

## İçerikten / From the content



**Voltammetric Determination of Vanillin Using a Pretreated Pencil Graphite Electrode**  
*Koşullandırılmış Kalem Grafit Elektrot Kullanılarak Vanilinin Voltammetrik Tayini*



**Effects of Freeze-Drying Process on Antioxidant and Some Physical Properties of Cherry Laurel and Kiwi Fruits**  
*Dondurarak Kurutma İşleminin Karayemiş ve Kivinin Fiziksel ve Antioksidan Özellikleri Üzerine Etkisi*



**Physicochemical, Textural, Cooking and Sensory Properties of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber**  
*Elma Lifi ile Zenginleştirilmiş Geleneksel Türk Ev Yapımı Eriştelerin Fizikokimyasal, Tekstürel, Pişme ve Duyusal Özellikleri*



**Effect of Microwave Heating on Quality Parameters of Hazelnut, Canola and Corn Oils**  
*Mikrodalga Isıtmanın Fındık, Kanola ve Mısır Yağı Kalite Parametreleri Üzerindeki Etkisi*



**Erzurum Çevresindeki Peynir İşletmelerinde Kullanılan Peynir Mayalarının Mikrobiyolojik, Duyusal ve Teknolojik Özellikleri**  
*Microbiological, Sensorial and Technological Characteristics of Rennet Used in Cheese Production Facilities around Erzurum City in Turkey*



**Bireysel Hızlı Dondurma İşlemi Basamaklarının Granny Smith Elmaların Polifenol İçeriği ve Antioksidan Kapasitesine Etkileri**  
*Effect of Individual Quick Freezing Steps on Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Granny Smith Apples*



**Organik ve Konvansiyonel Memecik Çeşidi Yeşil Zeytinler Arasında Fiziksel, Kimyasal ve Pomolojik Özellikler Açısından Farklılıklar**  
*Differences in Physical, Chemical and Pomological Properties between Organic and Conventional Memecik Varieties of Green Olives*



**Manisa İlinden Toplanan Asma Yapraklarında Pestisit Kalıntıları**  
*Pesticide Residues in Grape Leaves Collected from Manisa, Turkey*

# Sektörel Yayıncılıkta Çağdaş Yaklaşım...



**SIDAS MEDYA**

Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi No:162/302 Çankaya - İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06

[www.foodsektor.com](http://www.foodsektor.com)

[info@foodsektor.com](mailto:info@foodsektor.com)

# SİDAS MEDYA

[www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com)  
<http://dergipark.gov.tr/akademik-gida>

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL  
**AKADEMİK GIDA**<sup>®</sup>  
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

• Cilt/Volume:17 • Sayı/Number:1 • Yıl/Year:2019

[www.akademikgida.com](http://www.akademikgida.com)  
<http://dergipark.gov.tr/akademik-gida>

**ACADEMIC FOOD JOURNAL**  
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

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

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

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Oğuz Gürsoy

(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Editörler / Editors**

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)

Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)

Yusuf Yılmaz (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Teknik Editör / Technical Editor**

Kübra Kocatürk (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu**

Mohamed H. Abd El-Salam (National Research Center, Egypt)

Sibel Akalın (Ege University, Turkey)

Abdullah Akdoğan (Pamukkale University, Turkey)

Nihat Akın (Selçuk University, Turkey)

Nesimi Aktaş (Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey)

Tapani Alatossava (University of Helsinki, Finland)

Patricia-Munsch Alatossava (University of Helsinki, Finland)

Muhammet Arıcı (Yıldız Technical University, Turkey)

Iuliana Aprodu (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)

Adriana Pavesi Ariseto (State University of Campinas, Brazil)

Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)

Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)

Jurislav Babić (University of Osijek, Croatia)

Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)

Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)

Noreddine Benkerroum (Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Morocco)

Yavuz Beyatlı (Gazi University, Turkey)

Kamil Bostan (Istanbul Aydın University, Turkey)

Rajka Božanić (University of Zagreb, Croatia)

Cengiz Caner (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)

Oana Emilia Constantin (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)

Abdullah Çağlar (Afyon Kocatepe University, Turkey)

İbrahim Çakır (Abant İzzet Baysal University, Turkey)

Songül Çakmakçı (Atatürk University, Turkey)

İlyas Çelik (Pamukkale University, Turkey)

Utku Çopur (Uludağ University, Turkey)

Ahmet Hilmi Çon (Ondokuz Mayıs University, Turkey)

Mehmet Demirci (Namık Kemal University, Turkey)

Cynthia Ditchfield (University of Sao Paulo, Brazil)

Maria Elisabetta Guerzoni (University of Bologna, Italy)

Fahrettin Göğüş (Gaziantep University, Turkey)

Şebnem Harsa (Izmir Institute of High Technology, Turkey)

Arif Hepbaşlı (Ege University, Turkey)

Seda Ersus (Ege University, Turkey)

Adnan Hayaloğlu (İnönü University, Turkey)

Yekta Gökşungur (Ege University, Turkey)

Mehmet Güven (Çukurova University, Turkey)

Filiz İçier (Ege University, Turkey)

Kadir Halkman (Ankara University, Turkey)

Hasan Fenercioğlu (Çukurova University, Turkey)

Mükerrem Kaya (Atatürk University, Turkey)

Semra Kayaardı (Celal Bayar University, Turkey)

Yonca Karagül-Yüceer (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)

Harun Kesenkaş (Ege University, Turkey)

Meral Kılıç (Istanbul Technical University, Turkey)

Piotr Koczon (Warsaw University of Life Sciences, Poland)

Celalettin Koçak (Ankara University, Turkey)

Ergun Köse (Celal Bayar University, Turkey)

Ahmet Küçükçetin (Akdeniz University, Turkey)

Mine Anđ Küçüker (Istanbul University, Turkey)

Erdoğan Küçüköner (Süleyman Demirel University, Turkey)

Jung Hoon Lee (Fort Valley State University, USA)

Sebahattin Nas (Pamukkale University, Turkey)

Gülden Ova (Ege University, Turkey)

Zümrüt B. Ögel (Konya Food and Agriculture University, Turkey)

Semih Ötleş (Ege University, Turkey)

Halil Özbaş (Süleyman Demirel University, Turkey)

Beraat Özçelik (Istanbul Technical University, Turkey)

Filiz Özçelik (Ankara University, Turkey)

Sami Gökhan Özkal (Pamukkale University, Turkey)

Mustafa Zafer Özel (University of York, UK)

Barbaros Özer (Ankara University, Turkey)

Edward Pospiech (Poznan University of Life Sciences, Poland)

Konstantinos Petrotos (Technological Educational Institute of Larissa, Greece)

Pican Prabasanakar (CSIR-Central Food Technological Research Institute, India)

Jenny Ruales (Escuela Politécnica Nacional, Ecuador)

Osman Sağdıç (Yıldız Technical University, Turkey)

Saulius Satkauskas (Vytautas Magnus University, Lithuania)

Meltem Serdaroğlu (Ege University, Turkey)

Reyad R. Shaker (Jordan University of Science & Technology, Jordan)

Romeo Toledo (University of Georgia, USA)

Mahir Turhan (Mersin University, Turkey)

Yahya Tülek (Pamukkale University, Turkey)

Harun Uysal (Ege University, Turkey)

Mustafa Üçüncü (Ege University, Turkey)

Y. Sedat Veliolu (Ankara University, Turkey)

Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)

Aydın Yapar (Pamukkale University, Turkey)

Hasan Yetim (Erciyes University, Turkey)

Atıla Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)

Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)

Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

## AKADEMİK GIDA

### ABSTRACTED / INDEXED / LISTED IN

1. Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases
  2. Academic Index
  3. Academic Keys
  4. AgBiotech News and Information
  5. AgBiotechNet
  6. Agricultural Economics Database
  7. Agricultural Engineering Abstracts
  8. Agroforestry Abstracts
  9. Animal Breeding Abstracts
  10. Animal Production Database
  11. Animal Science Database
  12. Biocontrol News and Information
  13. Biofuels Abstracts
  14. Botanical Pesticides
  15. CAB Abstracts
  16. CAB Direct
  17. Cite Factor
  18. Crop Science Database
  19. Dairy Science Abstracts
  20. Directory of Research Journals Indexing (DRJI)
  21. EBSCO
  22. Environmental Impact
  23. Environmental Science Database
  24. Eurasian Scientific Journal Index
  25. Field Crop Abstracts
  26. Food Science and Technology Abstracts (FSTA)
  27. Forest Science Database
  28. Global Health
  29. Google Scholar
  30. Horticultural Science Abstracts
  31. Horticultural Science Database
  32. Impact Factor Services for International Journals (IFSIJ)
  33. International Innovative Journal Impact Factor (IIJIF)
  34. International Institute of Organized Research (I2OR)
  35. İdeal Online
  36. Journal Index Net
  37. Maize Abstracts
  38. Nutrition Abstracts and Reviews Series A: Human and Experimental
  39. Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding
  40. Nutrition and Food Sciences Database
  41. Ornamental Horticulture
  42. Parasitology Database
  43. Plant Breeding Abstracts
  44. Plant Genetic Resources Abstracts
  45. Plant Genetics and Breeding Database
  46. Plant Protection Database
  47. Postharvest Abstracts
  48. Potato Abstracts
  49. Poultry Abstracts
  50. Protozoological Abstracts
  51. Review of Agricultural Entomology
  52. Review of Aromatic and Medicinal Plants (RAMP)
  53. Review of Medical and Veterinary Entomology
  54. Review of Medical and Veterinary Mycology
  55. Review of Plant Pathology
  56. Rice Abstracts
  57. Rural Development Abstracts
  58. Science Library Index
  59. Scientific Indexing Services (SIS)
  60. Seed Abstracts
  61. Soil Science Database
  62. Soils and Fertilizers Abstracts
  63. Soybean Abstracts
  64. Sugar Industry Abstracts
  65. Tropical Diseases Bulletin
  66. The Turkish Academic Network and Information Centre Life Sciences Database (TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı)
  67. Veterinary Science Database
  68. VetMed Resource
  69. Weed Abstracts
  70. Wheat, Barley and Triticale Abstracts
  71. World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstracts (WAERSA)
- 
-

Akademik Gıda 17 (1) (2019)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

**Voltammetric Determination of Vanillin Using a Pretreated Pencil Graphite Electrode / Koşullandırılmış Kalem Grafit Elektrot Kullanılarak Vanilinin Voltammetrik Tayini / Didem Giray Dilgin**

1-8

**Effects of Freeze-Drying Process on Antioxidant and Some Physical Properties of Cherry Laurel and Kiwi Fruits / Dondurarak Kurutma İşleminin Karayemiş ve Kivinin Fiziksel ve Antioksidan Özellikleri Üzerine Etkisi / Özlem Aktürk Gümüştay, Meral Yıldırım Yalçın**

9-15

**Physicochemical, Textural, Cooking and Sensory Properties of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber / Elma Lifi ile Zenginleştirilmiş Geleneksel Türk Ev Yapımı Eriştelerin Fizikokimyasal, Tekstürel, Pişme ve Duyusal Özellikleri / Ferhat Yüksel, Melek Gurbuz**

16-22

**Effect of Microwave Heating on Quality Parameters of Hazelnut, Canola and Corn Oils / Mikrodalga Isıtmanın Fındık, Kanola ve Mısır Yağı Kalite Parametreleri Üzerindeki Etkisi / Nazan Arifoğlu, Mustafa Öğütçü**

23-29

**Erzurum Çevresindeki Peynir İşletmelerinde Kullanılan Peynir Mayalarının Mikrobiyolojik, Duyusal ve Teknolojik Özellikleri / Microbiological, Sensorial and Technological Characteristics of Rennet Used in Cheese Production Facilities around Erzurum City in Turkey / Ayşin Cantürk, Songül Çakmakçı**

30-37

**Bireysel Hızlı Dondurma İşlemi Basamaklarının Granny Smith Elmaların Polifenol İçeriği ve Antioksidan Kapasitesine Etkileri / Effect of Individual Quick Freezing Steps on Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Granny Smith Apples / Senem Kamiloğlu**

38-46

**Organik ve Konvansiyonel Memecik Çeşidi Yeşil Zeytinler Arasındaki Fiziksel, Kimyasal ve Pomolojik Özellikler Açısından Farklılıklar / Differences in Physical, Chemical and Pomological Properties between Organic and Conventional Memecik Varieties of Green Olives / Seçil Küçükyaşar, Fikret Pazır**

47-54

**Manisa İliinden Toplanan Asma Yapraklarında Pestisit Kalıntıları / Pesticide Residues in Grape Leaves Collected from Manisa, Turkey / Gözde Türköz Bakırcı, Ezgi Çınar, Senem Karakaya**

55-60

**Nar (Punica granatum L.) Kabuğunun İn Vitro Antidiyabetik, Antiinflamatuar, Sitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi / In Vitro Antidiabetic, Antiinflammatory, Cytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pomegranate (Punica granatum L.) Peel / Tuğba Demir, Özlem Akpınar, Haki Kara, Hüseyin Güngör**

61-71

■ Derleme Makaleler / Review Papers

**Süt Yağının Toza Dönüştürülmesi ve Krema Tozu / Converting Milk Fat into Powder and Cream Powder / Ahsen Burçin Himmetağaoğlu, Zafer Erbay, Mustafa Çam**

72-80

**Meyve ve Sebze Patlatmalı Puf Kurutma Yöntemi İle Kurutulması / Explosion Puff Drying of Fruits and Vegetables / Özgün Köprüalan, Anıl Bodruk, Figen Ertekin**

81-88

**Farklı Sirke Çeşitlerinin Mikroflorası, Biyoaktif Bileşenleri ve Sağlık Üzerine Etkileri / Microflora, Bioactive Components and Health Effects of Various Kinds of Vinegar / İlkın Yücel Şengün, Gül den Kılıç**

89-101

**Süt ve Ürünlerinin Duyusal Değerlendirmesinde Kemometrik Yaklaşımlar / Chemometric Approaches in Sensory Evaluation of Dairy Products / Gökçe Eminoğlu, Ebru Şenel**

102-110

**İndüksiyon ve Ohmik Isıtma İşlemlerinin Gıdalara Uygulanabilirliğinin Karşılaştırılması / Comparison of the Applicability of Induction and Ohmic Heating Processes to Foods / Orhan Kaya, Filiz İçer**

111-120

**Gıda Analizlerinde Kullanılan Spektroskopik Teknikler / Spectroscopic Techniques Used in Food Analyses / Muhammed Yusuf Çağlar, Mehmet Demirci, Abdulkadir Şahiner, Bilal Çakır, Ahmet Furkan Çağlar**

121-130

**Bakteriyel Biyofilmlerdeki Antimikrobiyel Direnç Mekanizması / Mechanism of Antimicrobial Resistance in Bacterial Biofilms / Emel Ünal Turhan, Zerrin Erginkaya**

131-139

**Tarımsal Atıklardan Selüloz Nanokristallerinin Eldesi, Karakteristik Özellikleri ve Uygulama Alanları / Production of Cellulose Nanocrystals from Agricultural Waste, Their Characteristics and Application Areas / Seda Bilek, Arzu Yalçın Melikoğlu, Serap Cesur**

140-148

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors



**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

Şakir SARIÇAY  
info@akademikgida.com  
ssaricay@gmail.com

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

Prof. Dr. Özer KINIK  
Prof. Dr. Ramazan GÖKÇE  
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 17

Sayı: 83

Ocak - Şubat - Mart 2019

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİME-DYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 17. yayın yılının ilk sayısı ile sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 9 araştırma ve 8 derleme çalışması olmak üzere toplam 17 makale yer almaktadır.

Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne önümüzdeki yıllarda geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

Dergimizle ilgili bir diğer yenilik makalelerin sonunda yer alan kaynaklar bölümünde kaynakların gösteriminde kısaca APA (American Psychological Association) olarak bilinen Amerika Psikoloji Derneği yazım stiline kullanılacak olmasıdır. Dergimize makale gönderecek meslektaşlarımızın bu durumu dikkate almasını ve güncellenen yazım kuralları sayfalarımızı takip etmesini rica ediyoruz.

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

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

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

Saygılarımızla.

**Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

**Özer Kınık**  
**Ramazan Gökçe**  
**Yusuf Yılmaz**  
Editörler

## BİLİMSEL ETKİNLİKLER

### 4. Uluslararası Anadolu Tarım, Gıda, Çevre ve Biyoloji Kongresi

Tarım, gıda, çevre ve biyoloji alanındaki gelişmeleri gündeme getirmek ve yeni işbirliklerine olanak sağlamak amacıyla ilk üçü "İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi (TARGID)" adıyla düzenlenen kongrenin 4'üncüsü Afyonkarahisar'da 20-22 Nisan 2019 tarihlerinde "Uluslararası Anadolu Tarım, Gıda, Çevre ve Biyoloji Kongresi" adıyla düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://www.targid.org/> adresinden ulaşılabilir.

### 5. Uluslararası Beyaz Et Kongresi

Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Birliği Derneği (BESD-BİR) tarafından 24-28 Nisan 2019 tarihleri arasında Antalya'da, Starlight Convention Center & Sunrise Park Resort Kongre Merkezi'nde düzenlenecek olan 5. Uluslararası Beyaz Et Kongresi (UBEK) ile ilgili bilgilere <http://beyazetkongresi.com/> adresinden ulaşılabilir.

### 2. Ulusal Sütçülük Kongresi

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Tarım ve Ormanlık Bakanlığı Et ve Süt Kurumu Genel Müdürlüğü, Türkiye Süt, Et ve Gıda Üreticileri ve Sanayicileri Birliği (SETBİR) ve Ulusal Süt Konseyi'nin ana düzenleyicileri olduğu 2. Ulusal Sütçülük Kongresi 25-26 Nisan 2018 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Feyzi Önder Konferans Salonunda gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili detaylı bilgilere <http://www.usko2019.com> adresinden ulaşılabilir.

### 4<sup>th</sup> International Conference on Food and Biosystems Engineering

30 Mayıs-2 Haziran 2019 tarihleri arasında Yunanistan'da (Agia Pelagia, Heraklion Crete Island, Greece) dördüncüsü düzenlenecek olan Gıda ve Biyosistem Mühendisliği Uluslararası Konferansı ile ilgili detaylı bilgilere <http://www.fabe.gr> adresinden ulaşılabilir.

### The 9<sup>th</sup> International Symposium EuroAliment: Innovative Minds for Future Food

Galati Dunarea de Jos Üniversitesi Gıda Bilimi ve Mühendisliği Fakültesi tarafından 5-6 Eylül 2019 tarihleri arasında Galati'de (Romanya) bu yıl dokuzuncusu düzenlenecek olan EuroAliment sempozyumu ile ilgili detaylı bilgilere [http://www.euroaliment.ugal.ro/euroaliment\\_2019.htm](http://www.euroaliment.ugal.ro/euroaliment_2019.htm) adresinden ulaşılabilir.

### III. International Joint Science Congress of Materials and Polymers

Kimyagerler Derneği öncülüğünde çok sayıda kuruluşun katkısı ve işbirliği ile üçüncüsü 12-14 Eylül 2019 tarihleri arasında Kosova'da düzenlenecek olan kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.



## Voltammetric Determination of Vanillin Using a Pretreated Pencil Graphite Electrode

Didem Giray Dilgin 

Faculty of Education, Department of Mathematics and Science Education, Çanakkale Onsekiz Mart University, 17100-Çanakkale, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 21.02.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 07.03.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): didemgiray79@hotmail.com (D. Giray Dilgin)

☎ +90 286 217 13 03 / 3590 📠 +90 286 212 07 51

### ABSTRACT

In this study, a sensitive voltammetric method for the determination of vanillin in commercial food products was proposed using a pencil lead as an electrode material. In the cyclic voltammograms of vanillin recorded in pH 8.0 Britton Robinson buffer at the pre-oxidized pencil graphite electrode (p-PGE), a sharp peak was observed at about 520 mV (vs. Ag / AgCl electrode) attributed to the oxidation of vanillin. Subsequently, the voltammetric determination of vanillin based on its oxidation at p-PGE was carried out using the differential pulse voltammetry (DPV) technique under optimized conditions. DPV results showed that the oxidation peak current of vanillin increased linearly in the concentration range of 0.5 to 10.0 µM vanillin with a detection limit of 0.16 µM (based on 3S<sub>b</sub>). In the final step, this voltammetric method was applied to the determination of vanillin in vanilla syrup samples. Results were in good agreement with the values indicated on the labels of samples.

**Keywords:** Pencil graphite electrode, Vanillin, Voltammetric determination, Differential pulse voltammetry

### Koşullandırılmış Kalem Grafit Elektrot Kullanılarak Vanilinin Voltammetrik Tayini

#### ÖZ

Bu çalışmada, bir elektrot malzemesi olarak kurşun kalem ucu kullanılarak ticari gıda ürünlerinde vanilin tayini için hassas bir voltammetrik yöntem önerilmiştir. Vanilinin, önceden oksitlenmiş grafit kalem elektrotu (pre-oxidized pencil graphite electrode, p-PGE) kullanılarak pH 8.0 Britton Robinson tampon çözeltisinde kaydedilen döngüsel voltammogramlarında, yaklaşık 520 mV'da (Ag/AgCl elektroduna karşı) vanilinin yükseltgenmesine atfedilen keskin bir pik gözlenmiştir. Daha sonra, vanilinin p-PGE'de yükseltgenmesine dayalı voltammetrik vanilin tayini, optimize koşullar altında diferansiyel puls voltammetri (DPV) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. DPV sonuçları, vanilinin yükseltgenmesine ait pik akımının, 0,16 µM (3S<sub>b</sub>'ye dayanarak) gözlenebilir sınırı ile birlikte 0,5-10,0 µM vanilin derişim aralığında doğrusal olarak arttığını göstermektedir. Çalışmanın son aşamasında, bu voltammetrik yöntem vanilya şurubu örneklerinde vanilin tayinine uygulanmıştır. Elde edilen sonuçların numune şişesindeki etiketli değerler ile iyi bir uyum içinde olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kalem grafit elektrot, Vanilin, Voltammetrik tayin, Diferansiyel puls voltammetri

### INTRODUCTION

Vanillin is a natural flavor and aroma substance used worldwide and commonly found in many plant species.

Vanillin named 4-hydroxy-benzaldehyde by IUPAC has been widely used in various areas such as in confectionery, perfumery, beverages, and food and pharmaceutical products. Moreover, vanillin exhibits

biological and therapeutic activities such as anticancer, antioxidant, antimicrobial, antimutagenic, hypolipidemic, antisickling activities etc. [1-3]. Its therapeutic potential in cancer treatment and prevention is explained by its inhibiting activity towards the free radicals responsible for tumor development [2]. Vanillin is naturally found and generally extracted from the cured beans of the vanilla plant: *V. planifolia* and *V. tahitensis* as well as it is synthetically produced by various chemical and also biotechnological methods [4]. Hence the determination of vanillin in the foods and beverages, pharmaceutical, nutritional and cosmetic products and its production steps has a great importance.

In the determination of vanillin a variety of methods have been developed using chromatographic [5-8], spectroscopic [3, 9, 10] and electroanalytical techniques [11-26]. Although chromatographic methods such as GC and HPLC with various detectors (especially MS detector) have been widely used for the selective and reliable detection of vanillin [5-8], they have some drawbacks such as time consuming sample pretreatment procedures, high cost, expensive devices, high consumption of organic solvent, needs highly trained personal etc. On the other hand, low sensitivity and selectivity in spectrophotometric methods and lack of finding fluorophore compounds in fluorimetric studies can restrict to use spectroscopic methods. Among them electroanalytical methods have recently been found much attention, because these methods have some advantages such as low cost, simplicity, better sensitivity, wide linear concentration range and fast response [11-26].

In the electrochemical determination of vanillin, various types of electrodes and modified electrodes have been successfully used. For example, gold nanoparticle-modified screen-printed carbon electrode modified with graphene quantum dots and Nafion [12], overoxidized poly(pyrrole) film-modified glassy carbon electrode [13], Aluminum doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles-modified screen printed carbon electrode [14], AuPd nanoparticles-graphene composite modified electrode [23] and screen printed graphite electrode [26] have been used for the determination of vanillin using differential pulse or square wave voltammetric techniques. However, our literature search showed that recently often preferred pencil graphite electrode (PGE) has not been used for the determination of vanillin. The reason of the widely using of PGE in electrochemical sensor studies is that this electrode has many advantages such as disposable, low costs, commercial availability etc. [27-33]. In addition there is no time consuming polishing and modification procedure in the PGE compared with other high costs common solid electrodes [33]. In this study, the differential pulse voltammetric determination of vanillin has been carried out using PGE. Thus, disposable, low cost, sensitive and selective method for the electrochemical determination of vanillin has been proposed. The applicability of the proposed methods was tested by determination of vanillin in the vanilla syrups.

## MATERIALS and METHODS

### Reagents and Apparatus

Vanillin standard was obtained from Sigma Aldrich and all other chemicals were of analytical grade. A stock solution of vanillin was prepared as 0.10 M in ultra-pure water. The diluted vanillin solution was prepared from this stock solution. Britton-Robinson buffer solutions (BRBS) used voltammetric studies were prepared in the pH range of 2.0 to 10.0 by proper mixture of 0.04 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.04 M H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.04 M CH<sub>3</sub>COOH and 0.20 M NaOH containing 0.10 M KCl.

All cyclic and differential pulse voltammetric measurements were carried out using a Compactstat Electrochemical Interface (Ivium Technologies, Eindhoven, the Netherlands). The measurement of pH of solutions was performed using A HI 221 Hanna pH-meter with a combined glass electrode (Hanna HI 1332). Elga Option Q7B water purification system (18.2 MΩ cm) was used to supply ultra-pure water. An electrochemical cell including an auxiliary electrode (a platinum wire), a reference electrode (an Ag/AgCl/sat. KCl) and a working electrode (PGE) were used to perform voltammetric studies. The PGE obtained by insertion of pencil leads of 60 mm with a diameter of 0.5 mm (Ultra-Polymer, 2B, Tombow, Japan) into a mechanical pencil (Rotring, Germany). A 1.0 cm of length of pencil lead (geometric surface area is 15.9 mm<sup>2</sup>) was immersed into supporting electrolyte solution.

### Voltammetric Studies

PGEs were used with and without using a pre-oxidation procedure in which pencil leads were pre-anodized at +1.45 V for 60 s in 0.10 M pH 7.0 phosphate buffer solution with 0.10 M KCl (p-PGE). In the first step of voltammetric experiments, cyclic voltammograms (CVs) of 0.5 mM vanillin at p-PGE were recorded in the BRBS in the pH range of 2.0-10.0 including 0.10 M KCl at a scan rate of 50 mV/s using a potential range from -0.3 to 1.2 V. In the second step, CVs of 0.5 mM vanillin at p-PGE were recorded at various scan rates changed in the range from 10 to 400 mV/s in the pH 8.0 BRBS. To compare electrochemical behavior of vanillin at p-PGE, CVs of vanillin were also recorded by using GCE and bare PGE in the pH range of 8.0 BRBS including 0.10 M KCl at a scan rate of 50 mV/s using a potential range from -0.3 to 1.2 V. Before use, GCE (BASi MF-2012 model, Ø = 3 mm, geometric surface area = 7.1 mm<sup>2</sup>) was polished with alumina slurry on the polishing cloth, washed with deionized water and sonicated with ethanol and water in an ultrasonic bath, respectively.

In the final step, electrochemical determination of vanillin was carried out by recording differential pulse voltammograms (DPVs) of vanillin at p-PGE in the pH 8.0 BRBS containing 0.10 M KCl in a potential range of -0.3 to 1.2 V at a scan rate of 50 mV/s using optimized pulse amplitude (15 mV) and pulse time (2 ms).

## Analysis of Vanilla Syrups

Applicability of the proposed voltammetric method was tested for the determination of vanillin in two different vanilla syrups which were purchased from a local market in Turkey. The samples with light yellow and brown (including caramel) colors were identified Sample 1 and Sample 2, respectively. Before analysis Sample 1 and Sample 2 were diluted to 20 and 100 folds with pH 8.0 BRBS containing 0.10 M KCl, respectively. An aliquot volume (about 20  $\mu\text{L}$ ) of these diluted syrup samples was added into the electrochemical cell that contained 5.0 mL of pH 8.0 BRBS containing 0.10 M KCl and then the DPVs were recorded under above mentioned conditions. The standard addition method was applied by adding successive aliquots of 0.10 mM vanillin standard solution to the electrochemical cell. After each addition, the DPVs were recorded. The recoveries were calculated by evaluating the peak current obtained from standard addition method. To compare results obtained from proposed electrochemical method, vanillin in vanilla syrups was also determined by using a known spectrophotometric method [34]. For this purpose, 1 mL of vanilla syrup added to 20 mL of ultra-pure water in the separation funnel, and then vanillin was extracted to total 60 mL of chloroform using three sequential extractions with 20 mL. In the second extraction step, vanillin in chloroform was extracted to total 150 mL of 0.1 M NaOH using three sequential extractions with 50 mL and then each extracted solutions was diluted to 250 mL with 0.1M NaOH. Then, the absorbance of extracted solutions was measured with standard solutions of vanillin (1, 2, 3, 4 and 5 ppm vanillin prepared in 0.1 M NaOH) at 347 nm using a spectrophotometer.

## RESULTS and DISCUSSION

### Voltammetric Behavior of Vanillin on PGE

To investigate electrochemical behavior of vanillin, CVs of vanillin were recorded at bare PGE, p-PGE and bare GCE. CVs of 0.5 mM vanillin at these three electrodes recorded in pH 8.0 BRBS including 0.10 M KCl at 50 mV/s are shown in Figure 1. In the CV of 0.5 mM vanillin at the bare PGE, a well-defined anodic peak at +520 mV was observed (Figure 1b). The current density of this peak increased about twice in the case of using p-PGE (Figure 1a), because pre-anodization of the bare PGE offers an affective electrode surface area by functionalization of electrode. When the GCE was used, the current density of the anodic peak decreased significantly and its peak potential shifted to more positive direction (+600 mV) (Figure 1c). The reason of these adverse events to be observed at the GCE can be attributed to the sluggish electron transfer and the passivation of electrode surface due to the adsorption of oxidation products on the electrode surface. It can be concluded that the electro-active surface of the PGE is higher than the GCE. Thus p-PGE facilitates the electron transfer between electrode and vanillin and the remarkable enhancement in the peak current were obtained.

