmaya özen gösterilmesine rağmen,

sıcaklıktaki minimal değişimler dahi çevresel nemin değişmesine ve gerekli nemin balıktan karşılanmasına sebebiyet verebilmektedir. Bu durum balıkta su kaybına ve dolayısıyla da su aktivitesi değerlerinin değişmesine neden olabilmektedir (Turan vd., 2015). Çalışmamızda su aktivitesi değerinin 0.96 değerine düşmesinin 12 aylık depolama süresine bağlı olarak bu durumla ilgili olduğu söylenebilir.

Balık etinde TVB-N değeri 25 mg/100 g için çok iyi kalitede, 30 mg/100 g için iyi kalitede, 35 mg/100 g için pazarlanabilir kalitede ve 35-100 mg/100 g için ise bozulmuş olarak nitelendirilmektedir (Gökalp, 1993). Çalışmamızda TVB-N değerlerinde depolama süresince meydana gelen artış istatistiksel olarak önemli olsa da ( $P < 0.05$ ) her iki balık türünde de TVB-N değerleri 'çok iyi' kalite sınırları içerisinde kalmıştır.

Orak ve Kayışoğlu (2008), -40 °C'de şoklayıp, -26 °C'de 9 ay buzdolabı poşetlerinde bütün halde depoladıkları hamsi balıklarının depolama sonu TVB-N değerini 29.19 mg/100 g olarak bildirmişlerdir. Turan ve Erkoyuncu (2004), bütün olarak dondurulan palamut balıklarının TVB-N değerinin 22.7-23.4 mg/100 g seviyesine çıktığını ancak 6 aylık depolama süresi sonunda bile çok iyi kalite sınırı özelliği olan 25 mg/100 g değerini aşmadığını bildirmişlerdir. Cheng Lin ve Saint Lin (2005) -20 C'de alüminyum folyoya sararak, 4 ay depolanan palamut filetolarının TVB-N değerini 23.3 mg/100 g olarak ifade etmişlerdir. Çalışmamızdaki sonuçlar ile diğer çalışma sonuçları kıyaslandığında palamut balığı TVB-N değerlerinin nispeten birbirine yakın olduğu, hamsi balığı değerlerinin ise çalışmamızdaki değere göre yüksek olduğu söylenebilir. Ancak her iki balık türünde de başlangıç TVB-N değerleri, uygulanan işlemler, paketleme, depolama şartları, sıcaklıkları ve süreleri gibi faktörler nedeniyle çalışmadaki değerlerin tek başına değerlendirilmesinin daha doğru olacağını düşünülmektedir.

Yağlı balıkların kalitesi yağın oksidasyonu nedeniyle çok hızlı bir şekilde bozulabilmektedir. Balık etinde meydana gelen birincil yağ oksidasyonunun belirtisini veren ve peroksit değeri olarak ölçülen yağ oksidasyonunun birincil ürünü yağ asidi hidroperoksitidir. Birincil oksidasyon süresince oluşan hidroperoksitler oldukça değişkindir ve ürün tadında acılaşmaya sebep olan volatil ürünlerinden aldehitler, ketonlar ve alkollere yıkılırlar. İkincil oksidasyonun derecesi malonaldehit miktarının ölçümü ile belirlenir (Viji vd., 2016).

Su ürünlerinde TBA değeri iyi bir üründe 3-5 mg malonaldehit/kg olarak belirtilirken, tüketilebilirlik sınır değerinin 7-8 arasında olduğu ifade edilmektedir (Schomüller 1969). Çalışmamızda hamsi balığında ise 12 aylık depolama sonrasında TBA değeri dikkat çekici şekilde yükselerek, 22.26 mg malonaldehit/kg değerine ulaşmış ve tüketilebilirlik sınır değerinin yaklaşık 3 kat üzerine çıkmıştır (P <0.05). Taze palamut ve hamsi balığının peroksit değeri verilerinin alınma imkanı olmamıştır. Peroksit

sayısı tüketilebilirlik sınır değeri 8 mEq O<sub>2</sub>/kg olarak ifade edilmektedir (Gökalp vd., 1993). Çalışmamızda palamut ve hamsi balıklarının 12 aylık depolama sonunda peroksit değerlerinin tüketilebilirlik sınır değerinin oldukça üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Cheng Lin ve Saint Lin (2005) çay ekstratı ve glaze uygulayarak, -20 °C'de alüminyum folyoya sararak depoladıkları palamut filetolarının peroksit değerleri ile ilgili olarak; donmuş balık eti ve et muhafaza işlemleri ile kıyaslamak için peroksit değerinin iyi bir indikatör olmadığını, donmuş depolamada balık etinde çoğu hidroperoksitin ortaya çıkabileceğini ve gözlenen peroksit sonuçlarının farklı depolama ve muhafaza alternatiflerini önemli derecede değiştirmedini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 12 aylık depolama sonrası peroksit değerimizin (50.03 mEq O<sub>2</sub>/kg), Cheng Lin ve Saint Lin (2005) 4 aylık ham palamut filetosunun peroksit değeri (52.6) ile benzer olduğu söylenebilir. Ancak depolama süresi, paketleme vb. işlem farklılıklarından dolayı peroksit değerlerinin birebir karşılaştırılmasının doğru olmayacağı düşünülmektedir.

Kocatepe vd., (2014), taze hamsi balığına ait TBA değerini 2.68 mg MDA/kg olarak tespit etmişlerdir. Bu değerin çalışmamızdaki taze hamsiye ait TBA değerine yakın olduğu söylenebilir. Bununla beraber; aynı çalışmada kontrol grubunda -30 °C'de 6 ay depoladıkları hamsi balıklarının TBA değerinin 20.62 mg MDA/kg değerine yükseldiği bildirilmiştir. Bu değer ise çalışmamızda 12 aylık depolama sonrası 22.26 mg MDA/kg değerine yakın görünmektedir. Aradaki farkın balıkların çeşme suyuyla birkaç kez yıkanması gibi ön işlemler ve ön soğutma ve depolama gibi faktörlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Orak ve Kayışoğlu (2008) -40°C'de şoklayıp, -26°C'de 9 ay boyunca bütün olarak depoladıkları hamsi balıklarının TBA değerini 6.80 mg malonaldehit/kg olarak, peroksit değerini ise 7.29 olarak bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada; Yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstratı uygulanarak, alüminyum folyo ile paketlenen ve -18°C'de depolanan palamut filetolarının 5 aylık depolama

## Donmuş depolanan Hamsi ve Palamut balıklarının bazı kalite parametreleri

süresi sonunda TBA değerlerinin tüketilebilirlik sınır değerlerini aştığı bildirilmiştir (Yerlikaya ve Gökoğlu, 2010). Görüldüğü gibi uygulanan ön işlemler, paketlenme şekli, depolama sıcaklığı ve süresinin TBA değerlerini etkilediği bir gerçektir. Araştırma sonuçlarımızın daha sağlıklı değerlendirilebilmesi için ön soğutma uygulanmaksızın ve geleneksel paketlenme metodları kullanılarak, 12 ay gibi uzun süreli

depolama sonucunda elde edilen veriler ile kıyaslanmasının daha doğru olacağı düşünülmektedir.

### Aminoasit miktarı

Çalışmamızda -22 °C' de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait aminoasit değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait aminoasit kompozisyonu  
Table 3. Amino acid composition of bonito and anchovy samples stored at -22°C during 12 month

Aminoasit (mg/100g) <i>Amino acid (mg/100g)</i>	Palamut <i>Bonito</i>	Hamsi <i>Anchovy</i>
Alanin, <i>Alanine</i>	1080	904
Glisin, <i>Glycine</i>	786	717
Valin*, <i>Valine</i>	1005	730
Lösin*, <i>Leucine</i>	1402	1076
İzolösin*, <i>Isoleucine</i>	1172	877
Treonin*, <i>Threonine</i>	1189	701
Serin, <i>Serine</i>	901	624
Prolin, <i>Proline</i>	667	571
Arjinin*, <i>Arginine</i>	492	528
Aspartik asit, <i>Aspartic acid</i>	3617	2935
Metionin*, <i>Methionine</i>	629	450
Glutamik asit, <i>Glutamic acid</i>	3154	2600
Fenilalanin*, <i>Phenylalanine</i>	730	580
Lizin*, <i>Lysin</i>	2425	2401
Histidin*, <i>Histidine</i>	1715	742
Tirozin, <i>Tyrosine</i>	677	491
Toplam amino asit, <i>Total amino acid</i>	21.64	16.92
Toplam esansiyel amino asitler (E), <i>Total essential amino acids (E)</i>	10.75	8.08
Toplam esansiyel olmayan amino asitler (NE), <i>Total non-essential amino acids (NE)</i>	10.88	8.84
E/NE	0.98	0.91

\*Esansiyel aminoasit

\*Essential amino acid

Taze palamut ve hamsi balıklarının aminoasit verileri değerlendirilememiştir. Bu nedenle istatistiki bir karşılaştırma yapma olanağı olmadığından, elde edilen veriler bundan sonra yapılacak çalışmalara fayda sağlaması açısından Çizelge 3'deki hali ile verilmiştir. Aynı nedenle literatürdeki taze palamut ve hamsi değerleri ile kıyaslama yapılmıştır. Erkan vd., (2010) taze palamut balığına ait toplam aminoasit miktarını

15.693 mg/100 g olarak, hamsi balığına ait toplam aminoasit miktarını ise 9.741 mg/100 g olarak bildirmişlerdir. Çalışmamız ile kıyaslandığında aradaki farklılığın balıkların biyokimyasal ham madde kompozisyonunun yanı sıra, donmuş depolama sırasında meydana gelen kimyasal değişimlerle ilgili olduğu söylenebilir. Çalışmamıza benzer olarak; -35 °C'de 12 ay depolanan palamut dahil 10 farklı balık türünde

## B. Çorapçı

aminoasit miktarlarının arttığı ve bu durumun bir tür aminoasitin diğer bir aminoasite dönüşmesinden (oksidasyon, de-aminasyon vb.) kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (Wesselinova, 2000).

### Yağ asitleri miktarı

Çalışmamızda -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait yağ asitleri kompozisyonları Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait yağ asitleri kompozisyonu

Table 4. Fatty acid composition of bonito and anchovy samples stored at -22°C during 12 month

Yağ asitleri (%), Fatty acid (%)	Palamut	Hamsi
	<i>Bonito</i>	<i>Anchovy</i>
C8:0 (Kaprilik asit), <i>Caprylic acid</i>	0.14	0.06
C12:0 (Laurik asit), <i>Lauric acid</i>	0.08	0.08
C13:0 (Tridekanoik asit), <i>Tridecanoic acid</i>	0.05	0.07
C14:0 (Miristik asit), <i>Myristic acid</i>	4.92	7.44
C15:0 (Pentadekanoik asit), <i>Pentadecanoic acid</i>	0.77	1.13
C16:0 (Palmitik asit), <i>Palmitic acid</i>	17.79	20.38
C17:0 (Heptadekanoik asit), <i>Heptadecanoic acid</i>	0.70	1.05
C18:0 (Stearik asit), <i>Stearic acid</i>	4.60	4.89
C20:0 (Araşidik asit), <i>Arachidic acid</i>	0.48	1.15
C21:0 (Heneikosanoik asit), <i>Heneicosanoic acid</i>	0.07	0.12
C22:0 (Behenik asit), <i>Behenic acid</i>	0.27	0.47
C24:0 (Lignoserik asit), <i>Lignoceric acid</i>	0.15	0.15
<b>ΣSFA</b>	<b>29.99</b>	<b>36.96</b>
C14:1 (Miristoleik asit), <i>Myristoleic acid</i>	0.07	0.04
C16:1 (Palmitoleik asit), <i>Palmitoleic acid</i>	5.75	6.52
C24:1 (Nervonik asit), <i>Nervonic acid</i>	0.99	0.45
C18:1 n-9c (Oleik asit), <i>Oleic acid</i>	16.36	13.35
C18:1 n-9t (Elaidik asit), <i>Elaidic acid</i>	0.08	0.09
C20:1 n-9 (Eikosenoik asit), <i>Eicosenoic acid</i>	3.38	0.98
<b>ΣMUFA</b>	<b>26.62</b>	<b>21.42</b>
C18:2 n-6 (Linoleik asit), <i>Linoleic acid</i>	2.65	2.54
C18:3 n-3 (α-linolenik asit), <i>α-linolenic acid</i>	1.68	1.28
C18:3 n-6 (γ-linolenik asit), <i>γ-linolenic acid</i>	0.07	0.13
C20:2 (Eikosadienoik asit), <i>Eicosadienoic acid</i>	0.26	0.33
C20:5 n-3 EPA (Eikosapentanoik asit), <i>Eicosapentanoic acid</i>	5.41	8.94
C20:4 n-6 (Araşidonoik asit), <i>Arachidonic acid</i>	0.54	1.15
C22:6 n-3 DHA (Dokosahegzaenoik asit), <i>Docosahexaenoic acid</i>	15.96	14.35
C20:3 n-6 (cis-8,11,14-Eikosatrienoik asit), <i>Eicosatrienoic acid</i>	0.03	0.09
C22:5 n-3 (Dokosapentaenoik asit), <i>Docosapentaenoic acid</i>	0.85	0.76
C20:3 n-3 (Eikosatrienoik asit), <i>Eicosatrienoic acid</i>	4.63	0.25
<b>ΣPUFA</b>	<b>32.04</b>	<b>29.79</b>
<b>Σn-3</b>	<b>28.51</b>	<b>25.56</b>
<b>Σn-6</b>	<b>3.28</b>	<b>3.91</b>
<b>n-3/ n-6</b>	<b>8.69</b>	<b>6.55</b>
<b>EPA/DHA</b>	<b>0.33</b>	<b>0.62</b>

ΣSFA: Toplam Doymuş Yağ Asitleri/*Total Saturated Fatty Acid*; ΣMUFA: Toplam Tekli Doymamış Yağ Asitleri/*Total Monounsaturated Fatty acid*; ΣPUFA: Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asitleri/*Total Polyunsaturated Fatty acid*

Çalışmamızda taze palamut ve hamsi balıklarının yağ asitleri verileri değerlendirilememiştir. Bu nedenle istatistiki bir karşılaştırma yapma olanağı olmadığından, elde edilen veriler bundan sonra yapılacak çalışmalara fayda sağlaması açısından Çizelge 4'deki hali ile verilmiştir. Çalışmamızda donmuş depolanan palamut balığına ait değerler Bayır vd., (2006)'a göre taze palamut balığına ait toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA), toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) ve toplam n-3-n-6 (PUFA) değerlerinden daha düşüktür. Aynı çalışmada taze hamsi balığına ait toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA) miktarının donmuş depolama sonrası elde edilen çalışmamızdaki değere benzer olduğu söylenebilir. Bununla beraber; çalışmamızda toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) miktarı Bayır vd., (2006)'a göre daha yüksek, toplam n-3-n-6 (PUFA) değerleri ise daha düşük bulunmuştur.

Güner vd. (1998) taze palamut balığına ait toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA), toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) ve toplam çoklu doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ PUFA) miktarını %44.65, %44.71 ve % 10.56 olarak bildirmiştir. Aynı araştırmacılar taze hamsi balığına ait bu değerleri sırasıyla; %40.77, %24.80 ve %34.26 olarak bildirmişlerdir. Bu değerler çalışmamızda donmuş depolanan palamut ve hamsi ile kıyaslandığında; yalnızca palamut balığına ait toplam çoklu doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ PUFA) değerlerinin yüksek olduğu, diğer yağ asitleri değerlerinin Güner vd. (1998)'e göre düşük olduğu görülmüştür.

Balçık Mısır vd., (2014) palamut balıklarının aylık olarak yağ asidi değişimlerini incelemişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız palamut balıkları Ocak ayında avlandığından diğer araştırmacıların Ocak ayı verileri ile kıyaslama yapılmıştır. Buna göre; çalışmamızda donmuş depolama sonrası elde edilen toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA) ve toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) miktarları Balçık Mısır vd., (2014)'e göre yüksek bulunurken, toplam çoklu doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ PUFA), toplam n-3-n-6 (PUFA) değerleri miktarı düşük bulunmuştur.

Kocatepe ve Turan (2012) taze hamsi balığına ait toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA) miktarını %35.07, toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) miktarını %19.50 ve toplam çoklu doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ PUFA) miktarını %32.43 olarak bildirmişlerdir. Bu değerlerin çalışmamızda donmuş depolanan hamsi balığı değerleri ile kıyaslandığında; toplam doymuş yağ asitleri ( $\Sigma$ SFA) değerlerinin birbirine benzer olduğu söylenebilir. Bununla beraber; çalışmamızdaki toplam tekli doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ MUFA) değerleri daha yüksek, toplam çoklu doymamış yağ asitleri ( $\Sigma$ PUFA) değerleri ise daha düşük bulunmuştur.

Deniz türleri için çeşitli bileşiklerin kompozisyonu; değişen coğrafik yakalanma bölgesi, yılın mevsimleri, cinsiyet ve türlerin beslenme alışkanlıkları gibi nedenlerden dolayı kontrol edilemez (Güner vd., 1998). Bununla beraber; donmuş depolama sonrası elde edilen yağ asitleri değerleri ile kıyasladığımızda, diğer araştırmacıların (Bayır vd.,2006; Güner vd., 1998; Balçık Mısır vd., 2014; Kocatepe ve Turan, 2012) taze hamsi ve palamut balıklarına ait yağ asitleri değerlerinde genel olarak  $\Sigma$ PUFA miktarının daha yüksek olduğu söylenebilir. Benzer şekilde; Nazemroaya vd.( 2011) -18°C'de 6 ay depoladıkları uskumru (*Scomberomorus commersoni*) ve köpek balıklarının (*Carcharbinus dussumieri*) toplam PUFA değerlerinin 6 aylık donmuş depolama sonrasında azaldığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada, -19 ± 1 °C'de 12 ay depolanan uskumru (*Scomber japonicus*) balığının bütün fileto, beyaz et ve kara etli kısımlarındaki toplam çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) miktarının donmuş depolama sonunda azaldığı bildirilmiştir (Paola ve Isabel, 2015). Bu durumun; çalışmamızda donmuş depolama sırasında her iki balık türünde de meydana gelen çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) otooksidasyon ve hidrolitik bozulması ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

### **Mikrobiyolojik analiz sonuçları**

Çalışmamızda -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 5'de verilmiştir.

Çizelge 5. -22 °C'de 12 ay depolanan palamut ve hamsi balıklarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

Table 5. Microbiological analysis results of bonito and anchovy samples stored at -22°C during 12 month (log cfu/g)

	Toplam mezofilik aerobik bakteri <i>Total mesophilic aerobic bacteria</i>		Toplam psikrofilik aerobik bakteri <i>Total psychrophilic aerobic bacteria</i>		Toplam maya-küf <i>Total yeast-mold</i>		Toplam koliform bakteri <i>Total coliform bacteria</i>	
	Taze (Raw)	12 aylık depolama sonrası <i>After storage (12 month)</i>	Taze (Raw)	12 aylık depolama sonrası <i>After storage (12 month)</i>	Taze (Raw)	12 aylık depolama sonrası <i>After storage (12 month)</i>	Taze (Raw)	12 aylık depolama sonrası <i>After storage (12 month)</i>
Palamut <i>Bonito</i>	3.14±0.01 <sup>a</sup>	2.90±0.02 <sup>b</sup>	3.09±0.11 <sup>a</sup>	2.75±0.11 <sup>a</sup>	2.92±0.05 <sup>a</sup>	2.69±0.02 <sup>b</sup>	2.71±0.03	<10
Hamsi <i>Anchovy</i>	5.37±0.02 <sup>a</sup>	3.28±0.01 <sup>b</sup>	4.42±0.02 <sup>a</sup>	3.23±0.01 <sup>b</sup>	2.81±0.04 <sup>a</sup>	2.54±0.01 <sup>b</sup>	2.79±0.02	<10

±Standart hata. Aynı satırda gruplar arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ( $P < 0.05$ ).

±Standard error. Different letters between groups are statistically significant in the same row. ( $P < 0.05$ ).

Kocatepe vd., (2014) taze hamsi balığına ait toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını 2.95 log kob/g, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısını ise 2.50 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Bu değerler çalışmamızdaki değerlerden düşük bulunmuştur. Bir başka çalışmada taze hamsi balığına ait toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 7.20 log kob/g, toplam psikrofilik aerobik bakteri sayısını ise 6.07 log kob/g olarak bildirilmiştir (Karaçam ve Boran, 1996). Bu değerler ise çalışmamızdaki değerlerden yüksek bulunmuştur. Erkan vd., (2009) taze palamut balığına ait toplam mezofilik aerobik bakteri ve psikrofilik aerobik bakteri sayılarını sırasıyla; 3 log kob/g ve 3.29 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Bu değerlerin çalışmamızdaki değerlere benzer olduğu söylenebilir. Bir başka çalışmada taze palamut balığına ait toplam bakteri ve toplam koliform bakteri sayısı sırasıyla; 4 log kob/g ve 2.85 log kob/g olarak bildirilmiştir (Rzepka vd., 2013). Toplam bakteri sayısı çalışmamızdaki değere göre yüksek, toplam koliform sayısı ise çalışmamıza yakın bulunmuştur.

Çok sayıda çevresel ortam (tatlı su- tuzlu su, tropik su- arktik su, pelajik tür- bentik tür, kirlilik derecesi) ve çeşitli işleme teknikleri (buzlanmış balık ürünleri, konserve) balık ve balık ürünlerinin başlangıç kontaminasyonunu belirlemede önemli faktörlerdir (Gram ve Huss, 1996). Bununla beraber; dondurulmuş su

ürünlerinin kalitesi ise dondurulacak ürünün başlangıç kalitesine, niteliklerine, uygulanan ön işlemler ve işleme yöntemlerine, paketleme şekline, depo sıcaklığına ve depolama süresine bağlıdır (TSE, 1985; Varlık vd., 2004). Ayrıca balığın avlanma bölgesi ve mevsimi de sonuçları etkileyebilen diğer faktörlerdendir.

Kılınç vd., (2003) sardalya (*Sardina pilchardus* W., 1792) balıklarının temizlenmiş ve temizlenmemiş halde -40 °C'de şoklanmış ve -18 °C'de 90 gün depolamışlardır. Depolama periyodu süresince toplam bakteri sayısının her iki grupta da dondurulmuş balık için kabul edilebilir limit değerlerini (ICMSF, 1978) aşmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada toplam koliform bakteri sayısının dondurma işleminin etkisiyle azaldığı ve her iki grupta da depolama süresince hemen hemen aynı kaldığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada; çalışmamıza benzer şekilde -18 °C'de ve -25 °C'de depolanan beyaz ton balıklarının (*Thunnus alalunga*) 9 aylık depolama sonrasında her iki sıcaklık grubunda da aerobik mezofil, psikotrof ve toplam Enterobacteriaceae üyelerinin sayısının azaldığı bildirilmiştir (Ben-Gigirey vd., 1998). Benzer şekilde, çalışmamızda taze palamut ve hamsi balıklarının 12 aylık dondurarak depolama sonrasında toplam mezofilik ve psikrofilik aerobik, maya ve küf ile toplam koliform sayılarının azaldığı gözlenmiştir. Bu durumun dondurma işleminin etkisinden kaynaklandığı

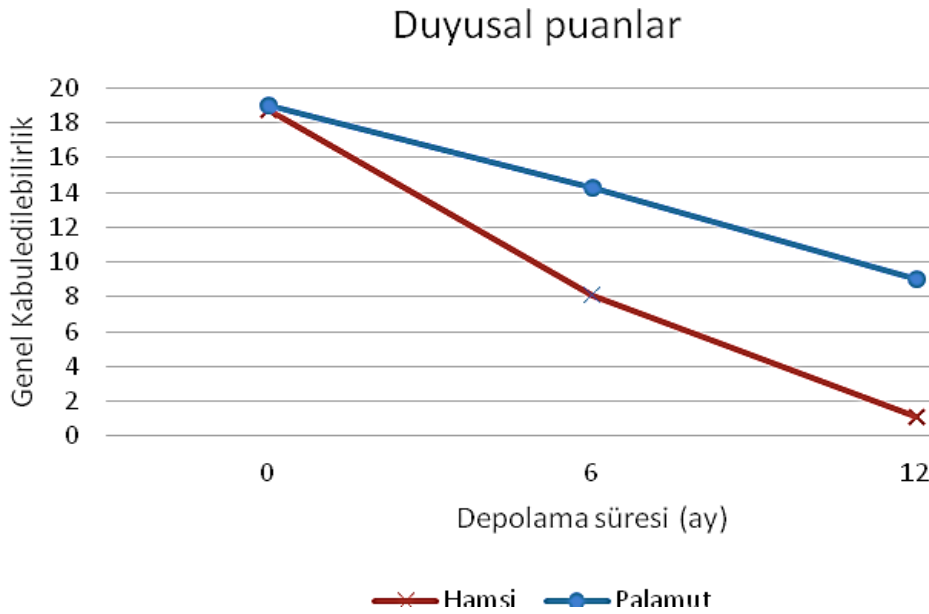


düşünülmektedir. Belli bir sıcaklık derecesinden sonra mikrobiyolojik değişimlerin tamamen sona erdiği ancak enzim aktivitesi tamamen durmadığından biyokimyasal değişimlerin devam ettiği bildirilmiştir (Herrmann, 1970; Hamm vd., 1982; Varlık vd., 2004). Mikrobiyolojik kalite açısından 12 ay süresince -22 °C'de donmuş depolanan palamut ve hamsi balıklarının aerobik bakteri yükü, ICMSF (1982) tarafından tavsiye edilen aerobik bakteri yüküne göre düşüktür ( $1 \times 10^6$  g<sup>-1</sup>). Et ürünlerinde maya ve küfler için

belirli bir limit değerin bulunmadığı bildirilmiştir (De la Canal, 2004; Stagnitta vd., 2006). Tespit edilen başlangıç maya-küf ve toplam koliform sayılarının balıkların taşınması ve paketlenmesi sürecinde havadan ve ortamdan kaynaklanan kontaminasyonla ilgili olduğu düşünülmektedir.

### Duyusal değerlendirme

Çalışmamızda -22 °C'de depolanan palamut ve hamsi balıklarının 0, 6, 12 aylara ait duyu analizi sonuçları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. -22°C'de depolanan palamut ve hamsi balıklarının 0, 6, 12 aylara ait duyu analizi sonuçları  
Figure 1. Sensory analysis results of bonito and anchovy samples stored at -22°C during 0, 6, 12 month

Palamut balığına ait duyu puanlarının depolama süresine bağlı olarak azaldığı ancak 12 aylık depolama süresi sonunda tüketilebilirlik sınır değerlerini aşmadığı görülmüştür. Parametrik olmayan Friedman testine göre gerçekleştirilen istatistiksel değerlendirme sonuçlarına göre; palamut balığına ait 0, 6 ve 12 aylar arasındaki görünüş, koku, tat ve tekstür puanları birbirinden önemli düzeyde farklıdır ( $P < 0.05$ ).

Taze hamsi balıklarında 6 aylık depolama sonrasında görünüş, koku ve tekstür puanlarında sınır değerler aşılmamıştır ancak tat puanları açısından kabul edilebilirlik sınır değerlerinin aşıldığı

görülmüştür. 12 aylık depolama süresinin sonunda ise tüm parametreler açısından tüketilebilirlik sınır değerlerin aşıldığı tespit edilmiştir. Friedman testine göre gerçekleştirilen istatistiksel değerlendirmede, hamsi balıklarının 0, 6 ve 12 aylar arasındaki görünüş, koku, tat ve tekstür puanları birbirinden önemli düzeyde farklı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Turan ve Erkoyuncu (2004) farklı işlemler uygulanarak dondurulan palamut balığının duyu değerlendirilmesinde kontrol grubu dahil tüm gruplarda koku, tekstür, lezzet ve genel beğeni puanlarının 6 aylık depolama süresince

azaldığı ancak 6 ay sonunda bile 'iyi' ve 'çok iyi' kalite özelliğini koruduğunu bildirmişlerdir. Kocatepe vd., (2014) köpük tabaklara konulup, streç film ile paketlenen (kontrol grubu) ve -30°C'de 6 ay depolanan hamsi balığının duyuşal değerlendirmesinde 6. ayda duyuşal puanlara göre tüketilemez bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu durum kısmen çalışmamızda tat puanlarının 6.ay sonunda tüketilebilirlik sınır değerlerini aşması ile benzerlik göstermektedir. Bir başka çalışmada, hamsi balıkları -40 °C'de şoklanmış ve -26 °C'de 9 ay depolanmışlardır. Duyusal kalite açısından hamsi balıklarının 7. ayda ikinci kalite ve 9. ayda ise üçüncü kaliteye sahip oldukları bildirilmiştir (Orak ve Kayışoğlu, 2008).

Palamut ve hamsi balıklarının uzun süreli depolanması ve duyuşal özelliklerinin değerlendirilmesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Turan ve Erkoyuncu, 2004; Kocatepe vd., 2014; Orak ve Kayışoğlu, 2008). Bu nedenle çalışmamıza kısmen benzer olan farklı balık türlerinin duyuşal verileri değerlendirilmiştir. Buna göre; bütün ve fileto halinde -40 °C'de şoklanıp, -20 °C'de depolanan kaya morinasının (*Epinephelus spp.*) duyuşal özelliklerinin 9 aylık depolama sonrasında iyi kalitede oldukları bildirilmiştir (Lakshmanan vd., 1990). Bir başka çalışmada, sonbahar ve kış aylarında yakalanan deniz levreği filetoları -40°C'de şoklanmış ve 0-3 °C'de glaze işlemleri uygulanmıştır. Filetolar köpük tabaklara konularak, streç film ile paketlenmiş ve -18°C'de 9 ay depolanmışlardır. Her iki mevsimde de avlanan levrek balıklarının 9 aylık depolama periyodu sonrasında duyuşal puanlarının azaldığı ancak kabul edilebilir limit değerleri aşmadığı belirtilmiştir (Özyurt vd., 2007).

Çalışmamızda 12 ay -22° C'de depolanan palamut balıklarının duyuşal kalite özelliği 'Kabul edilebilir' olarak bulunmuştur. Hamsi balıklarının ise 6. ayın sonunda tat puanları 'bozulmuş' olarak nitelendirilirken, görünüş, koku ve tekstür puanları 'Kabul edilebilir' olarak değerlendirilmiştir. Ancak tattaki değişimlerin yağların oksidasyonuna bağlı olarak meydana geldiği düşünülerek, hamsi balıklarının duyuşal raf ömrü 6 ay olarak belirlenmiştir. Balık türleri, uygulanan ön işlemler, şoklama, paketlenme,

depolama sıcaklığı ve koşulları gibi işlemler diğer çalışmalar ile aradaki benzerlik ve farklılıkları etkilemektedir.

### SONUÇ

Bu çalışmada -22 °C'de 12 ay donmuş depolanan palamut ve hamsi balıklarının duyuşal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Buna göre; buzdolabı poşetlerinde depolanan palamut balıklarının -22 °C'de 12 ay sonunda dahi duyuşal açıdan tüketilebilirlik özelliklerini koruduğu, polistiren tabaklara konularak streç film ile paketlenen hamsi balıklarının ise 6 ayın sonunda duyuşal olarak bozulduğu belirlenmiştir. Yapılan besin kompozisyonu analizlerine göre depolamanın her iki balık türünde de besin değerlerini etkilemediği (yağ değerleri hariç) söylenebilir. Kimyasal analiz sonuçlarına göre depolama süresi sonunda her iki balık türünde de TVB-N değerlerinin tüketilebilirlik sınır değerlerini aşmadığı görülmüştür. Bununla beraber, palamut balıklarında TBA değerleri 'iyi' kalite sınırları içerisinde kalırken, hamsi balıklarının 12 ay sonunda tüketilebilirlik sınır değerlerini aştığı görülmüştür. Peroksit değerleri palamut ve hamsi balıklarının 12 aylık depolanması sonrasında sınır değerleri aşmış olsa da, hem TBA değerlerinin hem de duyuşal puanların özellikle palamut balığı açısından farklılık göstermesi açısından temel bir belirleyici olarak değerlendirilmemiştir. Çalışmamızda 12 aylık depolamadan sonra elde edilen aminoasit ve yağ asitleri miktarlarının donmuş depolama sırasında etkilenmiş olabileceği düşünölmekte ancak bunun aynı tür balıkları kapsayan çalışmalarda desteklenmesi gerekmektedir. Palamut ve hamsi balıklarının toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam psikrofilik aerobik bakteri, maya ve küf ile toplam koliform sayılarının 12 aylık depolama sonrasında donmuş depolamanın etkisi ile azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik kalite açısından 12 ay donmuş depolanan palamut ve hamsi balıklarının iyi kalite özelliklerini koruduğu söylenebilir.

Sonuç olarak; ölkemizde özellikle Karadeniz kıyı kesimlerinde yaşıyan insanların belirli dönemlerde avcılığı bol olan palamut ve hamsi

gibi balıkları evlerinde muhafaza etmek için yaygın olarak kullandığı yöntemler; buzdolabı poşetlerine koyarak ya da polistiren (köpük) tabaklar ile streç film ile paketlenerek dondurucuda depolanmaktadır. Bu çalışma ile yıkama, ön soğutma, şoklama, ayıklama vb. hiçbir işlem uygulanmaksızın -22 °C'de buzdolabı poşetlerinde muhafaza edilen palamut balıklarının 12 ay boyunca tüketilebilirlik sınır değerlerini aşmadığı ve köpük tabaklara konularak, streç film ile paketlenen hamsi balıklarının ise 6. ayda bozulduğu belirlenmiştir.

#### KAYNAKLAR

Akbulut, N., Karagözlü, C. (2012). Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Medya, Yayın No: 017-1B. İzmir.

Anonymous, (1989). Peroxide Value, AOCS Official Method, Cd 8-53.

Anonymous, (2005). Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 358 s.

AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC. (1980a). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp. Metot no: 38012.

AOAC. (1980b). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp. Metot no: 16196.

AOAC. (1980). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp.

Aranda, M., Mendoza, N., Villegas, R. (2006). Lipid damage during frozen storage of whole jack mackerel (*Trachurus Symmetricus Murphyi*). *J Food Lipids*, 13, 155–166.

Aydın, I. (2011). Farklı Sıcaklık ve Sürelerde Dondurma İşleminin Hamsi Balığında Yağ Oksidasyonuna Etkileri. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 76s.

Bayır, A., Haliloğlu, H.İ., Sirkecioğlu, A.N., Aras, N.M. (2006). Fatty acid composition in some

selected marine fish species living in Turkish waters. *J. Sci. Food Agric.* 86:163–168.

Beklevik, G., Polat, A., Özoğul, F. (2005). Nutritional value of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) filets during frozen (-18°C) storage. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 891-895.

Ben-Gigirey, B., Sousa, J.M.V.B., Villa, T.G., Barros-Velazquez, J. (1998). Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *J. Food Prot.* 61, 5, 608-615.

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.* 37(6), 911–917.

Boran, M. (1991). Farklı İşlem Uygulanarak Dondurulan Hamsilerde Muhafaza Süresince Oluşan Kalite Değişiklikleri Üzerine Bir Araştırma. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Trabzon. 41s.

Cheng Lin, C., Saint Lin, C. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito filets by glazing with tea extracts. *Food Control*, 16, 169–175.

Curran CA, Nicoladies L, Poulter RG, Pors J. (1980). Splipidage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. *Trop Sci*; 22: 367-382.

Çaklı, Ş., Tokur, B., Çelik, U., Taşkaya, L. (2003). No-Frost koşullarda depolanan sardalya balıklarının (*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)) fiziksel, kimyasal ve duyuşal değerlendirilmesi. *E. Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 20, (1-2):87-93.

De la Canal JJ. Meat foods and similar ones. Chapter VI. Art. 255 bis. [code of law on Internet]. De la Canal & Asociados SRL; (2004) [cited 2006 Mar 23]. Available from: [www.anmat.gov.ar/codigo/caal.htm](http://www.anmat.gov.ar/codigo/caal.htm). (In Spanish.)

Demirtas, I., Pelvan, E., Ozdemir, I.S., Alasalvar, C., Ertas, E. (2013). Lipid characteristics and phenolics of native grape seed oils grown in Turkey. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 115, 641–647.

- Dimova, N. (2003). RP-HPLC Analysis of Aminoacids with UV-Detection, Bulgarian Academy of Science, Tome 56, No 12.
- Dinstel, R.R. (2013). Home Freezing of Fish. The University of Alaska Fairbanks Cooperative Extension Service. FNH-00222. <https://www.uaf.edu/files/ces/publications-db/catalog/hec/FNH-00222.pdf>. Erişim tarihi: 20.04.18.
- Erkan, N., Özden, Ö., Selçuk, A. (2010). Effect of frying, grilling, and steaming on amino acid composition of marine fishes. *Journal of Medicinal Food J Med Food*, 13 (6), 1524–1531.
- Erkan, N., Tosun, Ş.Y., Alakavuk, D.Ü., Ulusoy, Ş. (2009). Keeping quality of different packaged salted atlantic bonito “Lakerda”. *J. Food Biochem*, 33, 728–744.
- Fidanbaş, Z.U.C., Bilgin, Ş., Ertan, Ö.O. (2015). Bazı deniz balıklarının aminoasit - yağ asiti içerikleri ve beslenme açısından önemi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 11(2):45-59.
- Gargacı, A. (2014). Geleneksel Yöntemle Palamut (*Sarda sarda*), Balığı Konservesi Üretimi ve Biberiyenin (*Rosmarinus officinalis*), Kalite Üzerine Etkisi. Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 82s.
- Gökalp H.Y., Kaya M., Tülek Y., Zorba Ö., (1993). Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniversitesi yayın no: 751, Ziraat Fakültesi yayın no: 318, Ders kitapları serisi: 69. sayfa, 214-217.
- Gram, L., Huss, H.H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int J Food Microbiol*, 33, 121-137.
- Gunderson, J. (1984). *Fixin' Fish: A Guide to Handling, Buying, Preserving, and Preparing Fish*. 2nd Edition, University of Minnesota Press, Minneapolis, 56 pp.
- Güner, S., Dinçer, B., Alemdağ, N., Çolak, A., Tüfekçi, M. (1998). Proximate composition and selected mineral content of commercially important fish species from the black sea. *J Sci Food Agric*, 78, 337-342.
- Hall GM. (1992). *Fish Processing Technology*. New York, NY, USA: Blackie Academic Professional.
- Hamm, R., Gottesmann, P., Kijowski, J. (1982). Einfrieren und auftauen von Fleisch: Einflüsse auf Muskelgewebe und Tausaftbildung. *Fleischwirtschaft*, 62(8):983-989.
- Herrmann, K. (1970). *Tiefgefrorene Lebensmittel*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. ISBN:3 489 70214 X.
- İnanlı A G, Karaton N, Çoban Ö E. (2011). Sensorial, chemical and microbiological quality of anchovy cake. *Afr. J. Biotechnol.*, 10(48), 9870-9874.
- İnat, G., Pamuk, Ş., Sırken, B., Demirel, Y.N. (2013). Tüketime hazır tuzlanmış hamsi balıklarının (*Engraulis encrasicolus*) mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi. *Vet Hekim Der Derg.*, 84(1): 26-35.
- Karaçam, H., Boran, M. (1996). Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18°C. *Int. J. Food Sci. Technol*, 31, 527–531.
- Kılınç, B., Çaklı, Ş., Kışla, D. (2003). Quality changes of sardine (*Sardina pilchardus* W., 1792) during frozen storage. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 20(1-2):139-146.
- Kocatepe, D., Turan, H. (2012). Proximate and fatty acid composition of some commercially important fish species from the sinop region of the black sea. *Lipids*, 47:635–641.
- Kocatepe, D., Turan, H., Kaya, Y., Taşkaya, Y., Erdoğan, F., Erden, R. (2014). Effect of potassiummetabisulphite, glaze and vacuum on shelf life of frozen blacksea anchovy (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758). *Research & Reviews in Biosciences*, 9(3).
- Külcü, D.B. (2017). Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen palamut (*Sarda sarda*) balığının bazı kimyasal kalite niteliklerinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. Doi:10.16984/saufenbilder.298978.
- Lakshmanan, P.T., Varma, P.R.G., Iyer, T.S.G., Gopakumar, K. (1990). Quality changes in