Figure 2 shows CVs of the p-PGE in the presence of 0.5 mM vanillin recorded at various scan rates. It can be seen that oxidation peak of vanillin at +520 mV increased by increasing scan rate. The plot of peak current versus square root of the scan rate given in the inset of Figure 2 shows that currents increased linearly with the square root of the scan rate in a range from 10 to 400 mV/s. This linear change indicates that oxidation of vanillin at the p-PGE was controlled with a diffusion process.

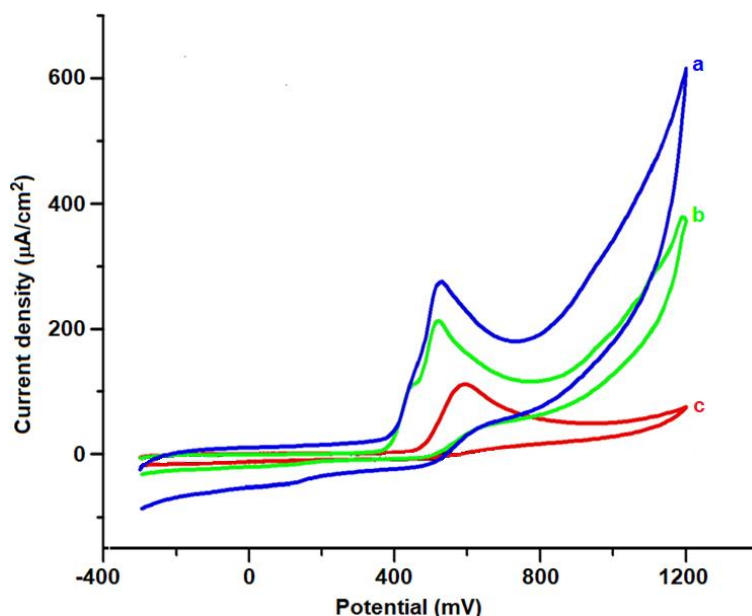


Figure 1. CVs of p-PGE (a), bare PGE (b) and bare GCE (c) in the presence of 0.5 mM vanillin in the pH 8.0 BRBS at a scan rate of 50 mV/s.

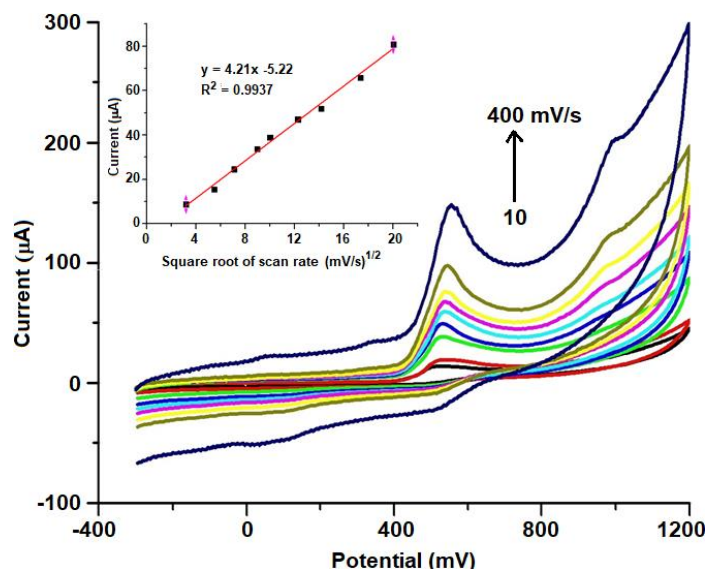


Figure 2. CVs of 0.5 mM vanillin in pH 8.0 BRBS containing 0.10 M KCl at p-PGE at various scan rate (mV/s) Inset: Plot of peak current versus square root of scan rate.

To see the effect of the pH on the oxidation peak of vanillin, the DPVs of 0.1 mM vanillin at the p-PGE were also recorded in the BRBS containing 0.10 M KCl with various pHs in the range from 2.0 to 10.0 at a scan rate of 50 mV/s (Figure 3A). Oxidation peak potential of vanillin shifted to negative direction with an increase of pH. Moreover, the plot of peak potential of vanillin versus pH given in Figure 3B shows that peak current increased linearly with increasing of pH from 2.0 to 8.0

based on the linear equation of  $E_p$  (mV) =  $-58\text{pH} + 955$  ( $R^2 = 0.991$ ). The obtained slope is very close to the anticipated Nernstian value of  $-59.16$  mV for equal numbers of electrons and protons process. Thus, hydroquinone groups in the vanillin oxidized to quinone groups by giving two electrons and two protons which was in good agreement with those reported for electrooxidation of vanillin at various types of electrodes in the literature [16, 17, 24, 25].

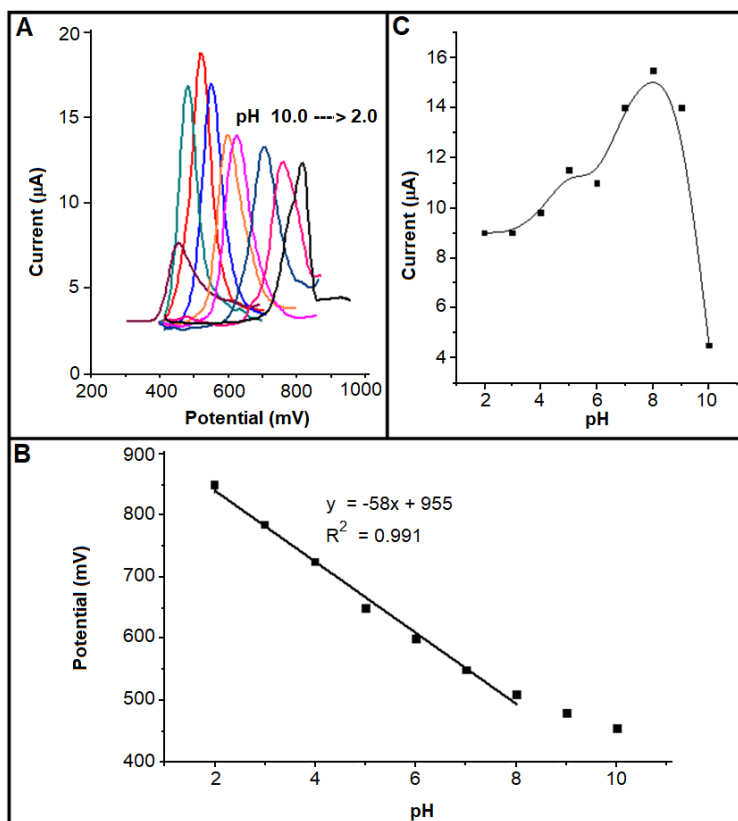


Figure 3. **A)** DPVs of p-PGE in the presence of 0.10 mM vanillin at various pH values (from 2.0 to 10) of BRBSs, **B)** A plot of oxidation peak potential of vanillin versus pH and **C)** A plot of peak current versus pH.

## Differential Pulse Voltammetric Determination of Vanillin

To obtain the highest current for differential pulse voltammetric determination of vanillin, some parameters were optimized. Figure 3C shows the effect of pH on the peak current of 0.10 mM vanillin at the p-PGE. It can be seen that the highest peak current was observed in the case of using pH 8.0 BRBS as supporting electrolyte. Therefore, optimization of some parameters such as pulse time, pulse amplitude and scan rate were carried out by recording DPVs of 0.10 mM vanillin at the p-PGE in pH 8.0 BRBS. The differential pulse voltammetric studies show that pulse time, pulse amplitude and scan rate were optimized as 2 msec, 15 mV and 50 mV/s, respectively.

The oxidation peak current of vanillin depending on increased vanillin concentration was investigated by recording DPVs under optimal experimental conditions. Figure 4A shows DPVs of the p-PGE recorded in pH 8.0

BRBS containing different concentration of vanillin ranging from 0 to 100  $\mu\text{M}$ . The curve of peak current versus concentration of vanillin given in Figure 4B shows that oxidation current of vanillin increased linearly with vanillin concentration between 0.5 and 10.0  $\mu\text{M}$  based on equation of  $I_p (\mu\text{A}) = 0.79C(\mu\text{M}) + 0.26$ ,  $R^2 = 0.9949$ . To find limit of detection (LOD), DPVs of lowest vanillin concentration which can be detectable were recorded for five times and standard deviation (sd) of the means accepted as the sd of blank ( $S_b$ ) was estimated from the results. LOD was found to be 0.16  $\mu\text{M}$  using the equations of  $\text{LOD} = 3 S_b/m$ , where  $m$  is the slope of the calibration plot ( $0.79 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}$ ).

The DPVs of 5.0  $\mu\text{M}$  of vanillin under optimal experimental conditions were also recorded by using five individual p-PGEs thus repeatability of proposed electrode was investigated by evaluation of obtained peak currents. The relative standard deviation of 3.0 % ( $n=5$ ) implies that the p-PGE offers a substantial repeatability for vanillin determination.

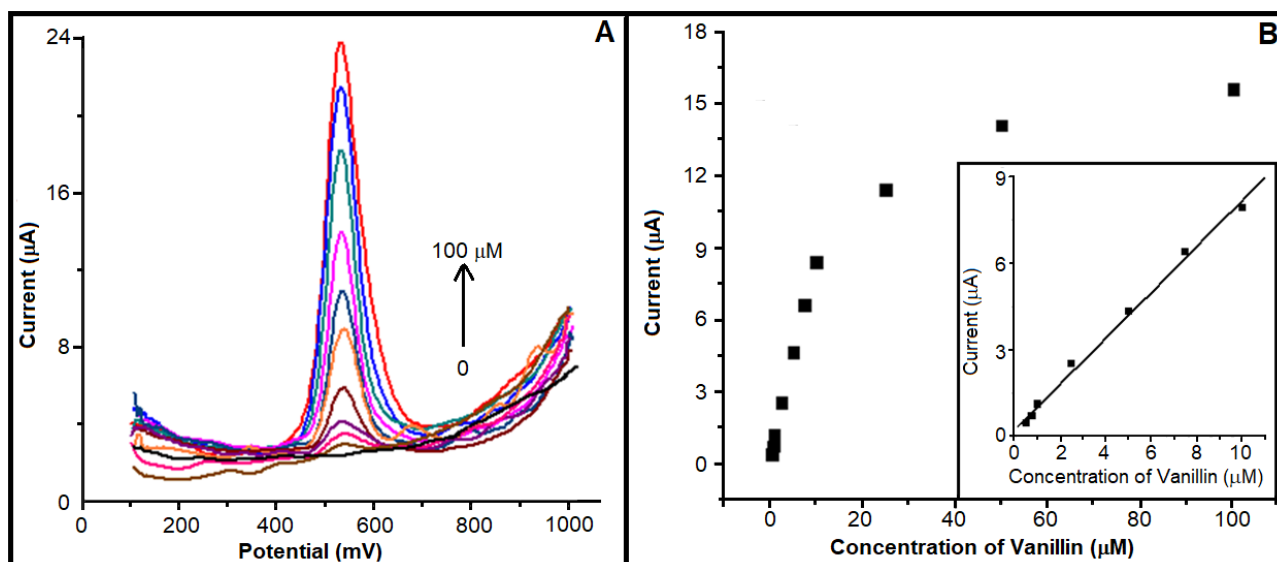


Figure 4. **A)** DPVs of vanillin in the increased concentration (from 0 to 100  $\mu\text{M}$ ) at p-PGE and **B)** The plot of peak current versus concentration of vanillin Inset: Linear calibration curve of vanillin

A comparison of the analytical performance of proposed electrode with that some other electrodes reported in the literature is given Table 1. It can be seen that the p-PGE offers a lower LOD, a higher sensitivity with a reasonable wide linear range than some previously published paper. Table 1 shows that various types of modified electrodes have been successfully used for the sensitive and selective determination of vanillin. However, these electrodes have some disadvantages compared with the PGE such as lower reproducibility, time consuming polishing and also modification steps, expensive electrode materials.

## Interference Study

To test the interference effect of some substances on the voltammetric response of vanillin at proposed electrode,

DPVs of 5.0  $\mu\text{M}$  vanillin were recorded in the absence and presence of some cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ), some anions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) and some organic molecules (glucose, sucrose, ascorbic acid (AA), dopamine (DA) and uric acid (UA)) under optimal experimental conditions. The results demonstrated that the oxidation peak of 5.0  $\mu\text{M}$  vanillin was not significantly influenced by a 1000-fold concentration of interferences. Especially, oxidation peak of vanillin was not influenced by electroactive AA, DA and UA interferences. Since the oxidation peaks of AA, DA and UA were observed at 125, 155 and 250 mV, respectively, while vanillin oxidized at 520 mV. Results obtained from interference experiments indicated that p-PGE might be suitable for selective determination of vanillin in real samples.

Table 1. Comparison of analytical performance of proposed electrode with some previous reported electrodes for vanillin determination.

Electrode	Technique	Supporting Electrolyte	LR ( $\mu\text{M}$ )	LOD ( $\mu\text{M}$ )
AuNPs-modified SPCE modified with GQD and Nafion[12]	DPV	0.025 M $\text{H}_2\text{SO}_4$	0.66-0.33	0.32
	LSV	0.025 M $\text{H}_2\text{SO}_4$	13-660	3.9
Overoxidized poly(pyrrole) film-modified GCE [13]	DPV	ABS pH 5.2	0.032-1.50	0.012
Aluminium doped $\text{TiO}_2$ Nanoparticles-modified SPCE [14]	LSV	0.1 M $\text{H}_3\text{PO}_4$	0.07-20	0.02
GCE modified with $\text{Cu}_2\text{O}$ -electrochemically RGO nanocomposite film [15]	SOD-LSV	0.1 M $\text{H}_2\text{SO}_4$	0.1-10 and 10-100	0.01
CPE modified with CdO/SWCNTs and ionic liquid [16]	SWV	0.1 M PBS, pH 6.0	0.03-800	0.009
CoS nanorods@Nafion modified GCE [17]	DPV	0.05 M PBS, pH 7.2	0.5- 56	0.07
MgO/SWCNTs and ionic liquid modified CPE[19]	SWV	0.1 M PBS, pH 7.0	0.02-800	0.008
AuNP-PAH/GCE [21]	SWV	0.2 M ABS pH 5.0	0.90-15.0	0.055
AuPd nanoparticles-graphene composite modified GCE [23]	DPV	0.1 M PBS, pH 7.0	0.1-7 and 10-40	0.02
Arginine functionalized graphene nanocomposite modified GCE [24]	DPV	ABS pH 5.2	2.0-70.0	1.0
This work (p-PGE)	DPV	BRBS pH 8.0	0.5-10	0.16

LR: Linearity range, LOD: Limit of detection, AuNPs: Gold nanoparticles, SPCE: Screen printed carbon electrode, GQD: Graphene quantum dots, DPV: Differential pulse voltammetry, LSV: Linear sweep voltammetry, SOD-LSV: Second order derivative linear sweep voltammetry, GCE: Glassy carbon electrode, RGO: Reduced graphene oxide, SWCNT: Single walled carbon nanotube, CPE: Carbon pasta electrode, PAH: poly(allylamine hydrochloride), PBS: Phosphate buffer solution, ABS: Acetate buffer solution, SWV: Square wave voltammetry, p-PGE: Pre-anodized pencil graphite electrode

### Analytical Application

The proposed voltammetric procedure using p-PGE was applied to the determination of vanillin in two different vanilla syrups (Sample 1 and Sample 2). DPVs of p-PGE were recorded based on standard addition procedure which was described as detail in experimental section. The content of vanillin in these samples was also determined with a known spectrophotometric method [34]. The obtained results presented in Table 2 show that vanillin in the real samples can accurately determine with proposed voltammetric method using p-PGE. As shown in Table 2, the results obtained for vanillin determination by proposed method was found in good agreement with those by spectrophotometric method.

### CONCLUSION

In this study, differential pulse voltammetric determination of vanillin was proposed using p-PGE that has some advantages such as sensitive response, a disposable, low cost and commercial available electrode

material. CVs of vanillin showed that vanillin oxidized at about +520 mV in the pH 8.0 BRBS with a sharp peak at p-PGE. On the other hand, it was observed that vanillin also oxidized at the bare PGE and the bare GCE under same conditions. However, the peak currents of vanillin at bare PGE and especially bare GCE was found to be lower than that of p-PGE as well as peak potential shifted to a little bit positive direction. These results showed that p-PGE shows electrocatalytic activity toward oxidation of vanillin due to the porous surface of PGE and functionalization of PGE with pre-oxidation procedure. Proposed voltammetric method using the p-PGE has a good liner response toward vanillin in the concentration range from 0.5 to 10.0  $\mu\text{M}$  with a detection limit of 0.16  $\mu\text{M}$ . This proposed method has also been successfully applied to the determination of vanillin in two different vanilla syrups. Finally, it can be concluded that a sensitive, selective, disposable, low cost and simple voltammetric method has been developed for the determination of vanillin using a very useful electrode, PGE.

Table 2. Determination of vanillin in real samples (n=3).

Syrup Samples	Obtained results ( $\text{mol L}^{-1}$ )	
	Proposed Method (DPV)	Spectrophotometric Method [34]
Sample 1(with light yellow color)	$4.5 \times 10^{-2} \pm 1.0 \times 10^{-3}$	$4.6 \times 10^{-2} \pm 2.0 \times 10^{-3}$
Sample 2 (with brown color)	$5.9 \times 10^{-3} \pm 2.7 \times 10^{-4}$	$6.2 \times 10^{-3} \pm 3.1 \times 10^{-4}$

### REFERENCES

- [1] Sinha, A.K., Sharma, U.K., Sharma, N. (2008). A comprehensive review on vanilla flavor: Extraction, isolation and quantification of vanillin and others constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(4), 299-326.
- [2] Bezerra, D.P., Soares, A.K.N., De Sousa, D.P. (2016). Overview of the role of vanillin on redox status and cancer development. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016, Article ID 9734816, 9 pages.
- [3] Rasoamandry, N., Fernandes, A.M., Bashari, M., Masamba, K., Xuemin, X. (2013). Improved extraction of vanillin 4-hydroxy-3-

- methoxybenzaldehyde from cured vanilla beans using ultrasound-assisted extraction: A comparison of ultrasound-assisted and hot water bath extraction. *Akademik Gıda*, 11(1), 6-12.
- [4] Rao, S.R., Ravishankar, G.A. (2000). Vanilla flavour: production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 289-304.
- [5] Sinha, A.K., Verma, S.C., Sharma, U.K. (2007). Development and validation of an RP-HPLC method for quantitative determination of vanillin and related phenolic compounds in *Vanilla planifolia*. *Journal of Separation Science*, 30, 15-20.
- [6] De Jager, L.S., Perfetti, G.A., Diachenko, G.W. (2008). Comparison of headspace-SPME-GC-MS and LC-MS for the detection and quantification of coumarin, vanillin, and ethyl vanillin in vanilla extract products. *Food Chemistry*, 107, 1701-1709.
- [7] Wang, Z., Zeng, G., Wei, X., Ding, B., Huang, C., Xu, B. (2016). Determination of vanillin and ethylvanillin in milk powder by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 9, 3360-3366.
- [8] Santos, I.C., Smuts, J., Schug, K.A. (2017). Rapid profiling and authentication of vanilla extracts using gas chromatography-vacuum ultraviolet spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 10, 4068-4078.
- [9] Li, R., Jiang, Z., Mao, L., Shen, H. (1998). Adsorbed resin phase spectrophotometric determination of vanillin or/and its derivatives. *Talanta*, 47, 1121-1127.
- [10] Zhao, J., Xia, H., Yu, T., Jin, L., Li, X., Zhang, Y., Shu, L., Zeng, L., He, Z. (2018). A colorimetric assay for vanillin detection by determination of the luminescence of o-toluidine condensates. *PLoS One*, 13(4), e0194010, 1-11.
- [11] Alpar, N., Yardim, Y., Sentürk, Z. (2018). Selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in foods and beverages by adsorptive stripping voltammetry using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Sensors and Actuators B*, 257, 398-408.
- [12] Durán, G.M., Llorent-Martínez, E.J., Contento, A.M., Ríos, Á. (2018). Determination of vanillin by using gold nanoparticle-modified screen-printed carbon electrode modified with graphene quantum dots and Nafion. *Microchimica Acta*, 185, 204-212.
- [13] Karabiberoglu, S.U., Kocak, C.C. (2018). Voltammetric determination of vanillin in commercial food products using overoxidized poly(pyrrole) film-modified glassy carbon electrodes. *Turkish Journal of Chemistry*, 42, 291-305.
- [14] Murtada, K., Jodeh, S., Zougagh, M., Rios, A. (2018). Development of an aluminum doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles-modified screen printed carbon electrode for electrochemical sensing of vanillin in food samples. *Electroanalysis*, 30, 969-974.
- [15] Ning, J., He, Q., Luo, X., Wang, M., Liu, D., Wang, J., Liu, J., Li, G. (2018). Rapid and sensitive determination of vanillin based on a glassy carbon electrode modified with Cu<sub>2</sub>O-electrochemically reduced graphene oxide nanocomposite film. *Sensors*, 18, 2762 (17 pages)
- [16] Cheraghi, S., Taher, M.A., Karimi-Maleh, H. (2017). Highly sensitive square wave voltammetric sensor employing CdO/SWCNTs and room temperature ionic liquid for analysis of vanillin and folic acid in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 254-259.
- [17] Sivakumar, M., Sakthivel, M., Chen, S.M. (2017). Simple synthesis of cobalt sulfide nanorods for efficient electrocatalytic oxidation of vanillin in food samples. *Journal of Colloid Interface Science*, 490, 719-726.
- [18] Wu, W., Yang, L., Zhao, F., Zeng, B. (2017). A vanillin electrochemical sensor based on molecularly imprinted poly(1-vinyl-3-octylimidazole hexafluoride phosphorus)-multi-walled carbon nanotubes@polydopamine-carboxylsingle-walled carbon nanotubes composite. *Sensors and Actuators B*, 239,481-487.
- [19] Abbasghorbani, M. (2017). Electrochemical determination of vanillin in food samples using MgO/SWCNTs-ionic liquid modified electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 12, 11656-11665.
- [20] Deng, P., Xu, Z., Zeng, R., Ding, C. (2015). Electrochemical behavior and voltammetric determination of vanillin based on an acetylene black paste electrode modified with graphene-polyvinylpyrrolidone composite film. *Food Chemistry*, 180, 156-163.
- [21] Silva, T.R., Brondani, D., Zapp, E., Vieira, I.C. (2015). Electrochemical sensor based on gold nanoparticles stabilized in poly(allylamine hydrochloride) for determination of vanillin. *Electroanalysis*, 27, 465-472.
- [22] Wang, X., Luo, C., Li L., Duan, H. (2015). An ultrasensitive molecularly imprinted electrochemical sensor based on graphene oxide/carboxylated multiwalled carbon nanotube/ionic liquid/gold nanoparticle composites for vanillin analysis. *RSC Advances*, 5, 92932-92939.
- [23] Shang, L., Zhao, F., Zeng, B. (2014). Sensitive voltammetric determination of vanillin with an AuPd nanoparticles-graphene composite modified electrode. *Food Chemistry*, 151, 53-57.
- [24] Zhao, Y., Du, Y., Lu, D., Wang, L., Ma, D., Ju, T., Wu, M. (2014). Sensitive determination of vanillin based on an arginine functionalized graphene film. *Analytical Methods*, 6, 1753-1758.
- [25] Zheng, D., Hu, C., Gan, T., Dang, X., Hu, S. (2010). Preparation and application of a novel vanillin sensor based on biosynthesis of Au-Ag alloy nanoparticles. *Sensors and Actuators B*, 148, 247-252.
- [26] Bettazzi, F., Palchetti, I., Sisalli, S., Mascini, M. (2006). A disposable electrochemical sensor for vanillin detection. *Analytica Chimica Acta*, 555, 134-138.
- [27] Dilgin D.G., Karakaya, S. (2016). Differential pulse voltammetric determination of acyclovir in pharmaceutical preparations using a pencil graphite

- electrode. *Materials Science and Engineering: C*, 63, 570-576.
- [28] Dilgin, D.G., Ertek, B., Dilgin, Y. (2018). A low-cost, fast, disposable and sensitive biosensor study: flow injection analysis of glucose at poly-methylene blue-modified pencil graphite electrode. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 15(6), 1355-1363.
- [29] Dilgin, D.G. (2018). Determination of calcium dobesilate by differential pulse voltammetry at a disposable pencil graphite electrode. *Analytical Letters*, 51(1-2), 186-197.
- [30] Özcan, A., Gürbüz, M., Özcan, A.A. (2018). Preparation of a disposable and low-cost electrochemical sensor for protham detection based on over-oxidized poly(thiophene) modified pencil graphite electrode. *Talanta*, 187, 125-132.
- [31] Baig, N., Rana, A., Kawde, A.N. (2018). Modified electrodes for selective voltammetric detection of biomolecules. *Electroanalysis*, 30, 2551-2574.
- [32] Torrinha, A., Amorim, C.G., Montenegro, M., Araujo, A.N. (2018). Biosensing based on pencil graphite electrodes. *Talanta*, 190, 235-247.
- [33] Wang, J., Kawde, A.N., Sahlin, E. (2000). Renewable pencil electrodes for highly sensitive stripping potentiometric measurements of DNA and RNA. *Analyst*, 125, 5-7.
- [34] Ainscough, E.W., Brodie, A.M. (1990). The determination of vanillin in vanilla extract. *Journal of Chemical Education*, 67(12), 1070-1071.
-



## Effects of Freeze-Drying Process on Antioxidant and Some Physical Properties of Cherry Laurel and Kiwi Fruits

Özlem Aktürk Gümüştay , Meral Yıldırım Yalçın 

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Gebze Technical University, Kocaeli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 09.10.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 21.02.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): o.akturk@gtu.edu.tr (Ö. Aktürk Gümüştay)

☎ +90 262 605 21 13 📠 +90 262 605 21 05

### ABSTRACT

Freeze-drying is a trend method for the preservation of thermosensitive and nutritive food products. In this study, two different fruits, kiwi fruit with high ascorbic acid content and cherry laurel fruit with high phenolic content, were selected to study the freeze-drying effect on these compounds. Ascorbic acid content, total phenolic content and antioxidant capacity of kiwi and cherry laurel fruits were determined before and after freeze-drying process. Ascorbic acid content of kiwi and cherry laurel fruit were  $205.14 \pm 21.33$  and  $3.00 \pm 1.02$  mg/100 g dry matter, respectively. Total phenolic content of kiwi and cherry laurel fruits were  $262.66 \pm 19.97$  and  $1056.78 \pm 90.73$  mg GAE/100 g dry matter, respectively. Ascorbic acid contents did not change, while antioxidant capacities increased by freeze-drying process for both fruits. The total phenolic content of cherry laurel fruits increased significantly after freeze-drying in contrast to the total phenolic content of kiwi fruits. Color values changed with freeze-drying, the lightness and yellowness values increased significantly for both fruits ( $p < 0.05$ ). The rehydration ratios of freeze-dried kiwi and cherry laurel fruits were found similar at 25 and 40°C. The rehydration ratio in water at 40°C increased more quickly in the beginning of immersion than the ratio at 25°C. The results of this study showed that freeze-drying method is highly recommended for the preservation of nutritive values of these fruits and off-season products.

**Keywords:** Ascorbic acid, Phenolic, Cherry laurel, Kiwi fruit, Freeze-drying

### Dondurarak Kurutma İşleminin Karayemiş ve Kivinin Fiziksel ve Antioksidan Özellikleri Üzerine Etkisi

#### ÖZ

Dondurarak kurutma besleyici ve sıcaklıktan kolay etkilenebilen gıda ürünlerinin korunmasında kullanılan yeni bir metottur. Bu çalışmada, dondurarak kurutmanın etkilerini gözlemlemek için yüksek askorbik asit (kivi) ve fenolik bileşen içeren (karayemiş) iki tip meyve seçilmiştir. Kivi ve karayemiş meyvelerinin dondurarak kurutulmasından önce ve sonra askorbik asit içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Kivi ve karayemiş meyvesi için askorbik asit içerikleri sırasıyla  $205.14 \pm 21.33$  ve  $3.00 \pm 1.02$  mg/100 g kuru madde olarak bulunmuştur. Kivi ve karayemiş meyvesi için toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla  $262.66 \pm 19.97$  ve  $1056.78 \pm 90.73$  mg GAE/100 g kuru madde olarak belirlenmiştir. Her iki meyve için de dondurarak kurutma işlemi ile birlikte antioksidan kapasiteleri artarken, askorbik asit içerikleri değişmemiştir. Toplam fenolik bileşen miktarında dondurarak kurutulmuş karayemiş meyvesinde önemli ölçüde artış olmuştur ancak kivi meyvesinde olmamıştır. Renk değerleri her iki meyve için dondurarak kurutma işlemi ile birlikte değişmiştir, aydınlık ve sarılık değerleri önemli ölçüde artmıştır ( $p < 0.05$ ). Dondurarak kurutulmuş kivi ve karayemiş meyvelerinin 25 ve 40°C'deki rehidrasyon oranlarının benzer olduğu bulunmuştur. Rehidrasyon oranları, 25 ve 40°C'deki suyun içerisinde tutulma sürelerinin başlangıcında daha hızlı artış gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçları dondurarak kurutma işleminin, besleyici kurutulmuş meyveler ve sezon dışı ürünler için uygun bir metot olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Askorbik asit, Fenolik, Karayemiş, Kivi, Dondurarak kurutma

## INTRODUCTION

Oxygen is indispensable part of our lives and has toxic effect due to the formation of reactive oxygen species (ROS). Increase of ROS in cells leads to the generation of oxidative stress. Antioxidants act as defensive to damage induced with oxidative stress. Fruits have antioxidant components, especially phenolic compounds, carotenoids and ascorbic acid [1, 2]. Many studies show that intake of antioxidant-rich fruits is associated with reduce the risk of cardiovascular disorders, cancer, neurological diseases and atherosclerosis [3-5].

Phenolic compounds in fruits are diverse group of secondary metabolites. They donate an electron to free radical and prevent oxidative damage. Total phenolics are considered as the major contributor to the antioxidant activity of fruits, vegetables and herbs [6-9]. Besides, these compounds powerfully affect color of fruits [10]. Another electron donor is ascorbic acid known as vitamin C. Ascorbic acid which is a water soluble compound cannot be synthesis in human body; therefore, we must consume it from exogenous supplements [11].