- seafrozen whole and filleted rock cod (*Epinephelus spp.*) during storage. *Fish Res*, 9, 1-12.
- Lakshmisha, I.P., Ravishankar, C.N., Ninan, G., Mohan, C.O., Gopal, T.K.S. (2008). Effect of freezing time on the quality of indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) during frozen storage. *J. Food Sci*, 73, 7.
- Ludorf, W., Meyer, V. (1973). *Fishe und fisherzeuge*. Z.Auflage. Verlag Paul Parey In Berlin und Hamburg; pp. 209-210.
- Mısır, G.B., Tufan, B., Köse, S. (2014). Monthly variation of total lipid and fatty acid contents of Atlantic bonito, *Sarda sarda* (Bloch, 1793) of Black Sea. *Int. J. Food Sci. Technol*, 49, 2668–2677.
- Nazemroaya, S., Sahari, M.A., Rezaei, M. (2011). Identification of fatty acid in mackerel (*Scomberomorus commersoni*) and shark (*Carcharhinus dussumieri*) fillets and their changes during six month of frozen storage at -18°C. *J. Agr. Sci. Tech. Vol.* 13: 553-566.
- Neuman, R., Molnar, P., Arnold, S. (1983). *Sensorische Lebensmittel untersuchung*, Fachbuchverlag, Leipzig.
- Orak, H.H., Kayışoğlu, S. (2008). Quality changes in whole, gutted and filleted three fish species (*Gadus euxinus*, *Mugil cephalus*, *Engraulis encrasicolus*) at frozen storage period (-26°C). *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 7(3), 15-28.
- Öksüz, A., Özyılmaz, A. (2010). Changes in fatty acid compositions of black sea anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) during catching season. *Türk J Fish Aquat Sci*, 10: 381-385.
- Özdamar, K. (2015). Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi-1. Nisan Kitabevi Yayınları, 10. Baskı, 603 s.
- Özyurt, G., Polat, A., Tokur, B. (2007). Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Int J Food Sci Technol*. 42, 887–893.
- Paola, A.S., Isabel, Y.M. (2015). Effect of frozen storage on biochemical changes and fatty acid composition of mackerel (*Scomber japonicus*) muscle. *Journal of Food Research*, 4, 1.
- Rzepka, M., Özoğul, F., Surowka, K., Michalczyk, M. (2013). Freshness and quality attributes of cold stored Atlantic bonito (*Sarda sarda*) gravad. *Int J Food Sci Technol*. 48, 1318–1326.
- Stagnitta, P.V., Micalizzi, B., Guzman, A.M.S. (2006). Prevalence of some bacteria yeasts and molds in meat foods in San Luis, Argentina. *Cent Eur J Publ Health*, 14 (3): 141–144.
- Şengör, G.F., Kalafatoğlu, H., Gün, H. (2004). The determination of microbial flora, water activity and chemical analyses in smoked, canned mussels (*Mytilus galloprovincialis*, L.). *Türk J Vet Anim Sci*, 28, 793-797.
- Tarladgis B, Watts BM, Yonathan M, Dugan L. (1960). Distillation method for determination of malonaldehyde in rancidity food. *J Amer Oil Chem Soci.*,37(1): 44-48.
- Temiz, A. (1998). *Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler*, Editör: A. Ünlütürk, F. Turantaş Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı-İzmir.
- TSE. (1985). *Balıkların Dondurarak Muhafaza Koşulları*. TS 4641/Kasım, UDK 639.33. Türk Standartları Enstitüsü. Necatibey cd. No: 112. Bakanlıklar/Ankara.
- Turan, H., Erkoyuncu, İ. (2004). Farklı işlemler uygulanarak dondurulan palamut balığında (*Sarda sarda* Bloch, 1793) donmuş depolama süresince oluşan kalite değişimleri. *Türk J Vet Anim Sci*, 28, 1017-1024.
- Turan, H., Kocatepe, D., Altan, C.O., Gökner, G. (2015). Effect of different thawing methods on the quality of bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793). *Ukrainian Food Journal*. Vol 4. Issue 3. 460-466.
- TÜİK, (2017). *Su Ürünleri*, 2016. Sayı: 24657.
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., Baygar, T. (2004). *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. İÜ Su Ürünleri Fakültesi Yayın, 975-404-715-4. İstanbul. 491s.
- Varlık, C., Uğur, M., Gököğlü, N., Gün, H. (1993). *Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 17, Ankara, 174 s.

Viji, P., Panda, S.K., Mohan, C.O., Bindu, J., Ravishankar, C.N., Srinivasa Gopal, T.K. (2016). Combined effects of vacuum packaging and mint extract treatment on the biochemical, sensory and microbial changes of chill stored Indian mackerel. *J Food Sci Technol*, 53(12):4289–4297.

Wesselinova, D. (2000). Amino acid composition of fish meat after different frozen storage periods. *J Aquat Food Prod T*, Vol. 9(4).

Yerlikaya, P., Gökoğlu, N. (2010). Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. *Int J Food Sci Technol*. 45, 252–257.

Yiğit, V. (1983). Gıdalarda Su Etkinliği ve Önemi, TÜBİTAK Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bilimi, Yayın No: 73, 17s.



## MILK JAM OR DULCE DE LECHE: PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION

Zerrin Yüksel Önür\*

Çanakkale Onsekiz Mart University, Department of Food Technology, Bayramiç Vocational Collage, Canakkale, Turkey

Received / Geliş: 21.09.2018; Accepted / Kabul: 24.11.2018; Published online / Online baskı: 14.12.2018

Yüksel Önür, Z. (2018). Milk jam or dulce de leche: physicochemical characterization. GIDA (2018) 43(6): 1091-1099 doi: 10.15237/gida.GD180111

Yüksel Önür, Z. (2018). Süt reçeli veya dulce de leche: fizikokimyasal karakterizasyonu. GIDA (2018) 43(6): 1091-1099 doi: 10.15237/gida.GD180111

### ABSTRACT

Physicochemical characterization of Dulce de Leche (DL) or milk jam, a type of sweetened concentrated milk especially popular in South America, was carried out on six commercial brands produced in Turkey. One of the samples was prepared using sheep milk while the others were purchased from local retailers. Solid content, protein, fat, ash, pH and lactic acid content were determined. Lightness, yellowness and redness as color parameters of the DL samples were evaluated. Carbohydrate profile and contents in DL samples were also determined by HPLC. The data were treated using Principal Component Analysis (PCA). Extensive variability among all the parameters evaluated was observed, as a result of using different DL production procedures in the dairies. In this regard, PCA was shown to be useful to separate the DL samples with distinct physicochemical characteristics and to assess the influence of different production techniques on the properties of DL samples.

**Keywords:** Dulce de Leche, physicochemical analysis, milk jam, principle component analysis.

## SÜT REÇELİ VEYA DULCE DE LECHE: FİZİKOKİMYASAL KARAKTERİZASYONU

### ÖZ

Özellikle Güney Amerika'da popüler olan şekerli konsantre sütün bir tipi Dulce de Leche (DL) veya süt reçelinin fizikokimyasal karakterizasyonu, Türkiye'de üretilen altı ticari ürün ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerden biri koyun sütü kullanılarak hazırlanmış, diğerleri yerel perakendecilerden satın alınmıştır. Kuru madde, protein, yağ, kül, pH, laktik asit içeriği ve renk parametreleri belirlenmiştir. Renk parametreleri olarak "lightness", "yellowness" ve "redness" değerlendirilmiştir. DL örneklerindeki karbonhidrat profili ve içeriği ise HPLC ile belirlenmiştir. Veriler, Temel Bileşen Analizi (TBA) kullanılarak işlenmiştir. Değerlendirilen tüm parametreler arasında, işletmelerde farklı DL üretim prosedürlerinin kullanımının bir sonucu olarak, geniş aralıkta bir değişkenlik gözlenmiştir. Bu bağlamda, TBA'nın, DL örneklerinin özellikleri üzerine farklı üretim tekniklerinin etkisinin belirlenmesinde ve belirgin fizikokimyasal karakteristiklere sahip DL örneklerinin ayırt edilmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Dulce de Leche, fizikokimyasal analiz, süt reçeli, temel bileşen analizi.

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ [zyuksel@comu.edu.tr](mailto:zyuksel@comu.edu.tr),

☎ (+90) 286 773 2512

☎ (+90) 286 773 2513

## INTRODUCTION

Dulce de Leche (DL) or milk jam or milk caramel is a sweetened concentrated milk product, which is popular in some South American countries. In recent years, DL products have started to be on the market, increasingly, with the name of “milk jam” in Turkey. Çanakkale is the one of the important cities in the country, in which is produced large amount of cow, sheep and goat milk, and dairy products. DL is consumed especially as a spread, as a dessert and at breakfast and can be used for confectionery and ice-cream manufacture in Turkey. In DL production, milk and sucrose mixture is concentrated by boiling at atmospheric pressure to a solids content of approximately 70 %. In some case, sucrose is partially replaced by glucose to avoid crystallization. Maillard browning is the main reaction between sugars and milk proteins during the production of DL (Malec et al., 1999). Sodium bicarbonate ( $\text{NaHCO}_3$ ) is added during production in order to avoid casein coagulation and favor the Maillard reaction, responsible for its typical brown color and flavor.

DL is a complex biopolymeric matrix, and proteins and carbohydrates are the two main construction materials of the DL (Ranalli et al., 2016). Typical composition of DL is moisture (30 %, max), milk solids not fat (24 %, min), milk fat (6-9 %), protein (5 %, min) and ash (2 %, max) (Zalazar and Perotti, 2011). According to Resolution No 12/78 of the National Norms and Standards for Foods, moisture and sugar (excluding lactose) contents of Dulce de Leche must be 30 g / 100 g and 60 g / 100 g, respectively (Silva et al., 2015).

Although DL is composed of milk, sucrose,  $\text{NaHCO}_3$  and other additives, it can exhibit distinct characteristics because of different processing parameters. Using different milk such as goat and / or sheep and / or their mixture in DL production have also direct influence on the physicochemical properties of the final product.

Traditional manufacturing in open kettles is the most widely used process in the industry (Figure 1). It's a classic batch process, and there is a

general agreement that this process produces the best quality DL (Zalazar and Perotti, 2011).

One of the most important steps in production is heating or boiling step. During boiling, Maillard reaction occurs depending on the raw materials used, and the processing conditions such as pH, time and temperature; and the reaction provides a desirable color and a very pleasant flavor to the product.

Monitoring and evaluation of the physicochemical characteristics of the DL is important because these characteristics are strongly related to nutritional, technological and sensory quality of the product. However, there are few studies on the properties and composition of the DL in the literature (Ferreira et al., 2011; Gaze et al., 2015; Ranalli et al., 2012; Ranalli et al., 2016; Silva et al., 2015) and furthermore there are no studies on the DL produced in Turkey.

The objective of the present work was to characterize total six commercial DL brands, which one of them was produced in a certain dairy in Çanakkale and the others purchased from Çanakkale market. This study also proposes an approach to distinguish different DL samples using physicochemical analysis and principle component analysis (PCA).

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Five of total six DL samples (1 – 5) were purchased in local retailers located in Çanakkale. 1 – 4 samples were cow milk DL and sample 5 was goat milk DL. Sample 6 was produced in a local dairy plant (Güntepe) by using sheep milk. Samples were transferred to the laboratory at room temperature. General composition and properties of the sheep milk used production of sample 6 were determined and presented in Table 1.

In preparation of sample 6, whole sheep milk, sucrose and sodium bicarbonate were used. According to traditional production method, the mixture was boiled during approximately 120 minutes, keeping a constant manual agitation. After boiling, sample was cooled to about 50°C and packaged in glass containers (Figure 1).



Table 1. General composition of sheep milk used for DL (sample 6) production

Dry matter (g/100 g)	Fat (g/100g)	Protein (g/100g)	Lactic acid (g/100g)	pH
17.86 ± 0.23	7.35 ± 0.24	5.39 ± 0.17	0.165 ± 0.06	6.82 ± 0.09

\* Values are means ± standard deviation.

Analyses were performed in triplicate.

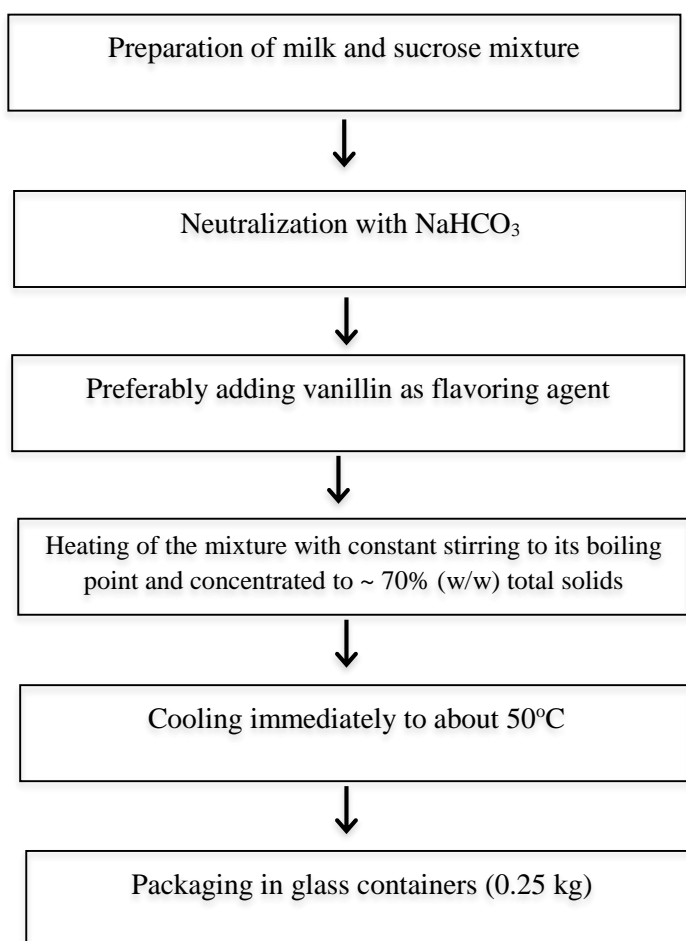


Figure 1. Traditional (batch) production of DL (in open kettles)

All DL samples is handmade, uses discontinuous processing.

Dry individual sugar standards (glucose, sucrose and lactose) were purchased from Sigma (Germany).

#### Physicochemical analyses

General composition (moisture, protein and ash) was determined according to the recommendations of the Association of Official

Analytical Chemists (AOAC, 2005). Moisture was determined gravimetrically by oven drying until constant weight. The ash content was determined gravimetrically after incineration of 3 g sample at 550°C in a muffle furnace. Protein content was calculated using the total nitrogen determined by Kjeldahl method with subsequent multiplication by the factor 6.38. The pH and the percentage of lactic acid were determined. The pH was measured in a pH meter (Sartorius, TE214S,

Germany) by direct insertion of the electrode in the sample. The lactic acid was measured by titration with sodium hydroxide using phenolphthalein as indicator.

#### **Sugar analyses by HPLC**

The analyses of sugars (lactose, sucrose and glucose) were performed by high performance liquid chromatography (HPLC) according to the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2006). All standards (lactose, sucrose and glucose) were dissolved in deionized water and serially diluted to concentration of 50 µg/ml. They were prepared daily. 10 g DL was weighted into centrifuge bottle and added 50 ml petroleum ether. Then the sample was centrifuged for 15 min at 1800 rpm. Supernatant was decanted and discarded, and extraction was repeated. Precipitate was pulverized with a glass rod and added 100 g deionized water and weighted and placed in 85°C water bath for 25 minute. And then it was cooled to room temperature and added deionized water to original weight. It was centrifuged for 10 min at 2000 rpm until withdrawing portion of clear supernatant. The clear supernatant was filtered through 0,45 µm filter (Sartorius, GmbH, Germany).

The HPLC analysis of sugars was performed on an Agilent 1200 series HPLC system consisting of a detector RID 1200 (Agilent Technologies). Filtered samples were injected (50 µm) into the HPLC using a Luna Amino column (100Å pore size, Phenomenex, Torrance, CA, USA), 250 mm x 4.6 mm i.d. with 5µm particle size.

The mobile phase was acetonitrile:water 80:20 (v/v) at flow rate of 1.5 ml/min. HPLC chromatograms were obtained using Agilent ChemStation software.

#### **Color measurement**

The color parameters were determined by using a spectrophotometer (M-3600d, Minolta Co., Japan) at room temperature. The results were expressed in L\* (lightness; 0 = black, 100 = white), a\* (+a = redness, - a\* = greenness) and b\* (+b = yellowness, - b\* = blueness) values.

#### **Statistical analysis**

One-way analysis of variance (ANOVA) was performed using the ANOVA procedures of the IBM-SPSS statistics software (version 23.0). Principle Component Analysis (PCA) was applied using the mean values of the physicochemical, sugar and color results. The matrix data set was composed of 6 lines and 14 columns. The statistical package was R project (FactoMineR and factoextra R package).

#### **RESULTS and DISCUSSION**

Table 2 shows average protein, ash, moisture and total sugar as well as the average pH and lactic acid of the samples. It was reported that typical composition of DL is moisture (30 %, max), milk solids not fat (24 %, min), ash (2 %, max) and protein (5 %, min) (Zalazar and Perotti, 2011). Furthermore, faced with the need to establish standards for DL, some countries have created an identity and quality regulation (BSR, 1997), establishing the above mentioned limits for DL. Therefore, high moisture (especially for sample 3) and low protein (for samples 2 - 5) contents were found in the present study. Samples 3 - 5 did not comply with the typical composition values for DL when its typical composition was taken into account.

Sample 6 produced from sheep milk presented the highest protein content and the lowest moisture content. And the lowest protein content was estimated in the DL sample 5 produced from goat milk. Protein values in the cow milk DL samples (1 - 4) ranged from 3.27 to 6.43, respectively, with a significant variability ( $P < 0.05$ ).

Ash values of the samples presented more variability as protein values did. It was also found that goat milk DL sample (5) had the highest ash content.

Moisture values of the samples (1 - 4) produced from cow milk (in the range of 26.36 – 37.58) varied significantly between the samples according to the different ingredients that could be included and different parameters in the production operated.