Kiwifruit (*Actinidia deliciosa* Planch) is known as a good source of ascorbic acid. Because of the phytonutrient content of kiwifruit including carotenoids, lutein, phenolic, flavonoids and chlorophyll, it is also an excellent source of antioxidant [12-14].

Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* L.) also known as taflan or wild cherry is produced in the Black Sea Region in Turkey. It is a popular fruit for its characteristic taste and nutritional properties. In Turkey, it is consumed as fresh, dried or processed into jam, marmalade, canned, or pickled; also, it is known for its diuretic and antidiabetic properties and medical effects on stomach ulcers, digestive system problems, bronchitis, eczemas, and hemorrhoids [15, 16].

Since harvesting of fruits is not possible for every season, research studies are concentrated on different methods to make them accessible. Drying is the most common and traditional method. Due to the preservation of biological activity of thermosensitive components, freeze-drying is an important drying process [17]. Freeze-drying is a low temperature dehydration process and during this process water is removed by sublimation of ice from frozen food parts. Freeze-drying preserves the shape, taste, color, flavor, appearance, texture, dimensions and the nutritional compounds of the raw material. Also, it prevents the microbial spoilage, oxidation and extends the shelf life of foods. However, freeze-drying is a slow and consequently an expensive process. Therefore, the use of this process is restricted to high value products [17-19].

Freeze-drying process takes place in three stages: freezing, primary drying and secondary drying. In the first freezing step, the temperature of the food product is decreased below the water triple point. In the primary drying stage ice sublimation takes place with heating

(below the triple point) under partial vacuum condition. With the increasing temperature, the bounded water is desorbed in the last step [17, 18].

In recent years, changes in consumer demand for high quality products have caused to use new technologies and produce more attractive, safe and nutritious products. The aim of this study was to preserve the nutritional components of kiwi fruit and cherry laurel fruits by freeze-drying. To reach this objective ascorbic acid content, total phenolic content and antioxidant activity of fresh and freeze-dried fruits were analyzed. Also, the color and rehydration capacity measurements of fruits were examined to understand the physical changes during the freeze-drying process.

## MATERIALS and METHODS

### Chemicals

In this study, chemicals with analytical purity were used. Vitamin C standard (ascorbic acid), oxalic acid, sodium carbonate, copper(II) chloride, ammonium acetate, ethanol, methanol, potassium dihydrogen phosphate and phosphoric acid were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Gallic acid standard was obtained from Acros Organic (Geel, Belgium). Trolox standard [(±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid] was purchased from Aldrich (Steinheim, Germany). Folin-Ciocalteu reagent and DPPH (2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) were obtained from Fluka (Buchs, Switzerland). Neocuproine was purchased from Carlo Erba Reagents (Milano, Italy).

### Freeze-drying Process

Fruits were purchased from major chain supermarkets in Istanbul. Fresh fruits were dried with a pilot scale freeze drier (VirTis Ultra 25 Super XL, New York, USA). Operation conditions of freeze-drying were selected as -20°C for freezing step, 10°C for drying step and 10 Pa for chamber pressure during the drying.

### Preparation of Aqueous Sample Extracts for Determination of Ascorbic Acid Content

Oxalic acid solution (0.5%) was used to prepare the extracts. Weighted samples were placed into a test tube and 10 mL of oxalic acid solution was added. Test tubes were sonicated with an ultrasonic bath (Elmasonic E 30 H, New Jersey, USA) for 15 minutes and centrifuged at 3200 rpm for 15 minutes. Then liquid phases were filtered through 0.45 µm filter.

### Preparation of Aqueous Sample Extracts for Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity Analyses

Extracts were prepared with 75% methanol solution. Weighted samples were transferred into test tubes and after mixing with methanol solution were sonicated with an ultrasonic bath. After centrifugation at 2500 rpm for 10 min, the upper supernatant was gathered in another

tube. Remaining precipitate was mixed with 3 mL of methanol solution again and the extraction procedure was repeated until supernatant volume reached 10 mL. Supernatants were filtered through 0.45 µm filter.

#### Determination of Ascorbic Acid by the HPLC Method

Ascorbic acid (AA) content was determined in triplicates by the Hitachi LaChrom Elite HPLC system (VWR-Merck, Vietnam) with a UV detector. HPLC column was a Phenomenex Luna 5u C18 column (250 x 4.6 mm ID) and separation was carried out isocratically at 25°C. Detection was performed at 254 nm. The mobile phase was 25 mM potassium dihydrogen phosphate (adjusted to pH 2.2 with phosphoric acid) with a flow rate of 1 mL/min. Sample injection volume was 10 µL [20]. Quantification was done with respect to the standard curve of ascorbic acid.

#### Determination of Total Phenolic Content

The Folin–Ciocalteu colorimetric method defined previously by Wojdyło et al. [21] was carried out to measure the total phenolic content (TPC). Folin-Ciocalteu reagent (0.2 mL) and 2 mL of distilled water were added to the sample extract solution. After incubation at room temperature for 3 minutes, 1 mL of 20% sodium carbonate was added and spectrophotometric analysis was completed after 1 h of incubation in darkness. The blue color was determined in a spectrophotometer (Lambda 35, Perkin Elmer, Shelton, ABD) using a wave-length of 765 nm. Quantification was performed by the standard curve of gallic acid ( $R^2 = 0.998$ ). The mean results of triplicate analysis were expressed as gallic acid equivalents (GAE), milligrams per 100 g of dry matter (dm).

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [\text{Abs}_{(\text{control})} - \text{Abs}_{(\text{sample})}] / (\text{Abs}_{(\text{control})}) \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

where  $\text{Abs}_{(\text{control})}$  is absorbance of the blank (reacting mixture without the test sample) and,  $\text{Abs}_{(\text{sample})}$  is absorbance of reacting mixture with the test sample. Triplicate analyses were performed and results were given as means  $\pm$  standard deviation.

#### Color Measurements

The color analysis of fruits was carried out by using a Konica Minolta CR-400 Chroma meter (Osaka, Japan) according to Hunter Lab system (L: lightness, a: redness, and b: yellowness). Measurements were evaluated at four points in center and lateral locations of samples and average results were given. The total color difference from the fresh fruits ( $\Delta E$ ) were calculated as defined in Eq. 2.

$$\Delta E = \sqrt{(L_o - L)^2 + (a_o - a)^2 + (b_o - b)^2} \quad \text{Eq. 2}$$

where subscript “o” denotes to the color value of fresh samples, L; a and b indicate brightness, redness and yellowness of dried samples respectively. Fresh fruits

#### Determination of Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity

Cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) was determined using the normal sample measurement method described previously [22]. To a test tube 1 mL each of copper (II) chloride solution ( $10^{-2}$  M, 0.4262 g of  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in 250 mL of distilled water), neocuproine solution ( $7.5 \times 10^{-3}$  M, 0.039 g of neocuproine in 25 mL of 96% ethanol) and ammonium acetate buffer solution (pH 7.0, 19.27 g of ammonium acetate in 250 mL of distilled water) were mixed. The sample or standard solution (x mL) and distilled water was also mixed ((1.1-x) mL) with the reagent mixture until the final volume reached 4.1 mL. The absorbance was determined at 450 nm with a spectrophotometer after 1 h of incubation in darkness. The standard calibration curve of Trolox was used to quantify the antioxidant capacity of samples. The results were expressed as Trolox milligrams per 100 g of dry matter (dm). All determination values were given as means  $\pm$  standard deviation of triplicate analysis.

#### Determination of DPPH Radical-Scavenging Activity

The DPPH radical-scavenging activity was determined using the method described previously by Brand-Williams et al. [23] with a few modifications. DPPH (5 µg) was dissolved in 70% methanol (250 mL). The radical stock solution was prepared fresh daily. The DPPH solution (3 mL) was added to 200 µl of extracts. The mixture was shaken vigorously and allowed to stand at room temperature in the dark for 30 min and the resulting color was measured spectrophotometrically at 517 nm against blanks. The DPPH radical-scavenging activity was subsequently calculated according to Eq. 1.

were used as the reference and a larger  $\Delta E$  means that greater color change from the reference material.

#### Rehydration Capacity

Rehydration capacities of freeze-dried fruits were measured by immersing a pre-weighed sample into water at room temperature (25°C) and at 40°C. The weight of the rehydrated samples was measured after 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100 and 120 min immersion in water for experiments carried out at room temperature and after 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 70 min immersion in water for experiments carried out at 40°C. At time intervals, the samples were taken out and weighted after drying on paper towels to eliminate excess water. Triplicate analyses were done and the rehydration ratio was obtained from the ratio of the fruit weight after and before the rehydration procedure [24].

## Statistical Analysis

The measurements were conducted at least in triplicates and results were given as mean  $\pm$  standard deviations. Statistical analysis was performed with the SPSS software (version 15 for windows, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and the significance level was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS and DISCUSSION

### Ascorbic Acid Content

In this study, extracts of kiwi fruit and cherry laurel were analyzed by HPLC. Results from HPLC analysis are shown in Table 1. We observed that kiwi fruit had higher ascorbic acid content than cherry laurel. Kvesitadze et al. [25] reported that ascorbic acid content in different kiwi fruit cultivars was 414-434 mg/100 g of dry matter. There was no significant difference in contents of ascorbic acid of fresh and freeze-dried kiwi fruit ( $p < 0.05$ ). Ascorbic acid content of fresh cherry laurel in 100 g dry and wet base weight were  $3.00 \pm 1.02$  mg and  $0.68 \pm 0.23$  mg (recalculated), respectively. Celik et al. [15] reported that ascorbic acid contents ranged from 2.1 to 4.1 mg/100 g wet base weight for different cherry laurel genotypes. Similar results were obtained for freeze-dried samples of cherry laurel. Ascorbic acid contents of fresh and freeze-dried cherry laurel were not significantly different ( $p < 0.05$ ). Ascorbic acid is a very sensitive vitamin. Oxygen and high temperature can be cause degradation of ascorbic acid. Freeze-drying process is carried out under vacuum at a low temperature. For this reason, were not observed a statistically important decrease in ascorbic acid content after freeze-drying process. Asami et al. [26] and Gumusay et al. [27] reported that freeze-drying process preserved higher levels of ascorbic acid in comparison with air-drying process. Chang et al. [28] observed that amount of ascorbic acid in two tomato cultivars decreased with 8.2-10% compared to fresh ones.

### Total Phenolic Content

The impact of freeze-drying on total phenolic content was evaluated and compared to fresh samples. We found that cherry laurel had higher total phenolic content than kiwi fruit (Table 1). Total phenolic content of kiwi fruit and cherry laurel were determined as  $262.66 \pm 19.97$  and  $1056.78 \pm 90.73$  mg GAE/100 g dm. Gorinstein et al. [28] reported that total phenolic contents of kiwi extracts was 5.62-7.91 mg GAE/g dm. Celik et al. [15] reported that total phenolic contents for different cherry laurel genotypes were found as 364-503 mg GAE/100 fresh weight. We found that impact of freeze-drying process on phenolic content of kiwi fruits was not significantly important ( $p < 0.05$ ). Gumusay et al. [27] observed similar results for freeze-drying of tomatoes. However total phenolic content in freeze-dried cherry laurel had higher than that in their fresh counterparts. Chan et al. [30] reported an increase in phenolic content of ginger leaves with freeze-drying process. The reason for an increase in total phenolic content of freeze-dried cherry

laurel fruits is that freeze-drying process might be increased up by the extraction efficiency of phenolic compounds.

### Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity

The antioxidant capacity of fresh and dried fruit samples was determined by analysis of the CUPRAC assay. According to results given in Table 1, cherry laurel had the high cupric ion reducing power ( $1555.70 \pm 447.21$  mg trolox/100 g dm), while kiwifruit had lower ( $326.59 \pm 13.61$  mg trolox/100 g dm). Park et al. [31] found similar results for CUPRAC of kiwifruit. The CUPRAC values of freeze-dried kiwifruit samples increased from  $326.59 \pm 13.61$  to  $370.20 \pm 60.31$ , but this change was not statistically significant ( $p \geq 0.05$ ). However, CUPRAC values of freeze-dried cherry laurel increased sharply ( $p < 0.05$ ). Gümüşay et al. [27] indicated that increased extraction efficiency and decreased antioxidant contents loss during freeze-drying process caused the antioxidant activity increase.

### DPPH Radical Scavenging Activity

The DPPH radical scavenging activity assay was performed to evaluate the antioxidant potential of kiwi and cherry laurel fruits. The DPPH values of fresh and freeze-dried fruit samples were calculated for 10 mg and 0.1 mg of dry matter, respectively. Therefore, as can be seen from Table 1, freeze-dried kiwi and cherry laurel fruits had higher antioxidant capacities than fresh fruits. Das et al. [32] were reported that DPPH radical-scavenging activity of freeze-dried wheatgrass were higher more than fresh ones. Another study about drying methods of mushroom indicated that freeze-drying of mushroom showed higher DPPH values than fresh ones. Freeze-drying, which formed ice crystals and rupture cell structure, increases the extraction efficiency and increases the ability of cellular components transportation, and consequently extraction [33]. Similar tendency about antioxidant activity of freeze-dried samples were found in both methods, as a result, we can conclude that freeze-drying is an effective method to preserve antioxidant properties of food materials.

### Color Measurements

Color values (L, a and b) of fresh and freeze-dried kiwi and cherry laurel fruits are shown in Table 2. Color measurements of cherry laurel fruit were done for both inner and outer surface. Color data of outer surface of cherry laurel were not given, because there was no difference between fresh and freeze-dried samples ( $\Delta E$ ;  $1.77 \pm 0.57$ ). We found statistically differences between all color values of fresh and freeze-dried samples for two fruit ( $p < 0.05$ ). Lightness and yellowness were increased with freeze-drying process. Cui et al. [34] observed that freeze-dried apples had higher lightness and yellowness value than their fresh counterparts. Browning was enabled with oxygen and high temperature. Freeze-drying process was operated under vacuum at low temperature, so lightness was expectedly increased. The total color change values were calculated for understanding of changes in redness and yellowness. Freeze-dried kiwi fruit had higher  $\Delta E$  value than freeze-dried cherry laurel.

Table 1. Ascorbic acid, total phenolic content and antioxidant properties of fresh and freeze-dried cherry laurel and kiwi fruit

		AA content (mg/100 g dm)	TPC (mg GAE/100 g dm)	DPPH inhibition (%)*	CUPRAC values (mg Trolox/100 g dm)
Kiwifruit	Fresh	205.14±21.33	262.66±19.97	15.57±1.22	326.59±13.61
	Dried	232.46±8.47	304.02±3.26	3.67±0.21	370.20±60.31
Cherry laurel	Fresh	3.00±1.02	1056.78±90.73	29.02±1.41	1555.70±447.21
	Dried	0.94±0.04	1552.74±44.02	35.48±0.87	3712.96±340.87

\* DPPH measurements of fresh and freeze-dried fruit samples were calculated for 10 mg and 0.1 mg of dry matter, respectively.