Table 2. Chemical composition and acidity values for the DL samples\*

Samples	Protein (g/100 g)	Moisture (g/100 g)	Total sugar (g/100 g)	Ash (g/100g)	T. sugar in DM(g/100g)	Protein in DM(g/100g)	Lactic acid (g/100 g)	pH
1	6.43 <sup>e</sup> ± 0.01	30.94 <sup>d</sup> ± 0.03	47.27 <sup>c</sup> ± 0.23	1.88 <sup>e</sup> ± 0.02	68.45 <sup>cd</sup> ± 0.31	9.31 <sup>e</sup> ± 0.01	0.349 <sup>c</sup> ± 0.01	6.09 <sup>a</sup> ± 0.01
2	3.27 <sup>b</sup> ± 0.09	31.09 <sup>d</sup> ± 0.03	45.06 <sup>bc</sup> ± 0.60	1.70 <sup>d</sup> ± 0.01	65.39 <sup>e</sup> ± 0.84	4.74 <sup>b</sup> ± 0.13	0.226 <sup>b</sup> ± 0.00	6.30 <sup>a</sup> ± 0.02
3	4.71 <sup>d</sup> ± 0.06	37.58 <sup>e</sup> ± 0.18	44.78 <sup>bc</sup> ± 0.30	1.38 <sup>a</sup> ± 0.01	71.74 <sup>d</sup> ± 0.70	7.55 <sup>d</sup> ± 0.11	0.098 <sup>a</sup> ± 0.00	6.75 <sup>b</sup> ± 0.07
4	4.40 <sup>c</sup> ± 0.04	26.36 <sup>b</sup> ± 0.25	43.36 <sup>b</sup> ± 0.59	1.63 <sup>c</sup> ± 0.01	58.88 <sup>b</sup> ± 1.00	5.98 <sup>e</sup> ± 0.03	0.371 <sup>c</sup> ± 0.02	6.07 <sup>a</sup> ± 0.09
5	1.76 <sup>a</sup> ± 0.04	28.04 <sup>a</sup> ± 0.16	38.94 <sup>a</sup> ± 0.04	2.56 <sup>f</sup> ± 0.01	54.11 <sup>a</sup> ± 0.26	2.44 <sup>a</sup> ± 0.01	0.386 <sup>c</sup> ± 0.01	6.19 <sup>a</sup> ± 0.04
6	9.00 <sup>f</sup> ± 0.04	25.24 <sup>c</sup> ± 0.42	45.19 <sup>bc</sup> ± 1.55	1.55 <sup>b</sup> ± 0.02	60.45 <sup>b</sup> ± 2.20	12.03 <sup>f</sup> ± 0.1	0.235 <sup>b</sup> ± 0.02	6.31 <sup>ab</sup> ± 0.13

<sup>a-f</sup> Means with different letters in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ) using Tukey's test.

\* Values are means ± standard deviation.

Analyses were performed in triplicate.  
(DM represents dry matter)

Regarding acidity, samples 1, 4 and 5 were statistically ( $P < 0.05$ ) close, with lactic acid values of 0.35, 0.37 and 0.39, respectively, while sample 3 was significantly different from the other DL samples with its low acidity ( $P < 0.05$ ). It was found that pH has a strong correlation with L\* (lightness) ( $r=0.723$ ,  $P < 0.01$ ). Decreasing lightness with decreasing pH indicated that non-enzymatic browning reactions occurred at higher rates. It's known that at pH= 5 - 6, there is active participation of the sugars in the Maillard

reaction, increasing the tendency to browning (Oliveira et al., 2009).

As shown in Table 3, differences were also observed for all sugars between samples ( $P < 0.05$ ). Sample 1 showed the highest lactose content while sample 4 and 6 presented the highest sucrose values. Only samples 1 and 2 include glucose while this sugar was not found in the other DL samples, suggesting heterogeneity of the technological processing of DLs.

Table 3. Sugars (lactose, sucrose and glucose) in DL samples obtained by HPLC

Samples	Lactose (g/100 g)	Sucrose (g/100 g)	Glucose (g/100 g)
1	10.87 <sup>e</sup> ± 0.05	35.47 <sup>ab</sup> ± 0.26	0.93 <sup>b</sup> ± 0.07
2	9.71 <sup>d</sup> ± 0.13	33.18 <sup>a</sup> ± 0.39	2.17 <sup>c</sup> ± 0.09
3	7.00 <sup>c</sup> ± 0.28	37.78 <sup>cd</sup> ± 0.59	-
4	2.50 <sup>a</sup> ± 0.18	40.86 <sup>de</sup> ± 0.76	-
5	5.41 <sup>b</sup> ± 0.09	33.53 <sup>a</sup> ± 0.13	-
6	2.70 <sup>a</sup> ± 0.13	42.49 <sup>e</sup> ± 1.68	-

<sup>a-c</sup> Means with different letters in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ) using Tukey's test.

\* Values are means ± standard deviation.

Analyses were performed in triplicate.

Color measurements were carried out in order to detect differences between both production techniques and determine deviations according to the use of additives. A change in color can be an indication for non-enzymatic browning reactions, which occur during heating. As shown in Table 4,

significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed for all samples with respect to the color measurements. The differences among the samples are probably due to the differences in protein and carbohydrate composition and the changes in time and temperature according to the

each production protocol as well as the differences of milk type used in the manufacturing. Sample 4 showed the lowest lightness and yellowness parameters tending to be darker (Table 4). This sample was found to be significantly different from the other samples. This result indicated that Maillard and

caramelization reactions occurred most intensively in the sample 4. When DL is produced by a prolonged processing time and / or by an excess of neutralizing agent, dark color can appear. On the other hand, this characteristic is very much desirable in DL used in ice cream manufacture (Zalazar and Perotti, 2011).

Table 4. Color parameters of the DL samples (L\*; lightness, a\*; redness and b\*; yellowness)

Samples	L*	a*	b*
1	48.68 <sup>c</sup> ± 0.21	6.49 <sup>c</sup> ± 0.49	17.24 <sup>cd</sup> ± 1.65
2	46.23 <sup>c</sup> ± 0.91	6.66 <sup>c</sup> ± 0.07	13.82 <sup>bc</sup> ± 0.05
3	57.36 <sup>d</sup> ± 0.45	1.73 <sup>a</sup> ± 0.10	11.58 <sup>b</sup> ± 0.35
4	30.66 <sup>a</sup> ± 0.28	3.55 <sup>b</sup> ± 0.04	3.30 <sup>a</sup> ± 0.02
5	43.48 <sup>b</sup> ± 0.98	8.36 <sup>d</sup> ± 0.29	17.63 <sup>d</sup> ± 1.10
6	48.25 <sup>c</sup> ± 0.50	6.92 <sup>c</sup> ± 0.35	14.55 <sup>bcd</sup> ± 0.73

<sup>a-d</sup> Means with different letters in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ) using Tukey's test.

\* Values are means ± standard deviation.

Analyses were performed in triplicate.

Color parameters varied between the DL samples according to the formulation, different type of milk used in production, different additives and manufacturing technique. In the previous study, lightness values, detected on nine commercial DL sample representative of Argentinean market, ranged between 31.2 and 42.5 (Pauletti et al., 1992). In the present work, the L\* value is somewhat lower for only sample 4 (30.66) while the L\* values are higher in the other samples (43.48 – 57.36).

Furthermore, the highest lightness and the lowest redness values of sample 3 (Table 4) could indicate that the non-enzymatic browning reactions occurred at the lowest level in this sample.

Figure 2 and 3 show the PCA results performed with the data of physicochemical, sugar and color analysis of the DL samples. In order to separate the DL samples, PCA was used and it was demonstrated that the use of the analysis made it possible to reveal the differences among the samples. In present study, three main components (Dim 1 – Dim 3) were used, which explained 84.6 % of the variation. The first and

second components (Dim 1 and Dim 2) contributed to 39.6 % and 28 % of the data, respectively. The third component (Dim 3) contributed to 17 % of the data. The need of using three dimensions suggests that there is a wide variability in the parameters of the DL production.

Dim 1 is positively associated with moisture, total sugar content, pH and L\* value, which are important in the characterization of sample 3. The negative quadrant of Dim 1 was influenced by lactic acid, ash content and a\* value and these variables characterized sample 5 (Figure 2).

Dim 2 is negatively associated with protein and sucrose contents. These variables were important for the characterization of sample 4 and sample 6. The positive quadrant of Dim 2 was influenced by glucose, lactose and b\* value and the parameters characterized sample 2 (Figure 2).

Dim 3 is positively associated with protein, total sugar, a\* and b\* values. These variables were important in the characterization of sample 1, positioned on the positive quadrant of Dim 3 (Figure 3).

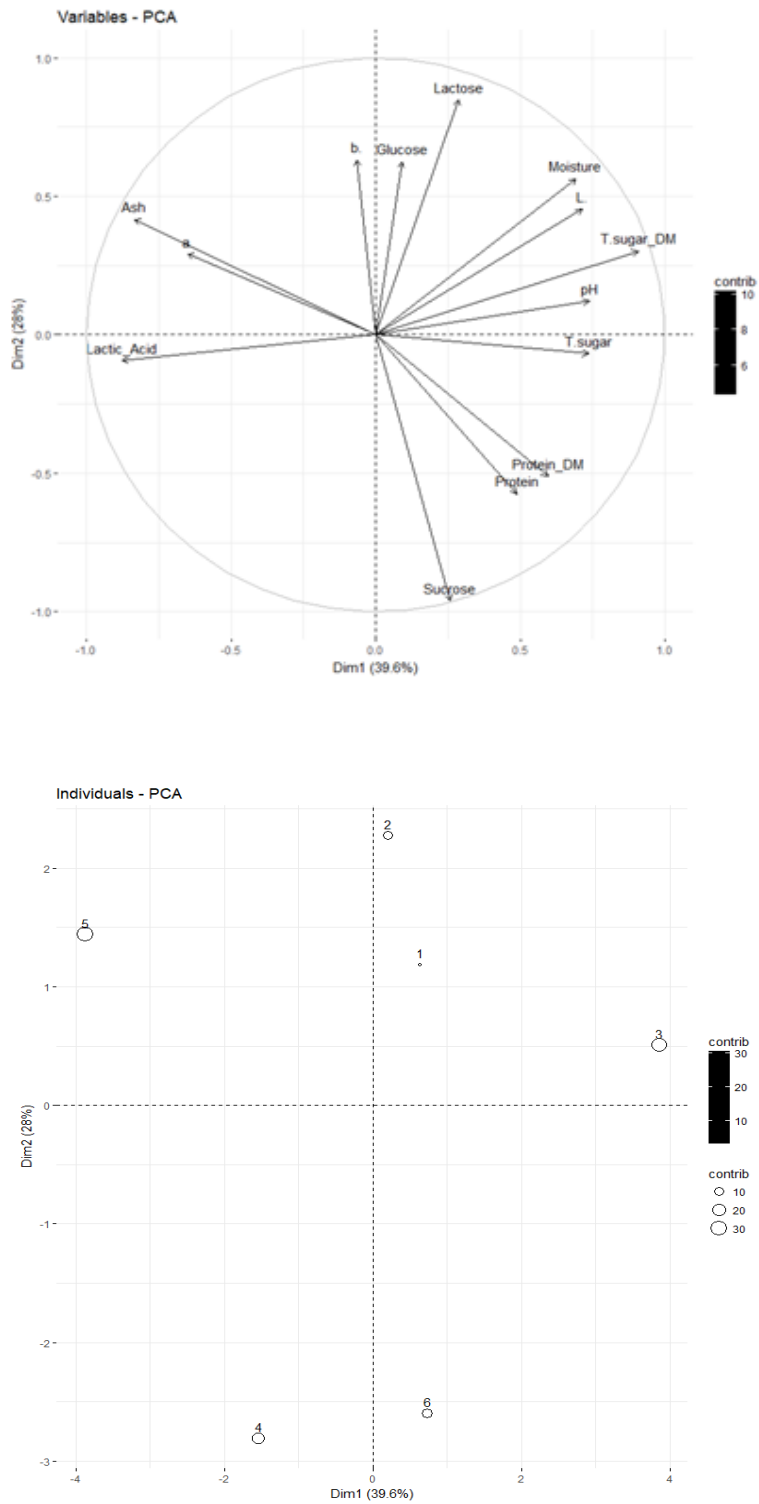


Figure 2. Principle component analysis (PCA) of DL samples, Dim 1 x Dim 2, of parameters (Variables-PCA) and samples (Individuals-PCA)

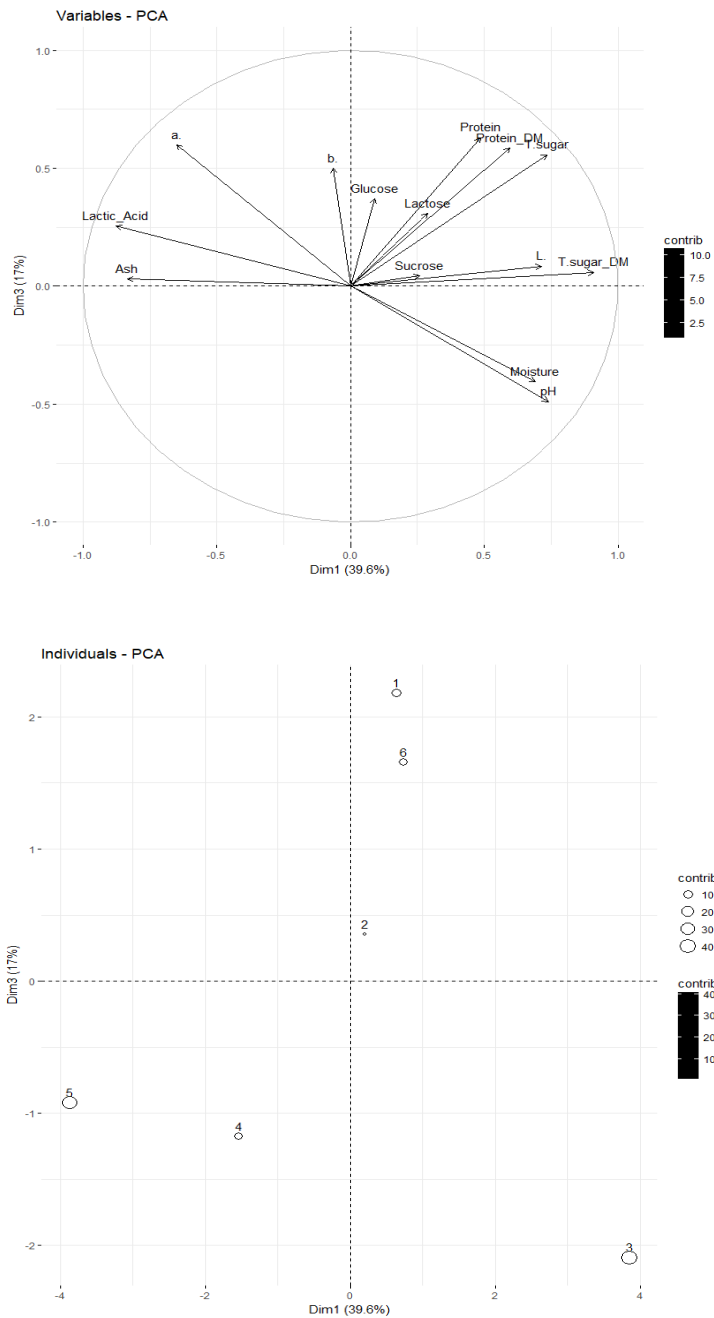


Figure 3. Principle component analysis (PCA) of DL samples, Dim 1 x Dim 3, of parameters (Variables-PCA) and samples (Individuals-PCA)

### CONCLUSIONS

From the results obtained, it was observed that physicochemical properties of the DL samples have varied greatly. Color also presented differences between the samples. It is clear that

the different properties in the DL samples related to the characteristics of milk, milk type used in production, method for obtaining milk, sweeteners and other additives and manufacturing process. With respect to the sugars, sucrose

exhibited to be the most predominant in the DL matrix as compared to lactose and glucose. In the present study, it was also demonstrated that the use of PCA made it possible to separate the DL samples with distinct physicochemical characteristics.

The use of DL, which already has a wide range of application in the food industry, has been also increasing as breakfast in Turkey and as an expected result of this; its production has been also increasing. Therefore, it becomes even more important to identify the properties of DL and evaluate the aspects involved in the identity of the product. In the further studies, the present work will be repeated in new commercial DL products that will be manufactured and furthermore, textural profiles and volatile compounds of the DL products will be determined.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The author expresses her gratitude to Güntepe dairy plant for its help in the manufacturing of the samples, Dr. Burcu Mestav for her help in the statistical analysis and Miss. Yelda Zencir for her help in the color measurements.

#### REFERENCES

- Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official methods of analysis of AOAC international (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Association of Official Analytical Chemists. (2006). Official methods of analysis of AOAC international, Method 980.13 (First Action 1980). Fructose, Glucose, Lactose, Maltose and Sucrose in Milk Chocolate, Liquid Chromatographic Method, AOAC International.
- BSR (1997). Regulamento Técnico MERCOSUL Para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite. Portaria No. 354, de 04 de setembro de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília.
- Ferreira, L.O., Pimenta C.S., Pinheiro A.C.M., Pereira P.A.P., & Santos, G. (2011). Sensory evaluation of “dulce de leche” with coffee and whey using different affective data analysis methods. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 31(4), 998-1005.
- Gaze L.V., Costa M.P., Monteiro M.L.G., Lavorato J.A.A., Conte Júnior C.A., Raices R.S.L., Cruz A.G., & Freitas, M.Q. (2015). Dulce de Leche, a typical product of Latin America: Characterisation by physicochemical, optical and instrumental methods. *Food Chem*, 169, 471–477.
- Malec, L.S., Llosa, R.A., & Vigo, M.S. (1999). Sugar formulation effect on available lysine content of dulce de leche. *J Dairy Res*, 66, 335-339.
- Oliveira, M. N., Penna, A. L. B., & Nevarez, H. G. (2009). Production of evaporated milk, sweetened condensed milk and ‘Dulce de Leche’. In A. Y. Tamime (Ed.), *Dairy powders and concentrated products* (pp. 149–180). Oxford: Blackwell Publishing.
- Pauletti, M., Calvo, C., Izquierdo, L., & Costell, E. (1992). Colour and texture of dulce de leche, a confectionery dairy product. Selection of instrumental methods for industrial quality control. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.*, 32, 291–305.
- Ranalli, N., Andrés, S. C., & Califano, A. N. (2012). Physicochemical and rheological characterization of ‘Dulce de leche’. *J Texture Stud*, 43(2), 115-123.
- Ranalli, N., Andrés, S. C., & Califano, A. N. (2016). Rheological Behavior of Low-Fat Dulce De Leche with Added Xanthan Gum. *J Food Process Preserv*, 41, 1-8.
- Silva, F. L., Ferreira, H. A. L., Souza, A. B., Almeida, D.F., Stephani, R., Pirozi, M. R., & Perrone, I. T. (2015). Production of Dulce de leche: the effect of starch addition. *Food Sci Technol*, 62(1), 417-423.
- Zalazar, C. A., & Perotti, M. C. (2011). Concentrated dairy products, Dulce de Leche. In J. W. Fuquay, P. Fox, & P. McSweeney (Eds.), *Encyclopedia of dairy science* (2 ed., pp. 874–880). Cornwall, UK: Academic Press.

## FARKLI TİP VE DÜZEYLERDE HİDROKOLLOİD KULLANIMININ SUFLE KEK KALİTESİNE ETKİSİ

**Büşra Çınar, Halef Dizlek\***

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Karacaoğlan Yerleşkesi,  
Osmaniye, Türkiye

Geliş / Received: 17.10.2018; Kabul / Accepted: 25.11.2018; Online baskı / Published online: 19.12.2018

Çınar, B., Dizlek, H. (2018). Farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanımının sufle kek kalitesine etkisi. GIDA (2018) 43 (6): 1100-1115 doi: 10.15237/gida.GD18107

Çınar, B., Dizlek, H. (2018). The effect of using at different types and levels hydrocolloid on soufflé cake quality. GIDA (2018) 43 (6): 1100-1115 doi: 10.15237/gida.GD18107

### ÖZ

Çalışmada, farklı tip (guar ve ksantan gam) ve düzeylerde (kek hamur ağırlığına göre %0, %0.15, %0.3, %0.45, %0.6 ve %0.75) hidrokolloid kullanımının sufle kek kalitesine etkileri araştırılmıştır. Üretilen keklerin fiziksel, yapısal, renk ve tekstürel özellikleri belirlenmiştir. Hamur yoğunluğu, pişme kaybı, büzülme değerleri, hacim, özgül hacim, simetri indeksi ve ele alınan tüm tekstürel özellikler bakımından hidrokolloid tip ve düzeyleri arasında belirgin farklılıklar ( $P < 0.05$ ) ortaya çıktığı gözlenmiştir. Guar ve ksantan gamın deneme sufle kek formülünde %0.3-0.45 düzeyine kadar başarı ile kullanılacakları, daha yüksek düzeylerde ve özellikle kombine halde kullanılmalarının ürün niteliklerini olumsuz yönde etkilediği (hamur yoğunluğu, pişme kaybı, büzülme değerleri ve sertlik artmış; hacim azalmış, çiğnenebilirlik güçleşmiştir) belirlenmiştir. Hamur formülünde guar gam kullanım düzeyine azami ölçüde dikkat edilmesi, kombinasyon formüllerinde bu düzeyin pratikçe %0.6 ve üzerinde olmaması gerektiği kanısına varılmıştır. Guar gamın hamur bileşimindeki payının %0.75 olması durumunda ksantan gam katkısını tolere edemediği, söz konusu seriye ait hamurların çok katı (aşırı viskoz), ağdamsı yapıya sahip oldukları ve bundan dolayı sufle kabına konulamadıkları gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Sufle kek, guar gam, ksantan gam, kek nitelikleri

## THE EFFECT OF USING AT DIFFERENT TYPES AND LEVELS HYDROCOLLOID ON SOUFFLÉ CAKE QUALITY

### ABSTRACT

In this study, the effects of using different types of hydrocolloids (guar and xanthan gum) at different levels (0%, 0.15%, 0.3%, 0.45%, 0.6% and 0.75%, according to the cake batter weight) on the properties of soufflé cake was investigated. Physical, structural, color and textural properties of the cakes were investigated. It was observed that there were significant differences ( $P < 0.05$ ) between the type and level of hydrocolloids in terms of batter density, baking loss, shrinkage values, volume, specific volume, symmetry index and all the textural characteristics studied. It was determined that guar and xanthan gum can be successfully used in experimental soufflé cake formulas up to the level of 0.3-0.45%, however using them at higher levels and especially in combination, adversely affects the product quality (batter density, baking loss, shrinkage values and hardness increased; volume decreased, chewiness became harder). It was concluded that guar gum should be used with utmost attention in batter formulas and the level of guar gum practically should not be 0.6% and over. It was observed that when the guar gum ratio in batter formula was 0.75%, the batter cannot tolerate the addition of xanthan gum and the resulting batter become excessively viscous with a waxy structure and therefore cannot be placed in soufflé cooking cups.

**Keywords:** Soufflé cake, guar gum, xanthan gum, cake characteristics

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

E-posta: hdizlek@osmaniye.edu.tr

Tel: (+90) 328 827 1000 / 3655,

Faks: (+90) 328 825 0097



### GİRİŞ

Hazır gıda maddeleri içerisinde unlu mamuller grubu, bu grup içerisinde de kek çeşitleri önemli bir yere sahiptir. Kek endüstrisi her geçen gün gelişmekte ve piyasaya yeni ürünler arz etmektedir. Nitekim günümüzde bireyler, aynı ürünleri sürekli olarak rutin bir biçimde tüketmemekte, farklı ürünlere yönelim göstermektedir (İpek ve Dizlek, 2018). Bu noktada, kek endüstrisinin pazara sunduğu yeni ürünlerden bir tanesi de sufle kektir. Ülkemizde sufle kek üretimi nispeten yeni olup bu ürünün tekstürel özellikleri henüz istenilen düzeye gelememiştir.

Sufle kek; şeker, un, yağ, yumurta, kabartıcılar, hidrokolloidler ve çikolata sosundan (=sufle sosu=sos) üretilen, sıcak veya soğuk olarak tüketilebilen özel bir kek çeşididir. Diğer dolgulu kek çeşitlerine göre kek hamur yoğunluğu sos yoğunluğundan yüksek, yapım aşamaları daha komplike olan bir üründür. Sufle kekke üç ayrı katman bulunur. Bunlar; sufle kek hamuru, sos ve tekrar sufle kek hamurudur. Sufle kek yapımında sos hamura fırınlanmadan önce enjekte edilir ve bu sos ısıya dayanıklı olduğu için fırınlanıp soğutulduktan sonra tekrar ısıtılabilme özelliğine sahiptir. Sos pişerken belli bir miktar su kaybetse de nemli yapısını kek içinde korur (Dizlek vd., 2017). Kek içinde nemli bir bölgenin kalması, piştikten sonra kekin bir miktar çökmesine neden olur (Dizlek, 2015). Bu çökme, sufle kek üretiminde uygun form ve düzeyde kabartıcı ve gamların kullanımıyla azaltılabilir.

Gam terimi ilk olarak yapışkan, zamkimsı, bitkilerden sızan doğal maddeler için kullanılmıştır. Gamin teknik olarak kabul edilen tanımı ise, kıvam artırıcı ve/veya jelleştirici etki vermek için suda dağılabilen veya çözünebilen polimerik karbonhidratlar olarak açıklanmaktadır. Bu tip maddeler kolloidal yapıda ve hidrofilik kolloid özellikte oldukları için “hidrokolloidler” olarak da adlandırılırlar (Glicksman, 1969). Hidrokolloidler gıda maddelerinde koyulaştırıcı, kıvam verici, emülsiyonları stabilize edici, film ve jel oluşturucu, tekstürel özellikleri geliştirici, su tutmayı artırıcı, su hareketini kontrol edici, nişastanın retrogradasyonunu geciktirici, özetele

gıdanın genel kalitesini depolama süresince muhafaza edici ajanlar olarak kullanılırlar (Rosell vd., 2001; Ward ve Andon, 2002; Dizlek ve Özer, 2016).

Üretim prosesi sade ve soslu keklere göre daha karmaşık ve güç olan sufle kekin ticari olarak üretiminde; sosun dibe çökmesi, sufle kekin kabarmaması ya da kabardıktan bir süre sonra sıvı-luzucu sufle sosundan dolayı tekrar çökmesi, yüzeyinde çatlakların oluşması gibi bazı sorunlar yaşanmaktadır. Bu çalışma kapsamında uygun bir sufle kek formülü ön denemelerle reçete edilmiş, sonra farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanılarak sufle kekin nitelikleri ıslah edilmeye çalışılmıştır. Böylece yukarıda anılan ve sufle kek kalitesini sekteye uğratan sorunların minimize edilmesine gayret sarf edilmiştir. Aynı zamanda sufle kek üretimine henüz başlamamış ticari işletmelere yol gösterici bilgiler sunulmuştur. Böylece nispeten düşük bir pazar payına sahip olan ancak tüketiciler tarafından sevilerek tüketilen sufle kekin üretim marjının artırılması ve unlu mamuller sanayinde daha geniş ölçekte yer edinmesine katkı sunulmuştur. Ülkemizde hali hazırda sufle kek üzerine hiçbir bilimsel çalışma yapılmamıştır. Bu anlamda ele alınan çalışma, sufle kek konusunda ülkemizde yapılan ilk bilimsel ekseni çalışmadır. Söz konusu çalışma, buradaki boşluğun doldurulmasına aktif katkı sağlayacak ve konu üzerine yapılacak muhtelif yeni çalışmaların önünü açacak niteliktedir. Yukarıda da değinildiği üzere, bu çalışma ile bilimsel esaslara dayandırılarak ortaya konulan sufle kek üretimi, ülkemiz kek endüstrisi alanında bir ilk olacağından elde edilecek sonuçların, bu sahada çalışacak olan araştırmacılara ve potansiyel üreticilere önemli ipuçları sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmada, farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanılmasının sufle kek kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bunun için sufle kek formülünde değişik düzeylerde (%0 [kontrol], %0.15, %0.30, %0.45, %0.60 ve %0.75) müstakil ve kombine olarak guar gam ve ksantan gam kullanılmıştır. Bu amaçlarla üretilen keklerin fiziksel, yapısal, tekstürel ve renk özellikleri saptanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Sufle kek üretim denemelerinde; beyaz şeker (sakaroz) (Anonymous, 2007), yumurta (Anonymous, 2015b), sıvı ayçiçek yağı (Anonymous, 2016), özel amaçlı buğday unu (Anonymous, 2013), su, kakao (Anonymous, 2001), buğday nişastası (Anonymous, 2015a), emülgatör, kabartma tozu (Anonymous, 2002), kuru gluten, guar gam, ksantan gam ve yemeklik tuz (Anonymous, 2003) kullanılmıştır. Sufle kek üretiminde sos olarak hazır sos (süsleme ve kaplama için çikolata aromalı bitkisel dolgu [sufle sosu]) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kakao, nişasta, emülgatör (Admul MG 44-04 K; yağ asitlerinin mono ve digliseridleri [E471]), kabartma tozu (mısır nişastası, sodyum bikarbonat ve sodyum asit pirofosfattan oluşan), sufle sosu (Katsan Gıda, Ovalette) ve Ova marka yumuşak buğday unu Mersin’de faaliyet gösteren Orgun Gıda’dan temin edilmiştir. Yumurta, şeker, ayçiçek yağı ve tuz Osmaniye’de faaliyet gösteren yerel marketlerden temin edilmiş ve deneme boyunca aynı marka-model kullanılmıştır. Araştırmada ksantan gam ve guar gam (Tito), kuru buğday gluteni (Mühlenchemie, EMCEvitC) kullanılmıştır. Sprey tava yağı ve tek kullanımlık krema (şanti) torbası [www.pastadizayn.com](http://www.pastadizayn.com) web sitesinden sipariş yoluyla, alüminyum sufle kalıbı ise Eskişehir’de faaliyet gösteren “Uslu Ambalaj” firmasından temin edilmiştir. Araştırmada, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi yerleşkesi su şebekesinden temin edilen içme suyu kullanılmıştır.

Denemelerde; mikser (Kitchen Aid, “KSM45” model) ve fırın (Siemens, “HB 331 S2T” model) kullanılmıştır. Kek örneklerinin pişirme işleminde ısıya dayanıklı, tek kullanımlık, yuvarlağımsı küçük alüminyum pişirme kapları kullanılmıştır. Beher pişirme kabının üst çapı 75 mm, alt çapı 55 mm ve yüksekliği 37 mm’dir. Bu kaplar fırının orijinal tel ızgarası üzerine konularak pişirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sufle kek hamurunun söz konusu kaplara yapışmasını önlemek amacıyla kaplar sprey tava yağı ile muamele edilerek yağlanmıştır. Kek hamurunun alt katmanının, üst katmanının ve sufle sosunun pişirme kabına

aktarılmasında tek kullanımlık şanti torbaları kullanılmıştır.

### Sufle Kek Formülü ve Yapım Yöntemi

Sufle kek hamuru, ön denemeler ışığında belirlenen ve Çizelge 1’de verilen bileşenlerin çizelgede belirtilen miktarda kullanılması suretiyle hazırlanmıştır. Formülde değişken olarak; guar gam, ksantan gam ve bunların muhtelif oranları kullanılmıştır. Gamların miktar hesaplaması yapılırken sufle kek üretiminde kullanılan sosun miktarı dikkate alınmamış, tartımlar Çizelgede verilen hamur bileşenlerinin toplamına göre yapılmıştır.

Araştırmada köpük tipi kek üretiminde yaygın olarak kullanılan “Çırpma Metodu” (Sultan, 1976) esas alınmıştır. Şeker dışındaki kuru bileşenler (un, kakao, nişasta, emülgatör, kabartma tozu, gluten, guar gam, ksantan gam ve tuz) kek hamuruna ilave edilmeden önce uygun bir poşet içerisinde iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve daha sonra hamura eklenmiştir. Tüm bileşenlerin katılması sırasında ve sonrasında kitlenin karıştırılması işlemi sürdürülmüştür. Uygulanan karıştırma işlemlerinin hız ve süreleri aşağıda verilmiştir. Hamur hazırlama işlemi toplam 7 d içerisinde tamamlanmıştır. İlk olarak yumurtalar 190 d/d hızında 1 d süre ile çırpılmıştır. Üzerine şeker eklenerek 190 d/d hızında 2 d süreyle karıştırılmıştır. Sonra yoğuma kabına ayçiçek yağı ve su ardı ardına eklenerek 190 d/d hızında 1 d süreyle karıştırılmıştır. 95 d/d hızında, 1 d içerisinde şeker dışındaki diğer kuru bileşenlerin ilavesi yapılarak 190 d/d hızında 2 d süreyle karıştırılmıştır. Alt katman hamur kap içerisine tartılarak konulmuştur ( $28 \pm 0.1$  g). Takiben kaptaki alt katman hamurun üzerine sufle sosu sıkılarak tartılmış ( $18 \pm 0.1$  g), bunun üzerine üst katman hamur tartılmıştır ( $22 \pm 0.1$  g). Pişirme işlemi 170 °C’de 30 d yapılmıştır. Pişirme sonunda fırından çıkarılan sufle kekler 30 d süre ile kap içerisinde tel ızgara üzerinde soğutulmuştur. Son olarak kaptan çıkarılan kekler yine tel ızgara üzerinde oda sıcaklığına gelene kadar (30 d) soğumaya bırakılmışlardır. Soğuyan kekler analizlere tabi tutulmuşlardır (Keklerin fiziksel, yapısal ve renk özellikleri örneklerin fırın çıkışından 1 saat sonra, tekstürel özellikleri ise kek

## Hidrokolloid kullanımının sufle kek üzerine etkisi

örneklerinin fırın çıkışından 3 saat sonra yapılmıştır). Her üretimde 8 adet sufle kek üretilmiştir. Sufle kek hamurunun hazırlanma aşamasında kullanılan normlara, pişirme

sıcaklığına, süresine, beher sufle kek formülünde alt katman, üst katman hamur miktarı ile sos miktarına ön denemeler sonucunda karar verilmiştir.

Çizelge 1. Sufle kek hamuru formülü.

*Table 1. Soufflé cake batter formula.*

Bileşenler <i>Ingredients</i>	Miktar <i>Amount</i> (g)	Bileşimdeki payı (%) <i>Level in the composition</i>
Yumurta <i>Egg</i> <sup>(1)</sup>	125.0	20
Şeker <i>Sugar</i> <sup>(1)</sup>	125.0	20
Ayçiçek yağı <i>Sunflower oil</i> <sup>(1)</sup>	125.0	20
Un <i>Flour</i> <sup>(1)</sup>	101.5	16.24
Su <i>Water</i> <sup>(1)</sup>	62.5	10
Kakao <i>Cocoa</i> <sup>(1)</sup>	37.5	6
Nişasta <i>Starch</i> <sup>(1)</sup>	30.0	4.8
Emülgatör <i>Emulsifier</i> <sup>(1)</sup>	10.0	1.6
Kabartma tozu <sup>(1)</sup> <i>Baking powder</i>	5.0	0.8
Gluten <sup>(1)</sup>	2.5	0.4
Guar gam <i>Guar gum</i> <sup>(2)</sup>	0-0.939-1.881-2.825-3.773-4.723	0-0.15-0.3-0.45-0.6-0.75
Ksantan gam <i>Xanthan gum</i> <sup>(2)</sup>	0-0.939-1.881-2.825-3.773-4.723	0-0.15-0.3-0.45-0.6-0.75
Tuz <i>Salt</i> <sup>(1)</sup>	1.0	0.16
<b>Toplam <i>Total</i></b>	<b>625.0</b>	<b>100</b>

<sup>(1)</sup> Söz konusu bileşenler, tüm sufle kek üretim denemelerinde çizelgede belirtilen sabit miktarda kullanılmıştır.

<sup>(2)</sup> Kek hamur ağırlığının %0 (kontrol), %0.15, %0.3, %0.45, %0.6 ve %0.75'i oranlarında kullanılmıştır.

<sup>(1)</sup> *These components were used in a constant amount as indicated in the table in all soufflé cake production trials.*

<sup>(2)</sup> *It was used at the rates of 0% (control), 0.15%, 0.3%, 0.45%, 0.6% and 0.75% according to the batter weight.*

Araştırmada guar ve ksantan gamın yalın ve kombine bir biçimde kek hamur ağırlığına göre değişken oranlarda (%0.15, %0.3, %0.45, %0.6 ve %0.75) kullanılmasının sufle kek nitelikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu suretle elde edilen sufle kekler, gam kullanılmaksızın (%0

gam) yapılan kontrol keki ile karşılaştırılarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. Araştırmada kullanılan deneme deseni Çizelge 2'de gösterilmiştir. Buna göre denemelerde hamur formülü birbirinden farklı olan 36 ayrı sufle kek üretilmiştir.

Çizelge 2. Araştırmada uygulanan deneme deseni.

*Table 2. The experimental design used in the study.*

Guar Gam <i>Guar Gum</i> (%)	Ksantan Gam <i>Xanthan Gum</i> (%)					
	0	0.15	0.3	0.45	0.6	0.75
0	x (kontrol) <i>(control)</i>	x	x	x	x	x
0.15	x	x	x	x	x	x
0.3	x	x	x	x	x	x
0.45	x	x	x	x	x	x
0.6	x	x	x	x	x	x
0.75	x	x	x	x	x	x

Hamur formülüne hidrokolloid tipinin değişik oranlarda katılmasında yukarıda da belirtildiği üzere hamur ağırlığı esas alınmıştır. Kek hamuru formülünde değişken bileşenlerin dışında kalan diğer bileşenler ve sufle sosu miktarı sabit tutulmuş, bu suretle değişken bileşenlerin etkisinin daha net bir biçimde izlenmesine çalışılmıştır.

### Analizler

Farklı formülasyondaki tüm sufle kek hamurlarının ve sufle sosunun yoğunluğu; hacmi bilinen bir kaptaki hamurun ağırlığının, aynı kaptaki suyun hacmine bölünmesi suretiyle (Masoodi vd., 2002) belirlenmiştir. Sufle keklerin;

$$\text{Hacim İndeksi (mm)} = |BB'| + |CC'| + |DD'| \quad (1)$$

$$\text{Simetri İndeksi (mm)} = 2 \times |CC'| - |BB'| - |DD'| \quad (2)$$

$$\text{Tekdüzelik İndeksi (mm)} = |BB'| - |DD'| \quad (3)$$

$$\text{Üst Büzülme Değeri (mm)} = \text{Kek kalıbının üst çapı (75 mm)} - \text{Kekin üst çapı (|A'E'|)} \quad (4)$$

$$\text{Alt Büzülme Değeri (mm)} = \text{Kek kalıbının alt çapı (55 mm)} - \text{Kekin alt çapı (|A'E'|)} \quad (5)$$

Kek örneklerinin hacimleri hardal tohumu ile yer değiştirme metoduna (Uluöz, 1965) göre tespit edilmiştir. Ayrıca, kek örneklerinin; özgül hacimleri (Martin ve Tsen, 1981) ve pişme kayıpları (Dizlek ve Gül, 2009) belirlenmiştir. Deneme kek örneklerinin tekstürel özellikleri Brookfield CT3 4500 tekstür analiz cihazı (Brookfield Engineering Laboratories Inc., Massachusetts, ABD) ile belirlenmiştir. Bu analizde kullanılan parametreler şu şekildedir; Test hızı: 1 mm/s, Trigger yükü: 2 cycles, 10 g, Sıkıştırma oranı: %40 ve Prob: Silindir, TA25/1000, D=50.8 mm, L=20 mm. Sade ve çeşnili keklere göre sos dolgusu içerdiği ve iç kısmı nispeten cıvık olduğu için keklerin iç kısımlarından dilimler kesilmemiş ve kekler bütün olarak tekstür profil analizine (TPA) tabi tutulmuştur (Guadarrama-Lezama vd., 2016). TPA ile keklerin sertlik, yapışkanlık, elastikiyet, sakızimsılık ve çignenebilirlik özellikleri değerlendirilmiştir. Kek örneklerinin renk ölçümleri 3 boyutlu, Konica Minolta marka CR-400 model renk ölçüm cihazı (Konica Minolta Inc., Osaka, Japonya) kullanılarak keklerin kabuk kısmında yapılmıştır. Renk değerleri soğuyan

hacim, simetri ve tekdüzelik indeksleri ile alt ve üst büzülme değerleri (AACCI Metot 10–91.01; AACCI, 2010) belirlenmiştir. Bu amaçla kek ölçüm şablonu (AACCI Metot 10–91.01; AACCI, 2010) sufle kek kalıbının ebatlarına göre modifiye edilerek kullanılmıştır. Modifikasyon şu şekilde yapılmıştır; Şablonun uzunluğu 7.5 cm'ye düşürülmüş, B ve D noktaları merkezin sağ ve solunda merkeze 2.25 cm uzaklıkta, A ve E noktaları ise yine merkezin sağ ve solunda merkeze 3.75'er cm uzaklıkta yer almıştır. Bu değerler daha sonra keklerin yapısal özellikleri hakkında fikir veren aşağıdaki indekslerin hesaplanması sırasında kullanılmıştır.

keklerin üst yüzeylerinin 3 farklı noktasında ölçülmüş, sonra ortalama değerler alınmıştır. Renk yelpazesi şu şekildedir: L değeri [(0) koyuluk - (100) açıklık], a değeri [(+) kırmızı - (-) yeşil] ve b değeri [(+) sarı - (-) mavi] (Wrolstad ve Smith, 2010). Araştırmada tüm teknolojik işlemler ve analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Analizleri yapılan sufle keklerin ölçülen tüm özelliklerine ilişkin olarak elde edilen verilere öncelikle varyans analizi (ANOVA) uygulanmış, sonra önemli bulunan değerler Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur. İstatistiksel analizler, "SPSS" paket programı (SPSS, version 18.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada hazırlanan hamur örneklerinin yoğunlukları ve bu değerle ilintili olması bakımından kek örneklerinin pişme kaybı ve büzülme değerleri Çizelge 3'te, müstakil olarak farklı düzeylerde guar ve ksantan gam kullanılarak üretilen keklerin resimleri ise Şekil 1'de gösterilmiştir.