Table 2. Color properties of fresh and freeze-dried cherry laurel and kiwi fruit

		L	a	b	ΔE
Kiwi fruit	Fresh	42.70±0.58	-6.18±0.04	11.54±0.07	
	Dried	75.13±0.83	-9.23±0.19	21.86±0.40	34.17±0.12
Cherry laurel	Fresh	25.72±1.18	2.60±0.18	7.05±0.01	
	Dried	32.13±0.36	12.33±0.18	12.80±0.26	13.05±1.13

### Rehydration Capacity

Rehydration capacity is an important quality property of dehydrated products. It shows the retain capability of the original form of the dried products and directly effects the consumer demands for dried foods [35]. The rehydration rate of freeze-dried kiwi and cherry laurel fruits at room temperature and 40°C were calculated and demonstrated in Figures 1 and 2. The rehydration ratio increased within the beginning of experiment and then slowed down. A similar tendency can be found in

the study of Demiray and Tulek [36]. As shown in the Figures 1 and 2, the freeze-dried kiwi fruit exhibited higher rehydration ratio and faster water absorption property than cherry laurel fruit for both temperatures because of the porous structure and wider contact area of kiwi fruit. The constant values of rehydration ratio of fruits were similar at room temperature and 40°C, but the increase of it was more rapid at the high temperature. Freeze-dried samples show high rehydration capacities because freeze-drying cause large voids and porous structure [37].

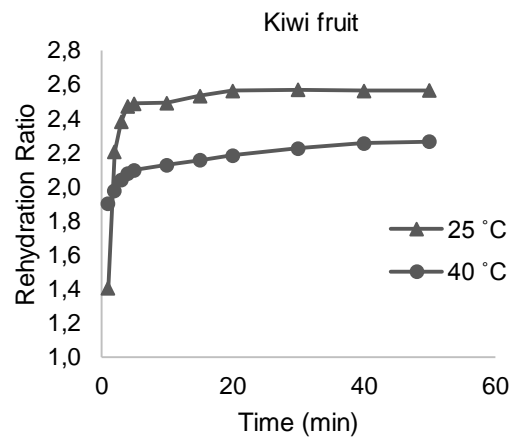


Figure 1. Rehydration rate of dried kiwi fruit at 25 and 40°C

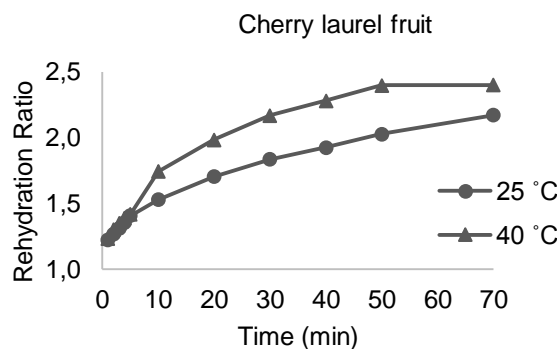


Figure 2. Rehydration rate of dried cherry laurel fruit at 25 and 40°C

## CONCLUSIONS

The results showed that freeze-drying method can be applied for high quality dried fruits and off-season products. Freeze-drying process reduces the postharvest losses and preserves the structure, color and flavor, so it can be satisfactorily applied to drying of cherry laurel, kiwi and other fruits. Besides, this process enhances the antioxidant properties of fruits, compared to fresh ones.

## REFERENCES

- [1] Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A., Prior, R.L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4638-4644.
- [2] Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70, R11-R19.
- [3] Harris, W.S. (1992). The prevention of atherosclerosis with antioxidants. *Clinical Cardiology*, 5, 636-640.
- [4] Bazzano, L.A., He, J., Ogden, L.G., Loria, C.M., Vupputuri, S., Myers, L., Whelton, P.K. (2002). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first national health and nutrition examination survey epidemiologic follow-up study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 93-99.
- [5] Hung, H.C., Josphipura, K.J., Jiang, R., Hu, F.B., Hunter, D., Smith-Warner, S.A., Colditz, G.A., Rosner, B., Spiegelman, D., Willett, W.C. (2004). Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96, 1577-1584.
- [6] Karadeniz, F., Burdurlu, H.S., Koca, N., Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29, 297-303.
- [7] Al-Fartosy, A.J. (2011). Antioxidant properties of methanolic extract from *Inula graveolens* L. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35, 591-596.
- [8] Meng, F., Zhong, G., Xu, X., Wu, Y. (2015). Functional ingredients analysis for the leaves of *Premna ligustroides* Hemsl. and the antioxidant activity evaluation for its ethanol extracts. *Food Science and Technology Research*, 21(6), 847-855.
- [9] Yin, L., Chen, T., Li, Y., Fu, S., Li, L., Xu, M., Niu, Y. (2016). A comparative study on total anthocyanin content, composition of anthocyanidin, total phenolic content and antioxidant activity of pigmented potato peel and flesh. *Food Science and Technology Research*, 22(2), 219-226.
- [10] Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- [11] Padayatty, S.J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S.K., Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 18-35.
- [12] Cassano, A., Figoli, A., Tagarelli, A., Sindona, G., Drioli, E. (2006). Integrated membrane process for the production of highly nutritional kiwifruit juice. *Desalination*, 189, 21-30.
- [13] Rush, E., Ferguson, L.R., Cumin, M., Thakur, V., Karunasinghe, N., Plank, L. (2006). Kiwifruit consumption reduces DNA fragility: a randomized controlled pilot study in volunteers. *Nutrition Research*, 26, 197-201.
- [14] Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., Guidi, L. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107, 282-288.
- [15] Celik, F., Ercisli, S., Yilmaz, S.O., Hegedus, A. (2011). Estimation of certain physical and chemical fruit characteristics of various cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) genotypes. *Hortscience*, 46, 924-927.
- [16] Kolayli, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F., Dinçer, B. (2003). Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7489-7494.
- [17] Lopez-Quiroga, E., Antelo, L.T., Alonso, A.A. (2012). Time-scale modeling and optimal control of freeze-drying. *Journal of Food Engineering*, 111, 655-666.
- [18] Babić, J., Cantalejo, M.J., Arroqui, C. (2009). The effects of freeze-drying process parameters on Broiler chicken breast meat. *LWT- Food Science and Technology*, 42, 1325-1334.
- [19] George, J.P., Datta, A.K. (2002). Development and validation of heat and mass transfer models for freeze-drying of vegetable slices. *Journal of Food Engineering*, 52, 89-93.
- [20] Kola, O. (2010). Physical and chemical characteristics of the ripe pepino (*Solanum muricatum*) fruit grown in Turkey. *Journal of Food, Agriculture, and Environment*, 8(2), 168-171.
- [21] Wojdyto, A., Oszmiański, J., Czemerzys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949.
- [22] Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.
- [23] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- [24] Chen, Q., Li, Z., Bi, J., Zhou, L., Yi, J., Wu, X. (2017). Effect of hybrid drying methods on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of dried black mulberry. *LWT- Food Science and Technology*, 80, 178-184.
- [25] Kvesitadze, G.I., Kalandiya, A.G., Papunidze, S.G., Vanidze, M.R. (2001). Identification and

- quantification of ascorbic acid in kiwi fruit by high-performance liquid chromatography. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37, 215-218.
- [26] Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1237-1241.
- [27] Gümüşay, O.A., Borazan, A.A., Ercal, N., Demirkol, O. (2015). Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger. *Food Chemistry*, 173, 156-162.
- [28] Chang, C.H., Lin, H.Y., Chang, C.Y., Liu, Y.C. (2006). Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 77, 478-485.
- [29] Gorinstein, S., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y.S., Vearasilp, S., Suhaj, M., Ham, K.S., Heo, B.G., Cho, J.Y., Jang, H.G. (2009). The comparative characteristics of snake and kiwi fruits. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1884-1891.
- [30] Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, S.K., Lim, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S., Yong, M.Y. (2009). Effects of different drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food Chemistry*, 113, 166-172.
- [31] Park, Y.S., Ham, K.S., Park, Y.K., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namieŝnik, J., Katrich, E., Gorinstein, S. (2016). The effects of treatment on quality parameters of smoothie-type 'Hayward'kiwi fruit beverages. *Food Control*, 70, 221-228.
- [32] Das, A., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2012). Effect of freeze drying and oven drying on antioxidant properties of fresh wheatgrass. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(6), 718-721.
- [33] Zhang, Z., Lv, G., Pan, H., Wu, Y., Fan, L. (2009). Effects of different drying methods and extraction condition on antioxidant properties of Shiitake (*Lentinus edodes*). *Food Science and Technology Research*, 15(5), 547-552.
- [34] Cui, Z.W., Li, C.Y., Song, C.F., Song, Y. (2008). Combined microwave-vacuum and freeze drying of carrot and apple chips. *Drying Technology*, 26, 1517-1523.
- [35] Kadam, D.M., Samuel, D.V.K., Chandra, P., Sikarwar, H.S. (2008). Impact of processing treatments and packaging material on some properties of stored dehydrated cauliflower. *International Journal of Food Science & Technology*, 43, 1-14.
- [36] Demiray, E., Tülek, Y. (2018). Rehydration kinetics of sun-dried eggplants (*Solanum melongena* L.) at different temperatures. *Akademik Gıda*, 16(3), 257-263.
- [37] Beaudry, C., Raghavan, G.S.V., Ratti, C., Rennie, T.J. (2004). Effect of four drying methods on the quality of osmotically dehydrated cranberries. *Drying Technology*, 22, 521-539.
-

## Physicochemical, Textural, Cooking and Sensory Properties of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber

Ferhat Yuksel<sup>1</sup> , Melek Gurbuz<sup>2</sup> <sup>1</sup>Gumushane University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Gümüşhane, Turkey<sup>2</sup>Erciyes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Kayseri, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 20.07.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 14.02.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [fyuksel@gumushane.edu.tr](mailto:fyuksel@gumushane.edu.tr) (F. Yuksel)

☎ +90 456 233 10 00/1862 📠 +90 456 233 75 67

### ABSTRACT

The aim of this study is to determine some physicochemical, textural, cooking and sensory characteristics of traditional Turkish homemade noodles enriched with apple fiber. Apple fiber was incorporated into the noodle dough formulation at three different concentrations (5, 10 and 20%). Dry matter contents of the samples were in the range of 91.80-92.93% and an increase in dry matter with the addition of apple fiber was determined. Protein contents of the samples were in the range of 8.817-9.909 % and decreased significantly ( $p<0.05$ ) with the addition of apple fiber. Firmness value was determined to be 33.81 kg in the noodle sample enriched with 20% apple fiber while the firmness value of un-enriched one was 23.09 kg. Color characteristics were significantly affected from the apple fiber concentration ( $p<0.05$ ). Generally, cooking properties of the samples increased significantly in the noodles with the enrichment of apple fiber ( $p<0.05$ ). No significant difference was determined for the overall acceptability of samples ( $p>0.05$ ). Results indicated that innovative noodles could be produced by using apple fiber.

**Keywords:** Turkish homemade noodle, Apple fiber, Texture, Sensory and cooking properties

### Elma Lifi ile Zenginleştirilmiş Geleneksel Türk Ev Yapımı Eriştelerin Fizikokimyasal, Tekstürel, Pişme ve Duyusal Özellikleri

#### ÖZ

Bu çalışmanın amacı, elma lifi ile zenginleştirilmiş geleneksel Türk ev tipi eriştenin bazı fizikokimyasal, tekstürel, pişme ve duyusal karakteristiklerini araştırmaktır. Elma lifi üç farklı konsantrasyonlarda (%5, 10 ve 20) erişte hamuruna ilave edilmiştir. Örneklerin kuru madde içerikleri %91.80-92.93 arasında olup, elma lifi ilavesinin örneklerin kuru madde içeriklerini artırdığı tespit edilmiştir. Örneklerin protein içeriği %8.817-9.909 aralığında değişmiş ve elma lifi ilavesiyle önemli bir azalma bulunmuştur ( $p<0.05$ ). % 20 elma lifi ile zenginleştirilmiş eriştenin sertlik değeri 33.81 kg iken kontrol (zenginleştirilmemiş) örneğinin sertlik değeri 23.09 kg olarak belirlenmiştir. Elma lifi ilavesi renk karakteristiklerini önemli oranda etkilemiştir ( $p<0.05$ ). Genellikle, eriştenin elma lifi ile zenginleştirilmesi örneklerin pişme özellikleri önemli oranda artmıştır ( $p<0.05$ ). Örneklerin genel kabul edilebilirlik parametrelerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ). Bu çalışmada elma lifi kullanılarak alternatif erişte üretilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Türk ev yapımı erişte, Elma lifi, Tekstür, Duyusal ve pişme özellikleri



## INTRODUCTION

Noodles are important food products in Turkey and Asia countries because they frequently and lovely consumed this product in the meals. Noodles are semi ready food, delicious and low cost products. In Turkey, the traditional homemade noodle products were produced with flour, salt, egg, other ingredients (whey protein, hydrocolloids, etc.) and water and then they were dried. Noodles include carbohydrates in high quantities and so these products provide high energy for the body. So this product may be prepared with different fiber, flour (for example: oat flour, barley flour etc.), hydrocolloids and gums etc. Thus, the enriched noodles products will provide better digestion than noodles product having no fiber for the human body [1–7].

In recent years, food industry is trying to produce a new product to enrich with dietary fiber because of their some positive health effect. The new products provide positive health effect on human body on the diseases, for example; cardiovascular, some forms of diabetes, obesities, diverticular and coronary heart diseases and suboptimal health [7–10]. There are two types of dietary fiber that name is soluble and insoluble dietary fibers. The two types of dietary fibers are very important for both physiological and functional characteristics. Generally, fibers that suitable ratio for use as a food ingredient are 1:2 soluble dietary fiber/insoluble dietary fibers and they are obtained from fruits and vegetables because there are high amount of fibers in those biomaterials [10–13].

There is high amount of fiber and bioactive compounds in apple and so apple may be used as a source of dietary fibers and bioactive compounds [8, 10, 14]. The apple fiber has 40% cellulose, 19% water-soluble hemicellulose, 15% lignin, 9% water-insoluble pectin and 4% water-insoluble hemicellulose. In this regard, apple may be used for a good source of dietary fibers and then those can be used in food industry in order to take advantages of dietary and functional properties of fiber [15–18]. The objectives of this research were to produce a new functional Turkish homemade noodle product produced using wheat flour and apple fiber (0-5-10-20%) and investigate some physicochemical, textural, cooking and sensory properties of final noodles.

## MATERIAL AND METHODS

### Materials

Wheat flour (moisture 13.7%, protein 11.4%, 0.55% ash in dry matter, 35% gluten) was provided by a seller in Degirmencilik Flour Co. Kayseri (Turkey). Apple fiber (10% moisture, 60% total dietary fiber (20% soluble fiber), 5% glucose, 6% sucrose, 12% fructose, water holding capacity 4 mL/g, 66.62 L\*, 13.27 a\* and 27.11 b\*) was obtained by Herbafoods Ingredients GmbH

(Werder (Havel) Germany). Salt (Kristal, Izmir, Turkey) is purchased from a local market.

### Methods

#### Preparation of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber

Figure 1 illustrates the process flow chart of traditional Turkish homemade noodle. At first, wheat flour and apple fiber at different proportions were mixed (100:0, 95:5, 90:10, 80:20 w/w) and then salt was added to the mixture (2 g). After homogenization of dry mixture using a dough mixer (Kitchen Aid Professional 600, MI, USA) for 4 min and 30-40 mL water was incorporated into the mix and it was kneaded for 20 min. Thereafter, the spreading of dough was adjusted to 1 mm using a dough roller. At the end of the spreading, the dough was matured for 30 min at room conditions. Afterwards, the 1 mm dough was shaped using a household type noodle machine (Ampia 150, Marcato, Italy). Finally, traditional Turkish homemade noodle enriched with apple fiber was matured for 5 days at room conditions.