Hidrokolloid kullanımının sufle kek üzerine etkisi

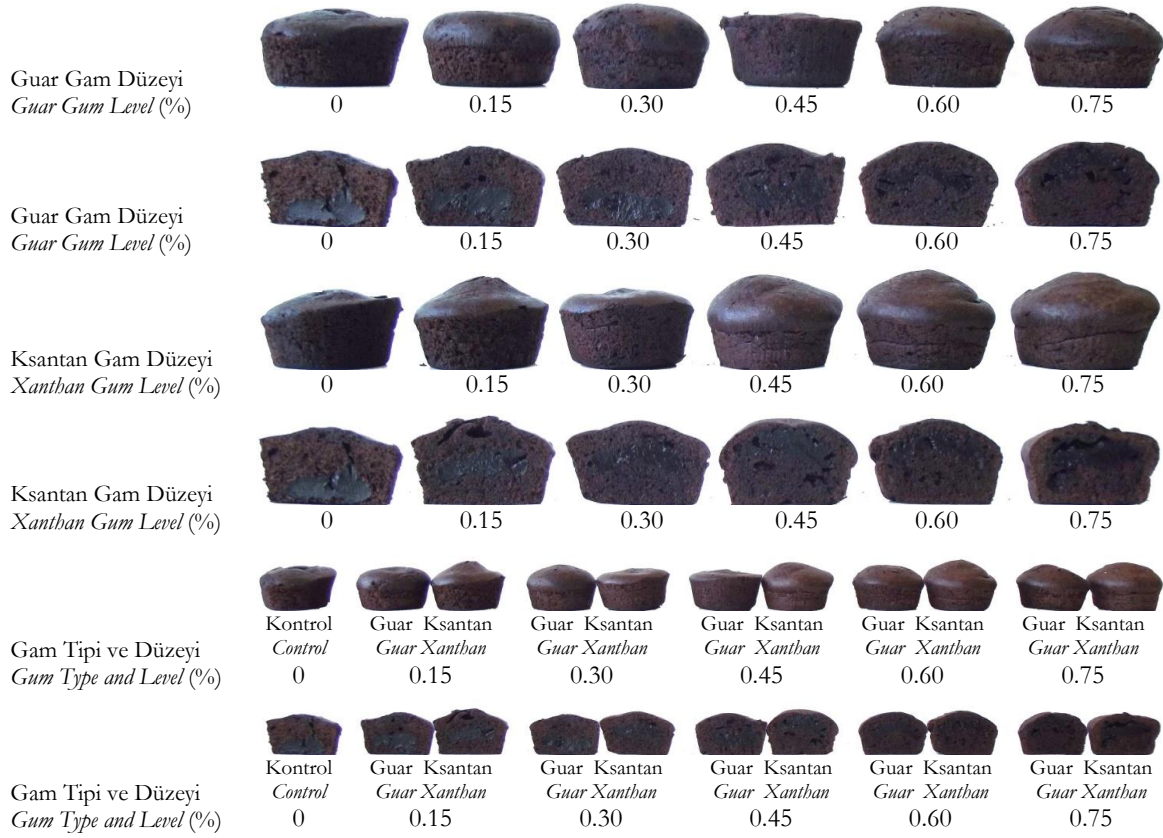
Çizelge 3. Farklı düzeylerde guar ve ksantan gam kullanımının sufle kek örneklerinin bazı özellikleri üzerine etkisi. <sup>(1)</sup>

Table 3. The effect of using guar and xanthan gums at different levels on the some characteristics of soufflé cake samples. <sup>(1)</sup>

Guar Gam Oranı	Ksantan Gam Oranı Xanthan Gum Level (%)					
Guar Gum Level (%)	0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75
Hamur Yoğunluğu <i>Batter Density</i> (g/cm <sup>3</sup> )						
0	0.993 <sup>kl</sup>	1.004 <sup>hij</sup>	1.003 <sup>ij</sup>	1.004 <sup>hij</sup>	1.019 <sup>g</sup>	1.003 <sup>ij</sup>
0.15	0.998 <sup>ik</sup>	1.009 <sup>hi</sup>	1.019 <sup>g</sup>	1.019 <sup>g</sup>	1.003 <sup>ij</sup>	0.990 <sup>l</sup>
0.30	1.000 <sup>j</sup>	1.020 <sup>fg</sup>	1.003 <sup>ij</sup>	1.030 <sup>de</sup>	1.026 <sup>ef</sup>	1.030 <sup>de</sup>
0.45	1.021 <sup>fg</sup>	1.036 <sup>cd</sup>	1.020 <sup>fg</sup>	1.029 <sup>e</sup>	1.030 <sup>de</sup>	1.039 <sup>c</sup>
0.60	1.010 <sup>h</sup>	1.053 <sup>b</sup>	1.059 <sup>ab</sup>	1.060 <sup>a</sup>	1.060 <sup>a</sup>	1.060 <sup>a</sup>
0.75	1.043 <sup>c</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Pişme Kaybı <i>Baking Loss</i> (%)						
0	7.3 <sup>c</sup>	6.3 <sup>ef</sup>	6.2 <sup>fg</sup>	6.6 <sup>ef</sup>	5.6 <sup>hi</sup>	5.5 <sup>i</sup>
0.15	6.7 <sup>de</sup>	6.6 <sup>ef</sup>	6.5 <sup>ef</sup>	5.6 <sup>hi</sup>	5.3 <sup>ij</sup>	4.8 <sup>k</sup>
0.30	6.5 <sup>ef</sup>	6.6 <sup>ef</sup>	6.2 <sup>fg</sup>	5.0 <sup>jk</sup>	5.9 <sup>gh</sup>	5.1 <sup>jk</sup>
0.45	6.2 <sup>fg</sup>	6.6 <sup>ef</sup>	5.9 <sup>gh</sup>	5.6 <sup>hi</sup>	5.6 <sup>hi</sup>	5.4 <sup>ij</sup>
0.60	7.0 <sup>cd</sup>	6.2 <sup>efg</sup>	8.3 <sup>b</sup>	8.3 <sup>b</sup>	8.2 <sup>b</sup>	8.6 <sup>a</sup>
0.75	6.4 <sup>ef</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Alt Büzülme Değeri <i>Bottom Shrinkage Value</i> (mm)						
0	0.1 <sup>q</sup>	4.2 <sup>mno</sup>	1.3 <sup>p</sup>	3.9 <sup>no</sup>	1.9 <sup>p</sup>	0.5 <sup>q</sup>
0.15	4.3 <sup>mno</sup>	3.6 <sup>o</sup>	4.6 <sup>klmn</sup>	4.2 <sup>mno</sup>	4.4 <sup>lmno</sup>	5.9 <sup>i</sup>
0.30	4.9 <sup>klm</sup>	5.8 <sup>ij</sup>	5.1 <sup>ijkl</sup>	7.8 <sup>fg</sup>	7.9 <sup>fg</sup>	8.3 <sup>f</sup>
0.45	7.8 <sup>fg</sup>	5.3 <sup>ijk</sup>	3.8 <sup>no</sup>	3.9 <sup>no</sup>	4.5 <sup>klmn</sup>	6.8 <sup>h</sup>
0.60	7.2 <sup>gh</sup>	9.0 <sup>e</sup>	9.9 <sup>d</sup>	11.4 <sup>c</sup>	15.0 <sup>b</sup>	16.4 <sup>a</sup>
0.75	4.9 <sup>klm</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Üst Büzülme Değeri <i>Top Shrinkage Value</i> (mm)						
0	6.8 <sup>ijk</sup>	7.5 <sup>hi</sup>	6.9 <sup>ijk</sup>	7.6 <sup>hi</sup>	7.3 <sup>hi</sup>	7.4 <sup>hi</sup>
0.15	7.2 <sup>ij</sup>	6.4 <sup>ik</sup>	8.8 <sup>fg</sup>	7.6 <sup>hi</sup>	8.8 <sup>fg</sup>	9.1 <sup>f</sup>
0.30	7.4 <sup>hi</sup>	7.3 <sup>hi</sup>	6.8 <sup>ijk</sup>	8.1 <sup>gh</sup>	8.6 <sup>fg</sup>	8.6 <sup>fg</sup>
0.45	7.1 <sup>ij</sup>	8.7 <sup>fg</sup>	6.1 <sup>k</sup>	6.1 <sup>k</sup>	7.2 <sup>hij</sup>	9.1 <sup>f</sup>
0.60	7.6 <sup>hi</sup>	10.1 <sup>e</sup>	11.9 <sup>d</sup>	12.7 <sup>c</sup>	14.9 <sup>b</sup>	17.1 <sup>a</sup>
0.75	8.5 <sup>fg</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				

<sup>(1)</sup> Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

<sup>(1)</sup> Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different (P < 0.05).



Şekil 1. Farklı düzeylerde müstakil olarak guar ve ksantan gam kullanılarak üretilen sufle kek örnekleri.

*Figure 1. Soufflé cake samples produced using detached guar and xanthan gums at different levels.*

Yalın halde guar gam kullanılması ve bunun kullanım düzeyinin artmasına paralel olarak hamur örneklerinin yoğunluklarında artış ( $P < 0.05$ ) meydana gelmiştir. Benzer biçimde, hamur formülüne %0.6 düzeyine kadar müstakil olarak ksantan gam katılması hamur örneklerinin yoğunluklarında artışa yol açmıştır. Gamların birlikte kullanılmasıyla elde edilen hamur yoğunluğuna ait veriler bunların yalın halde kullanılmalarıyla elde edilen verilerle uyumlu olup hamur örneklerinin yoğunluk değerlerinde artışa yola açmıştır. Bu artış üzerinde guar gamın etkisinin ksantan gama göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Özellikle guar gam oranının %0.30'dan %0.45'e ve %0.60'a artırılması kombinasyon formüllerinde hamurların yoğunluk değerleri üzerinde belirgin artışlara yol açmıştır. Özetle, gamların gerek müstakil gerekse kombine halde kullanılması hamurların kıvamını arttırmıştır. Bu artış literatür bulgularıyla

uyumludur (Guarda vd., 2004; Lazaridou vd., 2007; Turabi vd., 2008; Sungur ve Ercan, 2011). Hamur formülündeki gam düzeyinin artışına paralel olarak yoğunluk değerlerinin arttığı saptanmıştır. Guar gamın %0.75 düzeyinde kullanılması durumunda formüle ksantan gam eklenmesi hamurun teşekkül etmesine engel olmuştur. Çünkü hamur çok katı özelliğe bürünmüş, akıcılığını yitirmiş ve pişirme kabına dökülememiştir. Bundan dolayı bu seriye ait hamurlar ve kek örnekleri hazırlanamamış, dolayısıyla yoğunluk ve diğer kek özelliklerine ait analitik ölçümler guar gamın %0.75 düzeyinde kullanıldığı kombinasyon formüllerinde yapılamamıştır. Yoğunluk değerlerinin bir arada incelenmesiyle, araştırmada kullanılan sufle kek formülüne benzer bir reçete ile hamur yapımında guar gam kullanım limitine dikkat edilmesi gerektiği, ksantan gamın ise hamur formülüne nispeten daha kolay adapte edilebileceği kanısına

varılmıştır. Bu nedenle ksantan gam ile kombine edilmesi durumunda guar gam kullanım limitinin düşük tutulmasına özen gösterilmelidir. Araştırmada kullanılan sufle sosunun yoğunluğu 1.022 g/cm<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir.

Pişme kaybına ait verilerin incelenmesi ile (Çizelge 3), hamur formülünde ksantan gam kullanılması ve bunun kullanım düzeyinin artmasına paralel olarak söz konusu ölçütte azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Benzer etki daha sınırlı olmak kaydıyla yalın halde guar gam kullanılmasıyla da ortaya çıkmıştır. Genel olarak en düşük pişme kaybı değerine sahip olan örneklerin bileşiminde %0.75 oranında ksantan gam bulunan formüller olduğu belirlenmiştir. Ancak hamur formülündeki guar gam miktarının %0.6 olması durumunda ksantan gamın %0.3 ve daha yüksek düzeylerde kullanılması pişme kaybı değerini arttırmıştır. Kek örneklerinin pişme kaybı değerleri genellikle düşük bulunmuştur (%4.8-8.6 arasında). Bunun başlıca iki nedeninin olduğu düşünülmektedir: Deneme hamur örneklerinin yoğunluğunun yüksek olması ve kap içerisinde pişirilen sufle hamuruna ısının az penetre olması. Yüzey alanı dar olan ve serbest biçimde pişirilmeyen (kap içerisinde pişirilen) kek örneklerine fırın ısısı daha az bir biçimde nüfuz etmiştir. Çünkü tavada (belirli bir kaptan) pişirilen unlu mamullere göre serbest halde pişirilenlerde fırın ısısı ilgili unlu mamule daha fazla sirayet etmekte ve bu nedenle tava/kap içerisinde değil de serbest bir biçimde pişirilen unlu mamullerde pişme kaybı daha yüksek düzeyde olmaktadır (Dizlek, 2010). Genel olarak gamların kombine halde kullanılması kontrol örneğine göre pişme kaybı değerinde bir miktar azalmaya yol açmıştır. Pişme kaybı verilerinin hamur yoğunluğu değerleriyle uyumlu olduğu ve kıvamı, katılığı, viskozitesi artan (akıcılığı azalan) hamur örneklerinin pişme kaybı değerlerinin azaldığı saptanmıştır.

Keklerin alt büzülme değeri, kalıba doldurulan hamur tabanı çapında; üst büzülme değeri ise hamurun üst çapında meydana gelen küçülmeyi ifade etmek için kullanılır (Dizlek vd., 2008). Büzülme değerinin keklerde 0 mm ya da 0 mm'ye yakın bir değer alması istenir (Şümnü, 2001). Kontrol örneğinin pratikçe hiç büzülmediği, hamur formülünde gam kullanılması ile keklerin

tabanlarında büzülme meydana geldiği saptanmıştır (Çizelge 3). Bunun üzerinde, formülde gam kullanılmasıyla hamurun – yoğunluğunun artması ve akışkanlığını kaybetmesinden dolayı – kalıbın şeklini alamaması etkili olmuştur. Yoğunluk değerlerinde olduğu gibi alt büzülme değerlerinde de guar gamın etkisinin ksantan gama göre dominant olduğu belirlenmiştir. Kontrol örneğine göre belirli bir düzeye kadar (%0.45) guar gam kullanılması örneklerin üst büzülmesinde bir farklılık oluşturmamış ancak denemede ele alınan en yüksek iki dozun kullanımıyla üst büzülme değerlerinde artış meydana geldiği gözlenmiştir. Guar gamın %0.6 ve %0.75 ile ksantan gamın %0.75 oranlarında kullanıldığı kombinasyon formülleri üst büzülme değerlerinin belirgin biçimde artmasına yol açmıştır. Anılan oranların haricindeki diğer kombinasyon formüllerinde elde edilen üst büzülme değeri kontrol örneği ile benzer bulunmuştur. Çizelge 3'te sunulan verilerin bir arada incelenmesiyle; kombinasyon formüllerinin yüksek düzeylerde kullanılması ile hazırlanan hamurların yoğunluk değerlerinin arttığı, keklerin pişme kaybı değerlerinin yükseldiği, alt ve üst büzülme değerlerinin de arttığı (fire miktarının yükseldiği) tespit edilmiştir. Bunun nedeninin, zaten viskoz, yoğun olan sufle hamurunun gamların yüksek düzeyde kombine edilmesiyle daha viskoz ve yoğun hale gelmesidir. Formülde yer alan gluten ve nişastanın hamurun katılığını arttırdığı, kakao ve yağın ise hamura ağır bir yapı kazandırdığı kontrol örneğinde müşahade edilmiştir.

Araştırmada üretilen sufle kek örneklerinin hacimle ilgili nitelikleri Çizelge 4'te verilmiştir. Guar gamın %0.45 düzeyinde kullanıldığı kombinasyon formülleri ile üretilen keklerin denemede üretilen en yüksek hacme sahip oldukları tespit edilmiştir. Her iki katkının çaprazlanarak en yüksek kullanım düzeylerinin tercih edilmesi kek hacimlerinde antagonistik etkiye neden olmuştur. Keklerin en önemli ölçütü olan hacim (Clove vd., 1984) değerine ait verilerin irdelenmesi ile gam kullanım düzeyine azami dikkat edilmesi gerektiği, yüksek düzeylerde gam kullanımının ürünün görsel albenisini azalttığı belirlenmiştir.