#### Proximate Composition of Traditional Turkish Homemade Noodle Enriched with Apple Fiber

Dry matter content, water activity, protein and ash contents of the samples were carried out according to procedures outlined by the method of AOAC (2000) [19]. Dry matter content of the samples was measured by drying of samples at 105°C for 4 hours in a drying oven (Nüve FN 120, Ankara, Turkey). Ash content was determined by incineration of the samples at 550°C for 2 hours. Color of noodle samples were determined using a colorimeter (Lovibond RT Series Reflectance Tintometer, England) and were recorded using L\*, a\* and b\*. For the protein analysis, Dumas methodology was used for the determination of nitrogen content of the samples. An automatic water activity meter was used for the measurement of the water activity content of the samples at 20°C.

#### Textural Analysis

Textural properties of noodle samples were determined using Texture Analyzer (TA.XT Plus, Stable Micro System Ltd., Surrey, England) equipped with a Kramer shear cell attachment (HDP/KS-5) using a 30 kg of load cell for the analysis. Four pieces of noodles (each approximately 1 g) were inserted in the Kramer shear cell and samples were located as vertical to Kramer shear blades. The blades on the samples travelled at 5 cm/min. The fracture force (kg) which is the maximum force required to break the sample was determined from the time-deformation curve.

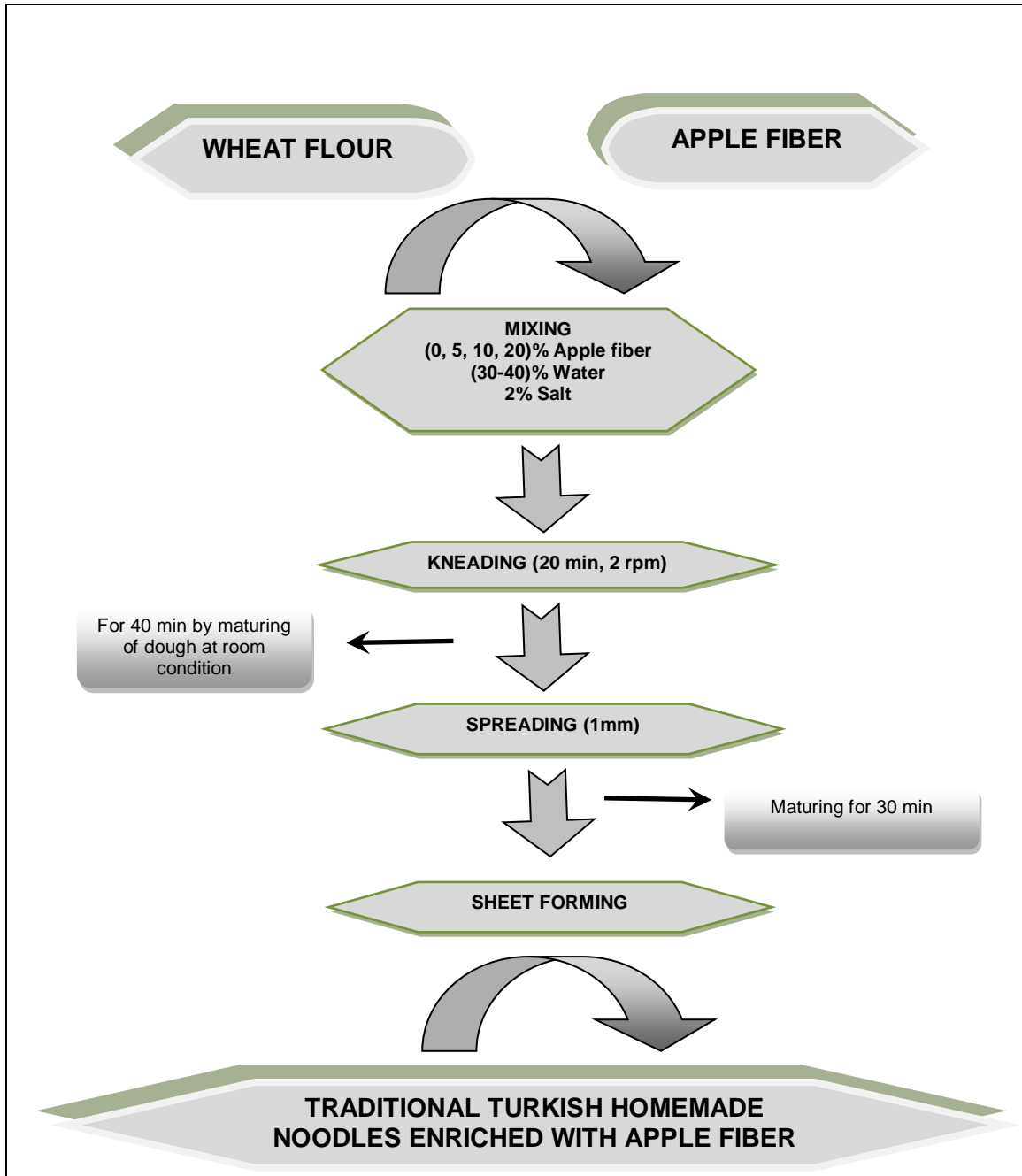


Figure 1. Process flow chart for the production of traditional Turkish homemade noodle enriched with apple fiber

### Cooking Properties of Traditional Turkish Homemade Noodle Enrichment with Apple Fiber

Cooking properties analysis of noodles was carried out according to procedures outlined by Kawaljit Singh Sandhu et al. [20] with some modifications. Noodles (10g) were cooked in 200 mL of boiling water for 5 min.

The boiling water was filtered and the samples were relaxed for 5 min. Water holding capacity was calculated as follows (Eq.1):

Water holding capacity=  $\frac{\text{The weight of noodles after cooking} - \text{The weight of noodles before cooking} \times 100}{\text{The weight of cooking noodles}}$

$$\text{Water holding capacity} = \frac{\text{The weight of noodles after cooking} - \text{The weight of noodles before cooking} \times 100}{\text{The weight of cooking noodles}} \quad (\text{Eq.1})$$

The supernatant after boiling of water was collected in 200 mL cup and 10 mL the supernatant was dried at

105°C. Cooking loss was calculated as follows (Eq.2). Brix degree after boiling water was measured with an

automatic refractometer (Reichart AR 700) [19].

$$\text{Cooking loss} = \frac{\text{The weight of dry matter}}{\text{The weight of noodles before cooking} \times [1 - \text{The moisture content of noodles before cooking}]} \quad (\text{Eq.2})$$

### Sensory Analysis

The panelist groups (ten members) were selected from faculty and graduate students in the Department of Food Engineering at Erciyes University and then the noodles were served to trained panel groups. Panelists were placed randomly at room temperatures and water was serviced to clean their palates former to proceeding to the next sample. The noodles were evaluated using a scaling method of descriptive attributes for color (1=very brown, 9= desired yellowness), odour (1=undesired, 9=desired), taste (1=undesired texture, 9=desired texture), firmness (1=dislike, 9=like), cohesiveness (1=dislike, 9=like) and overall acceptability (1=dislike, 9=like).

### Statistical Analysis

Data were expressed using the general linear model procedure with SAS version 8.2 software packages (SAS 2002, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Means were divided by ANOVA analysis and statistical significance was denoted at the 0.05 p value.

## RESULTS and DISCUSSION

### Proximate Composition and Textural Analysis

Some physicochemical analysis results of uncooked noodles enriched with apple fiber were indicated in Table 1. The dry matter content of samples increased significantly with increasing of apple fiber concentration (p<0.05). The highest dry matter content was determined in the samples containing 20% apple fiber and the lowest value was in the sample added with 5% apple fiber concentration (92.933-91.773%). Choo and Aziz [2] have reported a significant increase in the content of dry matter content of the sample. Toyokawa et al. [21] found dry matter values of noodles prepared with four different flours. The contents of dry matter

were determined to be as 86.5, 87.6, 87.7 and 88.6%, respectively. These results were similar to our results. Ash content of noodle enriched with apple fiber increased significantly (p<0.05, Table 1). This increase was expected because apple fibers contain enormously dietary fiber. Lee et al. [22] have reported a significant increase in the protein and ash content. Table 1 shows the water activity of uncooked homemade noodles enriched with apple fiber. Water activity levels of the samples decreased significantly (p<0.05, Table 1). Dry matter and water activity levels of samples increased and decreased, respectively because apple fiber amount increased in the samples and apple fiber provided soluble and insoluble fiber to noodles. Consequently, these fibers provided to retire of water from the samples with cooking and drying. Man Li et al. [23] have reported a significant decrease in the water activity in the fresh noodles. Protein content of uncooked samples were determined to be significant (p<0.05). Protein value of control noodle samples was measured to be 9.909%. Otherwise, when the apple fiber concentration increased from 5, 10 and 20%, the protein content of samples decreased to 9.667-9.271-8.817% respectively. Collins and Pangloli [24] found that the addition of sweet potato and soy flour into the noodle formulation decreased and increased protein values of final product, respectively. No significant difference was determined for the firmness content of the samples containing apple fiber (p> 0.05) while there was significant difference between control sample and others (p<0.05, Table 1). According to control uncooked noodle samples firmness values increased from %0 apple fiber concentrations (23.089 kg) to 10% apple fiber concentration (33.943 kg) significantly. Following % 20 apple fiber concentration (33.815 kg) firmness values decreased. The firmness content of uncooked noodles increased from control to the 10% apple fiber concentration and so it could be speculated that the elasticity of samples were increased due to the moisture content of uncooked noodles.

Table 1. Mean values for the physicochemical and textural of uncooked noodles enriched with apple fiber\*

Apple Fiber Concentration (%)	Dry Matter (%)	Ash (%)	Water Activity (aw)	Protein (%)	Firmness (kg)
0	91.803 <sup>c</sup>	2.277 <sup>b</sup>	0.335 <sup>a</sup>	9.909 <sup>a</sup>	23.089 <sup>b</sup>
5	91.773 <sup>c</sup>	2.326 <sup>b</sup>	0.321 <sup>b</sup>	9.667 <sup>b</sup>	28.532 <sup>ab</sup>
10	92.100 <sup>b</sup>	2.462 <sup>ab</sup>	0.315 <sup>c</sup>	9.271 <sup>c</sup>	33.943 <sup>a</sup>
20	92.933 <sup>a</sup>	2.611 <sup>a</sup>	0.312 <sup>c</sup>	8.817 <sup>d</sup>	33.815 <sup>a</sup>

\*: Different superscript letters in the same column are statistically different (p<0.05)

Man Li et al. [23] found that addition of purple yum flour to noodles increased the firmness values of samples. Similar results were observed by Song [25] who reported a noodle prepared by using different

concentrations of wheat bran. The firmness values of noodles enriched with different wheat bran levels increased significantly (p<0.05).

## Cooking Properties

Cooking performance of noodles is very important for deciding the product quality characteristics [26]. The results of cooking of traditional Turkish homemade noodles enriched with apple fiber are presented in Table 3. Water holding capacities levels of samples increased significantly with the increasing of apple fiber concentration ( $p < 0.05$ ). Water holding capacity values of control noodle samples were measured as 50.487%. Otherwise, when the apple fiber concentrations increased from 5, 10 and to 20%, water holding capacities of the samples increased to 56.077-58.727-60.457% respectively. The water holding capacities slightly increased from beginning to the 20% apple fiber concentration and so it could be speculated that the water holding capacities of the noodles were increased due to the water holding capacities (4 mL/g) of apple fiber. Also, there is a nonlinear interaction between water holding capacities and gluten and so it could be speculated that the baking performance of the noodles were decreased with addition of apple fiber concentration [27]. Xiaoyan et al. [28] determined similar results in the noodles enriched with oat cereal hydrocolloid. Cooking yield levels of the samples increased with the increment of oat cereal hydrocolloid.

Man Li et al. [1] found that the addition of green tea to noodles increased the water holding capacity values of final products. The cooking loss parameters increased significantly with the increase of apple fiber from 0 to 20% in the formulation ( $p < 0.05$ ). On the other hand, statistical analysis revealed that there was no significant difference in terms of cooking loss parameters for samples containing 0-5% and 10-20 % apple fiber. The cooking losses values of the samples were determined in the range of 0.320-0.626. Similar results were observed by George et al. [29] who reported a noodle prepared by using oat cereal hydrocolloid. The cooking loss values of noodles enriched with different wheat bran increased significantly. Chung et al. [30] obtained that utilization effect of heat-moisture treatment for utilization of germinated brown rice in wheat noodle increased cooking loss values Brix degree level of water immediately after boiling increased significantly with the increase of apple fiber concentration ( $p < 0.05$ , Table 1). This increase was caused by apple fiber in the samples. There are high water holding capacities in apple fiber and so the capacity was associated with dietary fiber in apple fiber. The highest Brix degree content was determined in the samples containing 20% apple fiber and the lowest one was in 0% apple fiber concentration (1.347-0.657 Brix, respectively).

Table 2. Mean values for the cooking properties of noodles enriched with apple fiber\*

Apple Fiber Concentration (%)	Water Holding Capacity (%)	Cooking Loss (%)	Brix Degree (Bx) (Boiling Water)
0	50.487 <sup>b</sup>	0.320 <sup>b</sup>	0.657 <sup>d</sup>
5	56.077 <sup>ab</sup>	0.376 <sup>b</sup>	0.795 <sup>c</sup>
10	58.727 <sup>a</sup>	0.626 <sup>a</sup>	0.900 <sup>b</sup>
20	60.457 <sup>a</sup>	0.586 <sup>a</sup>	1.347 <sup>a</sup>

\*: Different superscript letters in the same column are statistically different ( $p < 0.05$ )

## Color Values

Color is one of the most important quality factor which is an indicative of noodle commercialize [30, 31]. The lightness ( $L^*$ ), redness ( $a^*$ ), and yellowness ( $b^*$ ) values of uncooked traditional Turkish homemade noodle enriched with apple fiber were shown in Table 2. Compared with the control noodle, apple fiber addition significantly decreased the lightness and increased the redness and yellowness of noodle ( $p < 0.05$ , Table 2). Maximum and minimum values of lightness, redness and yellowness were recorded as 84.130 and 73.571-1.343 and 5.233- 14.230 and 18.921, respectively. Similar results were observed by Man Li et al. [1] who reported a noodle prepared by using superfine green

tea. The lightness values of samples according to control of samples decreased significantly. Kayacier et al. [11] found that addition of apple fiber to wheat chip decreased the lightness values of final products. Staffolo et al. [31] investigated the effect of apple fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt and reported that the increase of apple fiber in the yogurt formulation decreased the content of lightness while increase of brownish color. The browning color properties of sample increased from beginning to the 20% apple fiber concentration and so it could be speculated that the noodles were affected due to the redness (13.27) and yellowness (27.11) content of apple fiber.