Çizelge 4. Farklı düzeylerde guar ve ksantan gam kullanımının sufle kek örneklerinin hacimle ilgili özellikleri üzerine etkisi. <sup>(1)</sup>Table 4. The effect of using guar and xanthan gums at different levels on the characteristics related to volume of soufflé cake samples. <sup>(1)</sup>

Guar Gam Oranı <i>Guar Gum Level (%)</i>	Ksantan Gam Oranı <i>Xanthan Gum Level (%)</i>					
	0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75
Hacim <i>Volume (cm<sup>3</sup>)</i>						
0	97.6 <sup>hijk</sup>	100.8 <sup>efg</sup>	98.5 <sup>ghi</sup>	103.8 <sup>d</sup>	96.3 <sup>ijkl</sup>	107.2 <sup>c</sup>
0.15	103.5 <sup>d</sup>	96.4 <sup>ijkl</sup>	97.3 <sup>hijkl</sup>	98.0 <sup>ghij</sup>	95.3 <sup>ijkl</sup>	95.0 <sup>klm</sup>
0.30	102.6 <sup>de</sup>	97.5 <sup>hijk</sup>	99.3 <sup>fgh</sup>	99.5 <sup>fgh</sup>	98.0 <sup>ghij</sup>	98.0 <sup>ghij</sup>
0.45	107.6 <sup>c</sup>	99.5 <sup>fgh</sup>	115.3 <sup>b</sup>	124.8 <sup>a</sup>	107.1 <sup>c</sup>	101.4 <sup>def</sup>
0.60	96.8 <sup>hijkl</sup>	98.0 <sup>ghij</sup>	96.3 <sup>ijkl</sup>	95.8 <sup>ijkl</sup>	94.6 <sup>lm</sup>	91.9 <sup>m</sup>
0.75	96.8 <sup>hijkl</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Özgül Hacim <i>Specific Volume (cm<sup>3</sup>/g)</i>						
0	1.546 <sup>ghij</sup>	1.581 <sup>fg</sup>	1.544 <sup>ghijk</sup>	1.633 <sup>de</sup>	1.502 <sup>klm</sup>	1.680 <sup>c</sup>
0.15	1.630 <sup>e</sup>	1.517 <sup>ijkl</sup>	1.530 <sup>ijk</sup>	1.526 <sup>ijk</sup>	1.478 <sup>lm</sup>	1.467 <sup>m</sup>
0.30	1.615 <sup>ef</sup>	1.535 <sup>hijk</sup>	1.556 <sup>ghij</sup>	1.541 <sup>ghijk</sup>	1.531 <sup>ijk</sup>	1.518 <sup>ijkl</sup>
0.45	1.685 <sup>c</sup>	1.566 <sup>ghi</sup>	1.800 <sup>b</sup>	1.942 <sup>a</sup>	1.669 <sup>cd</sup>	1.575 <sup>gh</sup>
0.60	1.530 <sup>ijk</sup>	1.537 <sup>hijk</sup>	1.543 <sup>ghijk</sup>	1.534 <sup>hijk</sup>	1.516 <sup>ijkl</sup>	1.479 <sup>lm</sup>
0.75	1.519 <sup>ijkl</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Hacim İndeksi <i>Volume Index (mm)</i>						
0	106.1 <sup>cdef</sup>	107.5 <sup>abcd</sup>	105.6 <sup>defg</sup>	112.1 <sup>a</sup>	107.8 <sup>abcd</sup>	111.5 <sup>a</sup>
0.15	109.9 <sup>ab</sup>	107.3 <sup>abcd</sup>	104.1 <sup>efghi</sup>	105.8 <sup>def</sup>	103.1 <sup>efghi</sup>	101.1 <sup>i</sup>
0.30	102.4 <sup>hi</sup>	107.9 <sup>abcd</sup>	103.2 <sup>efghi</sup>	105.2 <sup>defgh</sup>	107.3 <sup>abcd</sup>	106.3 <sup>cde</sup>
0.45	103.5 <sup>efghi</sup>	104.0 <sup>efghi</sup>	103.6 <sup>efghi</sup>	106.3 <sup>cde</sup>	109.2 <sup>bc</sup>	106.3 <sup>cde</sup>
0.60	103.5 <sup>efghi</sup>	105.8 <sup>def</sup>	103.1 <sup>fghi</sup>	101.3 <sup>i</sup>	102.1 <sup>hi</sup>	101.1 <sup>i</sup>
0.75	102.5 <sup>ghi</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Simetri İndeksi <i>Symmetry Index (mm)</i>						
0	17.3 <sup>a</sup>	13.3 <sup>bc</sup>	11.4 <sup>cde</sup>	6.8 <sup>hi</sup>	7.6 <sup>gh</sup>	9.1 <sup>efg</sup>
0.15	15.7 <sup>ab</sup>	10.9 <sup>cde</sup>	7.7 <sup>gh</sup>	9.8 <sup>defg</sup>	11.4 <sup>cde</sup>	4.5 <sup>ij</sup>
0.30	8.8 <sup>efgh</sup>	12.3 <sup>cd</sup>	1.1 <sup>k</sup>	11.6 <sup>cd</sup>	13.5 <sup>bc</sup>	8.1 <sup>fgh</sup>
0.45	11.1 <sup>cde</sup>	5.1 <sup>ij</sup>	4.3 <sup>j</sup>	8.8 <sup>efgh</sup>	10.4 <sup>def</sup>	10.3 <sup>def</sup>
0.60	13.3 <sup>bc</sup>	10.1 <sup>defg</sup>	14.9 <sup>b</sup>	11.6 <sup>cd</sup>	9.7 <sup>defg</sup>	11.8 <sup>cd</sup>
0.75	13.4 <sup>bc</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Tekdüzelik İndeksi <i>Uniformity Index (mm)</i>						
0	2.0 <sup>hijkl</sup>	2.1 <sup>hijkl</sup>	2.7 <sup>defgh</sup>	2.0 <sup>hijkl</sup>	1.7 <sup>ijklm</sup>	2.5 <sup>efghi</sup>
0.15	1.4 <sup>lm</sup>	1.8 <sup>ijklm</sup>	2.9 <sup>cdefg</sup>	1.6 <sup>ijklm</sup>	1.4 <sup>lm</sup>	1.4 <sup>lm</sup>
0.30	2.3 <sup>ghijk</sup>	2.4 <sup>fghij</sup>	2.1 <sup>hijkl</sup>	1.1 <sup>m</sup>	2.8 <sup>defgh</sup>	1.8 <sup>ijklm</sup>
0.45	2.6 <sup>efghi</sup>	1.5 <sup>klm</sup>	1.3 <sup>lm</sup>	1.6 <sup>ijklm</sup>	2.6 <sup>efghi</sup>	2.6 <sup>efghi</sup>
0.60	2.1 <sup>hijkl</sup>	3.2 <sup>cdef</sup>	3.6 <sup>bc</sup>	4.3 <sup>b</sup>	5.4 <sup>a</sup>	3.5 <sup>cd</sup>
0.75	3.4 <sup>cde</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				

<sup>(1)</sup> Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.<sup>(1)</sup> Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different ( $P < 0.05$ ).



Denemede kullanılan hamur formülüne benzer bir formül ile sufle hamuru yapılması durumunda guar gam ve ksantan gamın hamurda %0.45 düzeyinde kullanılması en ideal kek hacmini ortaya koymuştur. Söz konusu kekin hacmi kontrol örneğine göre yaklaşık %22 daha fazladır. Beklenebileceği gibi, genel olarak özgül hacim değerlerinin hacim değerleri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Hamur formülünde ksantan gam kullanım düzeyine dikkat edilmesi ve bunun kombinasyon formüllerinde %0.6 ve üzerinde kullanılmaması gerektiği görülmüştür. Anılan formüllerle üretilen keklerin özgül hacim değerleri nispeten düşük bulunmuştur. Keklerin gerçek hacmini ölçen hacim değerleri ile hacimleri hakkında fikir veren hacim indeksi değeri arasında ancak sınırlı ölçüde korelasyon sağlanmıştır (Çizelge 4). Schwartzberg vd. (1995)'nin bildirimiyile uyumlu olarak araştırmada fırın çıkışını takiben sufle keklerin hacminde kısmi bir azalma meydana geldiği, ancak uygun tip ve konsantrasyonda hidrokolloid kullanılarak hamur viskozitesinin artmasına bağlı olarak kek hacminde meydana gelen düşüşün nispeten azaldığı gözlenmiştir.

Simetri indeksi, keklerin üst yüzlerinin yüzey görünümünü belirlemek için kullanılır. Simetri indeksi değerinin negatif (-) olması kekin çökük (içe doğru bombeli), sıfıra yakın olması kek yüzeyinin düz (bombsiz), pozitif (+) olması ise kek üst yüzeyinin kabarık (bombeli) olduğuna işaret eder (Dizlek vd., 2008). Kontrol örneği ile %0.15 düzeyinde guar gam kullanılan örneğin en yüksek bombe yapısına sahip oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4). Ksantan gamın hamur formülüne girmesi ve artan düzeylerde kullanılması simetri indeks değerini olumsuz yönde etkilemiştir. Guar gamın hamur formülünde farklı düzeylerde kullanılması simetri indeks değerinde bir azalmaya yol açmış ancak bu azalmanın yalın halde ksantan gam kullanımına göre daha sınırlı ölçekte gerçekleştiği tespit edilmiştir. Kombinasyon formüllerinde dalgalanmalar yaşanmış, elde edilen simetri indeks değerleri ile kullanılan gam düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Tekdüzelik indeksi, keklerin yanal olarak simetrisini belirlemek için kullanılır ve bu değerın sıfır ya da

sıfıra olabildiğine yakın olması istenir (Dizlek vd., 2008). Guar gamın %0.6 düzeyinde kullanıldığı kombinasyon formüllerinde keklerin tekdüzeliği kontrol örneğine göre bozulmuştur (Çizelge 4). Benzer durum guar gamın yalın olarak %0.75 düzeyinde kullanıldığı formülde de ortaya çıkmıştır. Araştırmada üretilen diğer kek formüllerinin tekdüzelik indeksi kontrol örneği ile benzer bulunmuştur. Genel olarak sufle kek hamurlarının yoğunluklarının yüksek olmasından dolayı hamur örneklerinin sufle kabına rahat bir biçimde konulması mümkün olamamıştır. Bundan dolayı manuel olarak şanti torbalarıyla konulan üst katman hamuru sufle kabına konulurken şanti torbasının ucuyla düzeltilmeye çalışılmıştır. Bu durum tekdüzelik indeksi değerlerine ait analitik ölçümler arasında farklılıklara yol açmış olabilir.

Kek örneklerinin tekstürel özellikleri Çizelge 5'te sunulmuştur. Hamur formülünde değişik düzeylere yalın halde guar gam kullanılması keklerin sertliğini arttırmıştır. Guar gamın aksine hamur formülüne müstakil olarak %0.75 düzeyine kadar ksantan gam katılması keklerin sertliğini azaltmıştır. Kombinasyon formüllerinde guar gamın etkisinin ksantan gama baskın olduğu gözlenmiştir. Özellikle bileşiminde %0.6 düzeyinde guar gam içeren kombinasyon formülleri ile üretilen keklerin en yüksek sertlik değerine sahip oldukları, söz konusu seride üretilen keklerin kontrol örneğine göre yaklaşık 2 kat (%0.6 guar gam + %0.15 ve %0.3 ksantan gam) ile 3 kat (%0.6 guar gam + %0.6 ve %0.75 ksantan gam) daha sert oldukları belirlenmiştir. Sertlik değerleri ile hamur yoğunluğu değerleri uyumlu bulunmuştur. Gamların yüksek kullanım düzeyleri hamurun durağanlığını arttırmış, bu durum hamur yoğunluğunu ve bununla ilintili olarak keklerin sertliğini arttırmıştır.

Yalın halde guar gam kullanılması kek örneklerinin yapışkanlığını azaltmıştır (Çizelge 5). Gerek müstakil gerekse de kombinasyon formüllerinde ksantan gamın hamur formülündeki payının artmasına paralel olarak örneklerin yapışkanlık değerinin azaldığı tespit edilmiştir. %0.75 düzeyi hariç ksantan gamın yalın halde kullanıldığı kek formüllerinin kontrol

örneğine göre daha elastik oldukları, buna karşılık guar gam kullanılarak üretilen keklerin kontrol örneğine göre elastikiyetinin azaldığı belirlenmiştir. Kombinasyon formüllerinde her iki gamın yüksek düzeyde kullanılması keklerin elastikiyetine olumsuz tesir etmiştir. Guar ve ksantan gamın her birinin %0.15-%0.45 düzeylerinde kullanıldıkları kombinasyon formülleri ile üretilen numunelerin araştırmada üretilen en elastik kek oldukları belirlenmiştir. Söz konusu formüllerle üretilen keklerin elastikiyeti üzerinde ksantan gam katkısının guar gama oranla daha belirleyici olduğu gözlenmiştir. Gamların düşük düzeylerde kombine edilmesi elastikiyet üzerinde sinerjist; yüksek düzeylerde kombine edilmesi ise antagonistik etki oluşturmuştur. Farklı düzeylerde yalnız halde guar gam kullanılması keklerin sakızimsılık özellikleri üzerinde sınırlı etkiye yol açmıştır. Ksantan gamın %0.6 düzeyine kadar kullanılması sakızimsılık değerini arttırmıştır. %0.75 düzeyinde ksantan gam kullanımı yapışkanlık değerinde olduğu gibi sakızimsılık değeri üzerinde de çok belirgin bir gerilemeye yol açmıştır. Kombinasyon formüllerinde elde edilen veriler elastikiyet değerleriyle benzerlik arz etmiştir. Yalnız halde guar gam kullanılması keklerin çignenebilirliğini güçleştirmiştir. Ksantan gamın müstakil olarak kullanılması ise keklerin ağızda parçalanması için harcanan iş miktarını (çignenebilirliği) azaltmıştır. Kombinasyon formüllerinde %0.15 guar gam bulunan kek örneklerinin daha kolay çignenebildikleri, guar gam miktarının hamurdaki payının artmasına paralel olarak keklerin çignenmesinin güçleştiği belirlenmiştir. %0.6 düzeyinde guar gam içeren kombinasyon formülleri ile üretilen keklerin araştırmada üretilen çignenebilirlik özelliği en güç olan örnekler olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak çignenebilirlik değerleri ile sertlik değerleri arasında uyum olduğu saptanmıştır (Çizelge 5).

Kek örneklerinin renk değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Yalnız halde her iki gamın kullanım düzeyleri ile matlık/parlaklık (koyuluk/açıklık) değerleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Kombinasyon formülleriyle üretilen keklerin kontrol örneğine göre daha parlak oldukları belirlenmiştir. Gamların yüksek düzeyde

çaprazlanması ile üretilen keklerin diğerlerine göre daha parlak yapıya sahip oldukları saptanmıştır. Araştırmada üretilen tüm kek örneklerinin, bekleneceği üzere yeşile göre kırmızısı renk yapısına sahip oldukları gözlenmiştir. L\* değerinde olduğu gibi gamların yalnız kullanıldığı formüllerde kullanım düzeyleri ile a\* değeri arasında ve deneme kek örnekleri ile bunların b\* değerleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Genel olarak araştırmada üretilen kek örneklerinin a\* ve b\* değerleri kontrol örneğine göre daha yüksek bulunmuştur.

Araştırmadan elde edilen verilerle uyumlu olarak Köksel (2009), uygun düzeyde ksantan-guar gam karışımı ilavesinin keklerin özgül hacmini arttırdığını, pışme kaybı ve iç sertliklerini azalttığını, tekstürel özelliklerini iyileştirdiğini, kabuk rengi ve tat özellikleri açısından kekin beğenilirliğini arttırdığını ve bu suretle kek kalitesini iyileştirdiğini bildirmiştir.

Singh (2011) ve Dizlek vd. (2017), ideal bir sufle kekin sahip olması gereken özellikleri şu şekilde sıralamışlardır: Yumuşak bir yapıya sahip olması, yüzeyinin tekdüze olması, yüzeyinde çatlakların olmaması, düzgün gözenek yapısına sahip olması, sufle kek hamur yoğunluğunun sos yoğunluğundan yüksek olması, bu suretle sosun dibe çökmemesi, sufle hamurunun fırınlanma boyunca ve sonrasında lezzet maddelerini ve sufle sosunu taşıyabilmesi, sosun pışmış kekte kurumamış olması, miktarının uygun olması (az ya da çok olmaması). Bu araştırmada uygun tip ve düzeyde hidrokolloid kullanımı ile sufle kekin nitelikleri ıslah edilmiş ve istenilen hususiyetlere sahip üstün nitelikli sufle kek üretilmiştir.

Hidrokolloid kullanımının sufle kek üzerine etkisi

Çizelge 5. Farklı düzeylerde guar ve ksantan gam kullanımının sufle kek örneklerinin tekstürel özellikleri üzerine etkisi. <sup>(1)</sup>

Table 5. The effect of using guar and xanthan gums at different levels on the textural characteristics of soufflé cake samples. <sup>(1)</sup>

Guar Oranı Guar Gum Level (%)	Gam Oranı Xanthan Gum Level (%)	0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75
Sertlik <i>Hardness</i> (N)							
0		5.58 <sup>w</sup>	4.24 <sup>a'</sup>	4.28 <sup>z</sup>	4.56 <sup>y</sup>	4.91 <sup>x</sup>	7.10 <sup>o</sup>
0.15		6.27 <sup>u</sup>	6.73 <sup>r</sup>	6.90 <sup>q</sup>	7.03 <sup>o</sup>	7.26 <sup>m</sup>	7.32 <sup>l</sup>
0.30		6.98 <sup>p</sup>	7.22 <sup>n</sup>	7.37 <sup>k</sup>	8.55 <sup>i</sup>	9.73 <sup>h</sup>	10.05 <sup>g</sup>
0.45		7.21 <sup>n</sup>	8.55 <sup>i</sup>	8.63 <sup>i</sup>	10.04 <sup>g</sup>	10.05 <sup>g</sup>	10.12 <sup>f</sup>
0.60		6.68 <sup>s</sup>	10.24 <sup>e</sup>	10.34 <sup>d</sup>	12.76 <sup>c</sup>	14.89 <sup>b</sup>	15.17 <sup>a</sup>
0.75		6.42 <sup>t</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Yapışkanlık <i>Adhesiveness</i> (mJ)							
0		1.65 <sup>e</sup>	4.61 <sup>a</sup>	3.05 <sup>b</sup>	2.44 <sup>c</sup>	2.33 <sup>d</sup>	0.03 <sup>y</sup>
0.15		1.43 <sup>gh</sup>	1.55 <sup>f</sup>	1.53 <sup>f</sup>	1.45 <sup>g</sup>	1.31 <sup>i</sup>	1.27 <sup>k</sup>
0.30		1.41 <sup>b</sup>	1.28 <sup>k</sup>	1.21 <sup>l</sup>	1.09 <sup>o</sup>	0.97 <sup>p</sup>	0.87 <sup>r</sup>
0.45		1.17 <sup>m</sup>	1.12 <sup>n</sup>	0.92 <sup>q</sup>	0.76 <sup>s</sup>	0.74 <sup>s</sup>	0 0.74 <sup>s</sup>
0.60		1.33 <sup>ij</sup>	0.68 <sup>t</sup>	0.64 <sup>u</sup>	0.56 <sup>v</sup>	0.49 <sup>w</sup>	0.38 <sup>x</sup>
0.75		1.35 <sup>i</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Elastikiyet <i>Springiness</i> (mm)							
0		0.52 <sup>kl</sup>	0.24 <sup>rs</sup>	0.26 <sup>qr</sup>	0.34 <sup>opq</sup>	0.45 <sup>lmn</sup>	0.96 <sup>f</sup>
0.15		0.53 <sup>kl</sup>	0.53 <sup>kl</sup>	0.51 <sup>klm</sup>	0.25 <sup>qrs</sup>	0.29 <sup>qr</sup>	0.42 <sup>mno</sup>
0.30		0.78 <sup>gh</sup>	0.40 <sup>nop</sup>	0.26 <sup>qr</sup>	0.14 <sup>t</sup>	0.85 <sup>g</sup>	1.03 <sup>f</sup>
0.45		0.47 <sup>d</sup>	0.32 <sup>pqr</sup>	0.16 <sup>st</sup>	0.12 <sup>t</sup>	1.31 <sup>e</sup>	2.05 <sup>c</sup>
0.60		0.76 <sup>h</sup>	0.70 <sup>hi</sup>	0.94 <sup>f</sup>	1.42 <sup>d</sup>	2.32 <sup>b</sup>	2.48 <sup>a</sup>
0.75		0.57 <sup>jk</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Sakızimsılık <i>Gumminess</i> (N)							
0		8.47 <sup>o</sup>	10.97 <sup>e</sup>	11.41 <sup>c</sup>	11.43 <sup>c</sup>	11.81 <sup>b</sup>	0.30 <sup>b'</sup>
0.15		8.78 <sup>m</sup>	4.54 <sup>a'</sup>	6.01 <sup>y</sup>	8.25 <sup>q</sup>	6.46 <sup>x</sup>	6.99 <sup>v</sup>
0.30		8.85 <sup>l</sup>	4.89 <sup>z</sup>	8.37 <sup>p</sup>	6.03 <sup>y</sup>	6.90 <sup>w</sup>	7.29 <sup>t</sup>
0.45		8.55 <sup>n</sup>	7.26 <sup>u</sup>	6.45 <sup>x</sup>	9.14 <sup>k</sup>	9.36 <sup>j</sup>	10.54 <sup>g</sup>
0.60		8.19 <sup>r</sup>	9.77 <sup>i</sup>	10.33 <sup>h</sup>	10.87 <sup>f</sup>	11.05 <sup>d</sup>	12.53 <sup>a</sup>
0.75		8.15 <sup>s</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
Çiğnenebilirlik <i>Chewiness</i> (mJ)							
0		4.79 <sup>r</sup>	3.05 <sup>y</sup>	3.34 <sup>v</sup>	4.16 <sup>s</sup>	4.84 <sup>q</sup>	0.62 <sup>d'</sup>
0.15		4.91 <sup>p</sup>	2.29 <sup>e'</sup>	2.67 <sup>b'</sup>	2.76 <sup>a'</sup>	2.86 <sup>z</sup>	3.14 <sup>w</sup>
0.30		5.76 <sup>l</sup>	3.09 <sup>x</sup>	3.85 <sup>u</sup>	5.17 <sup>o</sup>	5.23 <sup>n</sup>	5.92 <sup>k</sup>
0.45		8.59 <sup>b</sup>	3.92 <sup>t</sup>	5.68 <sup>m</sup>	6.20 <sup>j</sup>	6.55 <sup>i</sup>	7.23 <sup>g</sup>
0.60		6.80 <sup>h</sup>	7.62 <sup>f</sup>	7.83 <sup>e</sup>	8.13 <sup>d</sup>	8.45 <sup>c</sup>	11.01 <sup>a</sup>
0.75		5.76 <sup>l</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				

<sup>(1)</sup> Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

<sup>(1)</sup> Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 6. Farklı düzeylerde guar ve ksantan gam kullanımının sufle kek örneklerinin renk özelliklerine etkisi. <sup>(1)</sup>Table 6. The effect of using guar and xanthan gums at different levels on the color characteristics of soufflé cake samples. <sup>(1)</sup>

Guar Gam Oranı Guar Gum Level (%)	Ksantan Gam Oranı Xanthan Gum Level (%)					
	0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75
L* değeri L* value						
0	26.80 <sup>e</sup>	23.63 <sup>h</sup>	24.11 <sup>gh</sup>	28.80 <sup>c</sup>	24.72 <sup>g</sup>	26.32 <sup>e</sup>
0.15	23.67 <sup>h</sup>	28.84 <sup>c</sup>	29.00 <sup>c</sup>	29.19 <sup>c</sup>	30.62 <sup>a</sup>	28.58 <sup>cd</sup>
0.30	28.91 <sup>c</sup>	28.74 <sup>c</sup>	28.89 <sup>c</sup>	28.98 <sup>c</sup>	29.44 <sup>bc</sup>	30.47 <sup>a</sup>
0.45	25.26 <sup>f</sup>	27.81 <sup>d</sup>	28.96 <sup>c</sup>	28.55 <sup>cd</sup>	28.41 <sup>cd</sup>	28.28 <sup>cd</sup>
0.60	24.69 <sup>g</sup>	28.56 <sup>cd</sup>	29.20 <sup>c</sup>	28.32 <sup>cd</sup>	30.34 <sup>ab</sup>	30.56 <sup>a</sup>
0.75	27.72 <sup>d</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
a* değeri a* value						
0	5.06 <sup>e</sup>	6.26 <sup>d</sup>	6.01 <sup>d</sup>	7.56 <sup>bc</sup>	5.40 <sup>e</sup>	7.11 <sup>c</sup>
0.15	6.73 <sup>cd</sup>	6.41 <sup>d</sup>	6.84 <sup>cd</sup>	6.78 <sup>cd</sup>	8.29 <sup>a</sup>	7.01 <sup>c</sup>
0.30	7.45 <sup>bc</sup>	6.28 <sup>d</sup>	6.90 <sup>cd</sup>	6.05 <sup>d</sup>	7.09 <sup>c</sup>	7.90 <sup>ab</sup>
0.45	7.95 <sup>ab</sup>	5.92 <sup>d</sup>	7.01 <sup>c</sup>	6.75 <sup>cd</sup>	6.81 <sup>cd</sup>	6.58 <sup>cd</sup>
0.60	5.51 <sup>e</sup>	7.24 <sup>c</sup>	6.01 <sup>d</sup>	6.89 <sup>cd</sup>	7.79 <sup>b</sup>	7.82 <sup>b</sup>
0.75	6.87 <sup>cd</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				
b* değeri b* value						
0	3.53 <sup>f</sup>	5.39 <sup>cd</sup>	4.95 <sup>d</sup>	6.73 <sup>b</sup>	4.68 <sup>d</sup>	5.45 <sup>cd</sup>
0.15	5.49 <sup>cd</sup>	5.13 <sup>d</sup>	5.67 <sup>cd</sup>	5.67 <sup>cd</sup>	7.45 <sup>a</sup>	5.81 <sup>c</sup>
0.30	6.21 <sup>bc</sup>	5.05 <sup>d</sup>	6.12 <sup>c</sup>	4.67 <sup>d</sup>	5.84 <sup>c</sup>	7.28 <sup>a</sup>
0.45	7.34 <sup>a</sup>	4.80 <sup>d</sup>	6.05 <sup>c</sup>	5.54 <sup>cd</sup>	5.31 <sup>cd</sup>	5.31 <sup>cd</sup>
0.60	4.31 <sup>e</sup>	6.15 <sup>c</sup>	6.28 <sup>bc</sup>	6.34 <sup>bc</sup>	7.18 <sup>a</sup>	7.23 <sup>a</sup>
0.75	5.48 <sup>cd</sup>	Ü R E T İ L E M E D İ C O U L D N O T B E P R O D U C E				

<sup>(1)</sup> Çizelgede aynı özellik için farklı harfle gösterilen değerler arasındaki farklar 0.05 güven sınırına göre önemlidir.

<sup>(1)</sup> Values in the table shown for same property with the different letter is significantly different ( $P < 0.05$ ).

## SONUÇ

Bu çalışmada, farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanımının özel ve ülkemiz için nispeten yeni bir kek çeşidi olan sufle kek üzerine etkilerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Araştırmadan elde edilen bulguların bir arada değerlendirilmesiyle aşağıdaki sonuç ve önerilere ulaşılmıştır: Farklı hidrokolloidlerin ve bunların muhtelif kullanım oranlarının sufle kek nitelikleri üzerindeki etkileri önemli bulunmuştur. Buna göre, incelenen muamelelerin hacim indeksi, tekdüzelik indeksi ve renk değerleri arasında sınırlı bir varyasyon

oluştugu; hamur yoğunluğu, pişme kaybı, büzülme değerleri, hacim, özgül hacim, simetri indeksi ve ele alınan tüm tekstürel özellikler bakımından hidrokolloid tip ve düzeyleri arasında belirgin farklılıklar ( $P < 0.05$ ) ortaya çıktığı gözlenmiştir (Çizelge 3-5). Guar ve ksantan gamın deneme sufle kek formülünde %0.3-0.45 düzeyine kadar başarı ile kullanılacakları, daha yüksek düzeylerde ve özellikle kombine halde kullanılmalarının ürün niteliklerini olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir. Hamur formülünde guar gam kullanım düzeyine azami ölçüde dikkat

edilmesi, kombinasyon formüllerinde bu düzeyin pratikçe %0.6 ve üzerinde olmaması gerektiği kanısına varılmıştır. Nitekim, bileşiminde %0.6 guar gam ihtiva eden kombinasyon formüllerine ait hamurların yoğunlukları artmış, pişme kayıpları ve fire payları yükselmiş ve bu seriye ait keklerin hacimleri azalmıştır. Guar gamın hamur bileşimindeki payının %0.75 olması durumunda, ksantan gam katkısını tolere edemediği ve söz konusu seriye ait hamurların çok katı (aşırı viskoz), ağdamsı yapıya sahip oldukları ve bundan dolayı sufle kabına konulamadıkları gözlenmiştir (Çizelge 3). Bu çalışma ile ülkemizdeki sufle kek konusundaki bilimsel bilgi birikimine katkı sağlanmış, kek sanayisine nitelikleri ıslah edilmiş sufle kek örnekleri kazandırılmıştır. Çalışmanın, gerek ulusal ve gerekse uluslararası platformda bilime de önemli katkılar sağladığı düşünülmektedir. En önemli ulusal katkısı; içerisinde akıcı sufle sosu gibi sos içeren bir kek çeşidi üzerine bilimsel eksikliğin çalışılmamış olması ve söz konusu çalışma ile bu konuda bir ilkin gerçekleştirilmiş olmasıdır. Nitekim laboratuvar koşullarında manuel olarak bir dizi dolgulu kek üretmek ve bu keklerin bir deneme desenine göre analitik olarak değerlendirmelerini yapmak kolay değildir. Elde edilen ümitvar sonuçların kek endüstrisinde söz sahibi olan firmalar tarafından dikkate alınacağı ve onlara bu alanda yol gösterici yararlar sunacağı düşünülmektedir.

Araştırmada elde edilen bazı analitik veriler kendi içerisinde dalgalanmalara yol açmıştır. Bunun nedenlerinden biri, sufle kekin hazırlanmasının zahmetli olması ve 3 farklı tabakadan teşekkül etmesidir. Diğer birçok kek hamuru mikserde hazırlandıktan sonra doğrudan pişirme tavasına tek katman olarak dökülerek fırınlanmaktadır. Sufle kek tarzı dolgulu keklerin yapımının nispeten külfetli olması, emek ve dikkat yoğun bir üretim prosesine sahip olması bu vb. tarz ürünlerin bilimsel yönden incelenmesini, üzerinde denemeler yapılmasını ve çok tutarlı analitik ölçümlerin alınmasını güçleştirmektedir.

Araştırmada kullanılan sufle sosu ısıya dayanıklı ancak nispeten kıvamlı bir yapıda olup, piyasada özellikle pastaneler tarafından üretilen günlük

sufle keklerin içerisinde yer alan sufle sosu ise daha akıcı bir kıvama sahiptir. Çalışmada piyasadaki ancak kıvamlı, yoğunluğu nispeten fazla olan sufle sosu tedarik edilebildiği için deneme sufle hamuru ve kek örnekleri ağır bir yapıya sahip olmuştur. Sufle kek üretiminde, ısıya dayanıklı ve viskozitesi düşük sufle sosu kullanılması durumunda ürün niteliklerinin daha fazla geliştirilebileceği düşünülmektedir. Yine sufle kek üretiminde bütün yumurta yerine yumurta akı ya da bunun tozu kullanılması durumunda sufle hamurunun daha hacimli ve hafif olabileceği, böyle bir hamurun ince kıvamlı sufle sosunu taşıyarak daha üstün nitelikte mamul ürün verebileceği öngörülmektedir. Ayrıca, uygun katkı maddelerinin uygun düzeylerde kullanılması ile deneme kek örneklerinin niteliklerinin geliştirilebileceği aşikârdır. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu konular üzerinde durulabileceği düşünülmektedir.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından OKÜBAP-2017-PT3-030 proje numarası ile desteklenmiştir.

### KAYNAKLAR

AACCI (2010). International Approved Methods of Analysis. AACC INTERNATIONAL. 11<sup>th</sup> Edition, St. Paul, MN, the USA.

Anonymous (2001). TS 3076-1: Kakao (öğütülmüş) standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 30 Ocak 2001, Ankara.

Anonymous (2002). TS 9053: Kabartma tozu - hamur için standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 20 Mart 2002, Ankara.

Anonymous (2003). TS 933: Yemeklik tuz standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 17 Nisan 2003, Ankara.

Anonymous (2007). TS 861: Beyaz şeker (Sakaroz) standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 26 Haziran 2007, Ankara.

Anonymous (2013). Buğday unu tebliği (2013/9). Türk Gıda Kodeksi, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 2 Nisan 2013 tarih ve 28606 sayılı Resmi Gazete, Ankara.

- Anonymous (2015a). TS 2970: Nişasta - yenilebilir standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 18 Şubat 2015, Ankara.
- Anonymous (2015b). TS 1068: Tavuk yumurtası - kabuklu standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 23 Ekim 2015, Ankara.
- Anonymous (2016). TS 886: Yemeklik ayçiçek yağı standardı. Türk Standartları Enstitüsü. Kabul tarihi 18 Şubat 2016, Ankara.
- Cloke, J.D., Davis, E.A., Gordon, J. (1984). Volume measurements calculated by several methods using cross-sectional tracings of cake. *Cereal Chem*, 61(4): 375-377.
- Dizlek, H. (2010). Süne zararına uğramış ekmeklik buğdayların bazı niteliklerinin incelenmesi ve iyileştirilmesi olanakları üzerine bir araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 252 s.
- Dizlek, H. (2015). Effects of amount of batter in baking cup on muffin quality. *Int J Food Eng*, 11(5): 629-640.
- Dizlek, H., Çınar, B., Gül, H. (2017). Basic properties and production method of soufflé cake. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey, 1313 p.
- Dizlek, H., Gül, H. (2009). Required criteria for the definition of bread attributes I. *Miller*, 16: 56-65.
- Dizlek, H., Özer, M.S. (2016). The impacts of various ratios of different hydrocolloids and surfactants on quality characteristics of corn starch based gluten-free bread. *Cereal Res Commun*, 44(2): 298-308.
- Dizlek, H., Özer, M.S., Gül, H. (2008). Keklerin yapısal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan ölçütler. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 1172 s.
- Glicksman, M. (1969). *Gum technology in the food industry*. Academic Press, New York, USA, 590 p.
- Guadarrama-Lezama, A.Y., Carrillo-Navas, H., Perez-Alonso, C., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. (2016). Thermal and rheological properties of sponge cake batters and texture and microstructural characteristics of sponge cake made with native corn starch in partial or total replacement of wheat flour. *Food Sci Tech-Brazıl*, 70: 46-54.
- Guarda, A., Rosell, C.M., Benedito, C., Galotto, M.J. (2004). Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocolloid*, 18: 241-247.
- İpek, T., Dizlek, H. (2018). The effects of various forms and ratios of peanut products on cupcake quality. *GIDA*, 43(4): 591-604.
- Köksel, H.F. (2009). Effects of xanthan and guar gums on quality and staling of gluten free cakes baked in microwave-infrared combination oven. Ortadoğu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 146 s.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J Food Eng*, 79: 1033-1047.
- Martin, D.J., Tsen, C.C. (1981). Baking high-ratio white layer cakes with microwave energy. *J Food Sci*, 46: 1507-1513.
- Masoodi, F.A., Sharma, B., Chauhan, G.S. (2002). Use of apple pomace as a source of diet dry fiber in cakes. *Plant Food Hum Nutr*, 57: 121-128.
- Rosell, C.M., Rojas, J.A., Barber, C.B. (2001). Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloid*, 15: 75-81.
- Schwartzberg, H.G., Wu, J.P.C., Nussinovitch, A., Mugerwa, J. (1995). Modelling deformation and flow during vapor-induced puffing. *J Food Eng*, 25(3): 329-372.
- Singh, R. (2011). Standardization of the process for preparation of frozen soufflé. West Bengal University of Animal and Fishery Sciences, Faculty of Dairy Technology, MSc Thesis, West Bengal, India, 54 p.
- Sultan, W.J. (1976). *Practical baking*. The Avi Publishing Company, USA, 755 p.

Sungur, B., Ercan, R. (2011). Effects of some hydrocolloids and surfactant on the rheological properties of hard wheat flour dough by using response surface methodology. *GIDA*, 36(2): 77-82.

Şümnü, G. (2001). Use of various starches in microwave baked cakes. *GIDA*, 26(1): 9-11.

Turabi, E., Sumnu, G., Sahin, S. (2008). Rheological properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend. *Food Hydrocolloid*, 22: 305-312.

Uluöz, M. (1965). *Buğday, un ve ekmeke analiz metodları*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisleri, İzmir, Türkiye, 91 s.

Ward, F.M., Andon, S.A. (2002). Hydrocolloids as film formers adhesives and gelling agents for bakery and cereal products. *Cereal Food World*, 47: 52-55.

Wrolstad, R.E., Smith, D.E. (2010). Color analysis. In: *Food Analysis*. Nielson, S.S. (ed.), Springer New York Dordrecht Heidelberg, London, UK. pp. 573-586.

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Gedikoğlu, A., Clarke, A.D., Gruen, I. *Determination of flavonoids in citrus fiber and the impact of processing method on total phenolic content, total flavonoid content, total carotenoid content and oxygen radical absorbance capacity / Turunçgil lifinde flavonoidlerin belirlenmesi ve üretim metodunun toplam fenolik miktarı, toplam flavonoid miktarı, toplam karotenoit miktarı ve oksijen radikal soğurma kapasitesine etkisi*.....917-924
- Baysar, A., Karataş, F. *Investigation of some water soluble parameters in apricot fruit of different varieties cultivated / Farklı kayısı çeşitlerinde suda çözümlenür bazı parametrelerin araştırılması* .....925-929
- Özdemir, K.S., Azarabadi, N., Topuz, A. *Microencapsulation of bergamot peel essential oil with gum arabic and maltodextrin blends: Stability and release characteristics of the essential oil compounds / Bergamut uçucu yağının arap zamkı ve maltodekstrin karışımları kullanılarak mikroenkapsülasyonu: Uçucu yağ bileşenlerinin stabilite ve salınım özelliklerinin belirlenmesi*..... 957-970
- Baran Ekinci, M., Özcelik, F. *Detection of genetically modified maize in foods and feedstuff by PCR methods / Gıda ve yemlerde genetik modifiye mısırın PCR metotları ile tespiti* .....971-983
- Yüksel Önür, Z. *Milk jam or dulce de leche: Physicochemical characterization / Süt reçeli veya dulce de leche: Fizikokimyasal karakterizasyonu*.....1091-1099

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Koçer, G., Keklik, N. M. Atımlı UV ışığın beyaz şapkalı kültür mantarı (*Agaricus bisporus*) yüzeyinde *Listeria monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine etkileri / *Inactivation of Listeria monocytogenes on the surface of cultivated mushroom (Agaricus bisporus) by pulsed UV light*.....896-905
- Karahan, D., Keklik, N.M. Hindistan cevizi ekstraktı içeren soğuk kahve içeceğinin geliştirilmesi ve raf ömrünün belirlenmesi / *Development of a new flavored cold coffee drink and determination of its shelf life* .....906-916
- Yüceer, M. Sıvı yumurtada ultrases tekniği kullanımının ürünün bazı fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi / *Effects of ultrasound treatment on functional and physical properties of liquid eggs* ... 1019-1029
- Şanlıdere Aoloğlu, H., Gökgöz, Y. Bayraktar, M. Kocayemiş (dağ çileği-*Arbutus unedo* L.) meyveli dondurma üretimi, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal parametreler açısından irdelenmesi / *Strawberry tree fruits (Arbutus unedo L.) ice cream production, investigation of physical, chemical and sensorial parameters*..... 1030-1039
- Erge, A., Cin, K., Şeker, E. Erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanılması / *The use of plum and apple juice at chicken meat marination* .....1040-1052
- Var, I., Ataserver Savaş, Ö., Sağlam, S., Uçkun, O. Okratoksin a'nın ekmekte bulunma miktarında fermantasyon ve pişirmenin etkisi / *The effect of fermentation and cooking process on the amount of OTA in breads* ..... 1053-1060
- Sözgen, G., Özdoğan, G., Kaplan Türköz, B. *Zymomonas mobilis* levansukraz enziminin levan üretiminde kullanılması / *Use of Zymomonas mobilis levansucrase in levan production* .....1061-1074
- Çorapçı, B. Ön işlemsiz donmuş depolanan (-22±1 °C) hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyuşsal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri / *Properties of without pre-treatment frozen stored (-22±1 °C) anchovy (Engraulis encrasicolus, Linnaeus 1758) and bonito (Sarda sarda, Bloch 1793) meats* ..... 1075-1090
- Çınar, B., Dizlek, H. Farklı tip ve düzeylerde hidrokolloid kullanımının sufle kek kalitesine etkisi / *The effect of using at different types and levels hydrocolloid on soufflé cake quality* ..... 1110-1115

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Ünal, M. Ü., Şener, A., Cemek, K. / Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri / *Effects of bioactive peptides on health* .....930-942
- Akdeniz, V., Özer, E., Akalın, A. S. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda probiyotiklerin rolü / *Role of probiotics in Helicobacter pylori infection* .....943-956
- Güneş, R., Palabıyık, İ., Kurultay, Ş. Şekerleme teknolojisinde fonksiyonel ürün üretimi / *Functional food production in the confectionery technology* .....984-1001
- Atalay, D., Türken, T., Selen Erge, H. Pektin; kaynakları ve ekstraksiyon yöntemleri / *Pectin; sources and extractions methods* .....1002-1018