Table 3. Mean values for the color of uncooked noodles enriched with apple fiber\*

Apple Fiber Concentration (%)	$L^*$	$a^*$	$b^*$
0	84.130 <sup>a</sup>	1.343 <sup>d</sup>	14.230 <sup>d</sup>
5	77.073 <sup>b</sup>	3.536 <sup>c</sup>	15.543 <sup>c</sup>
10	74.608 <sup>c</sup>	4.501 <sup>b</sup>	17.110 <sup>b</sup>
20	73.571 <sup>d</sup>	5.233 <sup>a</sup>	18.921 <sup>a</sup>

\*: Different superscript letters in the same column are statistically different ( $p < 0.05$ )

## Sensory Evaluation

Sensory score values of samples of the cooked were recorded the quality properties like color, odour, taste,

firmness, cohesiveness and overall acceptability and they were tabulated in Table 4. Small, taste, firmness, cohesiveness and overall acceptability were not significant, while there are significant differences ( $p < 0.05$ , Table 4) between the control noodle and enriched noodles in terms of color scores. According to sensory analysis of noodle samples, color values were recorded as 6.85 for control and it was 5.00 in the noodle containing 20% apple fiber. This decrease was evaluated with the high dietary fiber content of apple fiber included and color properties of apple fiber having high level redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ). Therefore, increasing the apple fiber level in the noodle formulation caused lower color scores for the final products. Otherwise, the panelists evaluated all of the samples as

a similarly in terms of overall acceptability. Apple fiber was not effective for the sensory profile of samples because there are not any difference between samples as a statistically. Similar results were observed by Li et al. [32] who reported a noodle prepared by using superfine green tea. The overall acceptability values of samples were not different significantly compared to control of samples. Po-Hsien Li et al. [25] reported that the scores of noodles enriched with purple yam flour showed no significantly different cohesiveness values. George et al. [29] found no difference in terms of color, odour, flavor, texture and acceptance in noodles enriched with oat cereal hydrocolloid as similar to our findings

Table 4. Mean values for the sensory of cooked noodles enriched with apple fiber\*

Apple Fiber Concentration (%)	Color	Odor	Taste	Firmness	Cohesiveness	Overall Acceptability
0	6.85 <sup>a</sup>	6.71 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	7.00 <sup>a</sup>	6.00 <sup>a</sup>	6.71 <sup>a</sup>
5	6.28 <sup>ab</sup>	6.57 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	7.14 <sup>a</sup>	6.14 <sup>a</sup>	6.71 <sup>a</sup>
10	5.71 <sup>ab</sup>	5.85 <sup>a</sup>	5.57 <sup>a</sup>	6.28 <sup>a</sup>	5.00 <sup>a</sup>	5.28 <sup>a</sup>
20	5.00 <sup>b</sup>	5.50 <sup>a</sup>	5.42 <sup>a</sup>	6.14 <sup>a</sup>	4.85 <sup>a</sup>	5.14 <sup>a</sup>

\*: Different superscript letters in the same column are statistically different ( $p < 0.05$ )

## CONCLUSION

Our result showed that the apple fiber incorporation to wheat flour can be used for the production of traditional Turkish homemade noodles. The increment in apple fiber level of the samples increased the dry matter, firmness, water holding capacity, cooking loss, brix degree and ash content levels of final products significantly ( $p < 0.05$ ). Lightness ( $L^*$ ) score decreased while redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) values increased in the samples enriched with apple fiber concentration. It was determined that the scores for the parameters did not change significantly and panelists evaluated all the samples as similar in terms of odour, taste, firmness, cohesiveness and overall acceptance parameters. The results showed that the traditional Turkish homemade noodles enriched with apple fiber could be acceptable until the apple fiber concentration reached to 20% in the formulation.

## REFERENCES

- [1] Man, L., Jia-Hui, Z., Ke-Xue, Z., Wei, P., Shi-Kang, Z., Bin, W., Yue-Jin, Z., Hui-Ming, Z. (2012). Effect of superfine green tea powder on the thermodynamic, rheological and fresh noodle making properties of wheat flour. *Food Science Technology*, 46, 23-28.
- [2] Choo, CL., Noor, A.A.A. (2010). Effects of banana flour and  $\beta$ -glucan on the nutritional and sensory evaluation of noodles. *Food Chemistry*, 119, 34-40.
- [3] Izydorczyk, M.S., Lagasse, S.L., Hatcher, D.W., Dexter, J.E., Rosnagel, B.G. (2005). The enrichment of Asian noodles with fiber-rich fractions derived from roller milling of hull-less barley. *Journal of Science Food Agriculture*, 85, 2094-2104.
- [4] Bin, X.F. (2008). Asian noodles: History, classification, raw materials, and processing. *Food Research International*, 41, 888-902.
- [5] Eyidemir, E., Hayta, M. (2009). The effect of apricot kernel flour incorporation on the physicochemical and sensory properties of noodle. *African Journal of Biotechnology*, 8, 85-90.
- [6] Mete, M., Altiner, D.D. (2018). Erištenin farklı un katkıları ile zenginleştirilmesi. *Akademik Gıda*, 16(2), 252-256.
- [7] Yuksel, F., Akdoğan, H.B., Çağlar, S. (2018). Keten tohumu ile zenginleştirilmiş eriştelerin fizikokimyasal, duyuşal, pişme özellikleri ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi. *Gıda*, 43, 222-230.
- [8] Anderson, J.W., Smith, B.M., Guftanson, N.S. (1994). Health benefit and practical aspects of high fiber diets. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59, 1242-1247.
- [9] Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Foltá, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zember, M., Weisz, M., Trakhtenberg, S., Martin-Belleso, O. (2001). Comparative content of dietary fiber, total phenolics and minerals in persimmons and apples. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 49, 952-957.
- [10] Villanueva-Suarez, M.J., Redondo-Cuenca, A., Rodríguez-Sevilla, MD., De Las, H.M. (2003). Characterization of non-starch polysaccharides content from different edible organs of some vegetables, determined by GC and HPLC: Comparative study. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51, 5950-5955.
- [11] Kayacier, A., Yuksel, F., Karaman, S. (2014). Response surface methodology study for optimization of effects of fiber level, frying temperature, and frying time on some physicochemical, textural, and sensory properties of wheat chips enriched with apple fiber. *Food Bioprocess Technology*, 7, 133-147.

- [12] Jaime, L., Mollá, E., Fernández, A., Martín-Cabrejas, M., López andreu, F., Esteban, R. (2002). Structural carbohydrates differences and potential sources of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 50, 122-128.
- [13] Schneeman, B.O. (1987). Soluble vs insoluble fiber- different physiological responses. *Food Technology*, 47, 81-82.
- [14] Herbafood. Herbacel AQ plus, apple fiber. [www.herbafood.de/eaqplus.pdf](http://www.herbafood.de/eaqplus.pdf). Date November; 2002
- [15] Fernández-Ginés JM., Fernández Lopéz, J., Sayas-Barberá, E., Pérez-alvarez, JA. (2003). Effect of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, 68, 710-715.
- [16] Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estevez, A.M., Chiffelle, I., Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91, 395-401.
- [17] Carson, K.J., Collins, J.L., Penfield, M.P. (1984). Unrefined, dried, apple pomace as a potential food ingredient. *Journal of Food Science*, 59, 1213-1215.
- [18] Chen, H., Rubenthaler, L., Leung, K., Baranowski, J.D. (1988). Chemical, physical, and baking properties of apple fiber compared with wheat and oat bran. *Cereal Chemistry*, 65(3), 244-247.
- [19] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis, 17th Ed., Association of official analytical chemists, Inc., Arlington, VA.
- [20] Kawaljit, S.S., Maninder, K., Mukesh. (2010). Studies on noodle quality of potato and rice starches and their blends in relation to their physicochemical, pasting and gel textural properties. *LWT - Food Science Technology*, 43, 1289-1293.
- [21] Toyokawa, H., Rubenthaler, G.L., Powers, J.R., Schanus, E.G. (1989). Japanese noodle qualities. i. flour components. *Cereal Chemistry*, 66, 382-386.
- [22] Ling, L., Byung-Kee, B., Zuzanna, C. (2008). Garbanzo bean flour usage in Cantonese noodles. *Journal of Food Science*, 63, 552-558.
- [23] Man, L., Kexue, Z., Xu, G., Wei, P., Huiming, Z. (2011). Effect of water activity (aw) and irradiation on the shelf-life of fresh noodles. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 12, 526-530.
- [24] Collins, J.L., Pangloli, P. (2006). Chemical, Physical and sensory attributes of noodles with added sweet potato and soy flour. *Journal of Food Science*, 62, 622-625.
- [25] Po-Hsien, L., Chien-Chun, H., Ming-Yu, Y., Chiun, C.R.W. (2012). Textural and sensory properties of salted noodles containing purple yam flour. *Food Research International*, 47, 223-228.
- [26] Kumar, B.S., Prabhasankar, P. (2017). Modified Low Glycemic Index Ingredients in Noodle Processing: Rheology and Microstructural Characteristics. *Akademik Gıda*, 15(3), 211-221.
- [27] Mckee, L.H., Lanter, T.A. (2000). Underutilized sources of dietary fiber: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 55, 285-304.
- [28] Xioayan, S., Wei, Z., Yaqiong, P., Zhilu, A., Junying, C. (2013). Effects of wheat bran with different colors on the qualities of dry noodles. *Journal of Cereal Science*, 58, 400-407.
- [29] George, E., Inglett, Steven, C., Peterson, Craig, J. (2005). Carriere, and Saipin Maneepun. Rheological, textural, and sensory properties of Asian noodles containing an oat cereal hydrocolloid. *Food Chemistry*, 90, 1-8.
- [30] Hyun-Jung, C., Ahra, C., Seung-Taik, L. (2012). Effect of heat-moisture treatment for utilization of germinated brown rice in wheat noodle. *LWT - Food Science Technology*, 47, 342-347.
- [31] Staffolo, M.D., Bertola, N., Martino, M., Bevilacqua, A. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, 14, 263-268.
- [32] Man, L., Li-Jun, L., Ke-Xue, Z., Xiao-Na, G., Wei, P., Hui-Ming, Z. (2012b). Effect of vacuum mixing on the quality characteristics of fresh noodles. *Journal of Food Engineering*, 110, 525-531.

## Effect of Microwave Heating on Quality Parameters of Hazelnut, Canola and Corn Oils

Nazan Arifoğlu<sup>1</sup>, Mustafa Ögütçü<sup>2</sup><sup>1</sup> Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale College of Applied Sciences, Department of Food Technology, Çanakkale, Turkey<sup>2</sup> Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Çanakkale, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 14.11.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 12.03.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): arifoglunazan@gmail.com (N. Arifoğlu)

☎ +90 286 218 00 18 / 2979 📠 +90 286 218 25 05

### ABSTRACT

This study was conducted to determine the effect of microwave heating on the turbidity, free fatty acids (FFA), peroxide values (PV), conjugated dienes ( $K_{232}$ ) and trienes ( $K_{270}$ ) and oxidative induction times (OIT) of hazelnut, canola and corn oils. The OIT values were determined via differential scanning calorimeter (DSC). Microwave heating was applied to oil samples for 3, 5, 10, 15, 20 and 30 min. Untreated oil samples were also analysed. The FFA, PV,  $K_{232}$ , and  $K_{270}$  values of all oil samples increased with an increase in microwave heating time while a decrease in the OIT values was detected. Physico-chemical parameters as well as thermal measurements were effective in detecting the oxidative changes occurring in oils during microwave heating. No changes in oil turbidity during microwave heating were determined. Results indicated that oxidation changes occurred in all oil samples. Although there was an increase in the PV and FFA values of the oils, these values still remained within the legal limits required for oils.

**Keywords:** Microwave heating, Hazelnut oil, Canola oil, Corn oil, Oxidation

### Mikrodalga Isıtmanın Fındık, Kanola ve Mısır Yağı Kalite Parametreleri Üzerindeki Etkisi

#### ÖZ

Bu çalışma, mikrodalga ısıtmanın fındık, kanola ve mısır yağlarının türbidite, serbest yağ asitliği (FFA), peroksit değeri (PV), konjüge dienler ( $K_{232}$ ) ve trienler ( $K_{270}$ ) ve oksidatif indüksiyon süresine (OIT) olan etkisini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. OIT değerleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile belirlenmiştir. Mikrodalga ısıtma her bir yağa, 3, 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika süreyle uygulanmıştır. Herhangi bir mikrodalga ısıtmaya maruz kalmayan yağ örnekleri de analiz edilmiştir. Tüm yağ örneklerinin FFA, PV,  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  değerleri mikrodalga ısıtma süresine bağlı olarak artış göstermiş, buna karşın, OIT değerlerinde düşüş saptanmıştır. Fiziko-kimyasal parametreler kadar DSC sonuçlarının da, yağlarda mikrodalga ısıtmaya bağlı olarak gerçekleşen oksidatif değişimlerin belirlenmesinde etkili olduğu bulunmuştur. Mikrodalga ısıtmanın yağların türbidite değerlerini etkilemediği saptanmıştır. Sonuçlar, mikrodalga ısıtmanın araştırılan yağlarda oksidatif değişikliğe sebep olduğunu göstermiştir. PV ve FFA değerlerinde artış gözlenmesine rağmen, bu değerler yasal limitler dahilinde tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mikrodalga ısıtma, Fındık yağı, Kanola yağı, Mısır yağı, Oksidasyon

## INTRODUCTION

During the last decades, applications of microwave heating have been continually of interest both at households as well as in food industry for cooking, thawing, dehydration, baking, blanching, pasteurization, sterilization, roasting, frying, etc. [1-7]. When compared with conventional cooking, microwave heating has several indispensable advantages such ease of application, energy and time saving capacity, thus leading to reduction of production costs [6, 8, 9]. Therefore, it is expected that microwave heating usage will continue to widen its applications. On the other hand, the way of microwave heating rises the concerns towards any deteriorations of food products subjected to this application.

In literature, there are a number of studies dealing with the effects of microwave applications on the quality of food products and oil oxidation is the main point of investigation, since oxidation is one of the major problems for edible oils and oil containing food products [4, 6, 8, 10]. Oil oxidation process consists of series of chain reactions defined as initiation, propagation and termination. The oil oxidation process is commonly affected by temperature, presence of oxygen, free fatty acids, metal ions, antioxidants and degree of unsaturation. Primary and secondary products occur during oxidation. The primary oxidation products are named as hydroperoxides and give information about oil oxidation. The secondary oxidation products such as carbonyl compounds, unsaturated aldehydes, non-volatile aldehydes and alcohols are responsible for the rancid odour and flavours. Oxidation may lead to deterioration of oils and oil-containing foods leading to losses in quality and nutritional value [4, 6, 8, 10, 11].

Albi et al. [1] investigated microwave and conventional heating effects on the physical and chemical parameters of oils and fats. Viera and Regitano-d'Arce [10] reported thermal oxidation of canola oil during microwave heating. Yoshida et al. [2] studied the effects of microwave treatment on oxidative stability of peanut oil. Hassanein et al. [3] showed that changes in oil composition of sunflower, soybean and peanut oils during microwave heating occurred. Dostalova et al. [12] monitored the oxidative changes of sunflower, rapeseed, peanut oils and lard during microwave cooking. Chiavaro et al. [13] examined the chemical and thermal parameters of different vegetable oils subjected to microwave heating. Similarly, the changes in the physico-chemical and thermal behaviour of fat blended with hydrogenated palm kernel oil and butter was investigated [14]. Furthermore, the oxidative changes of different vegetable oils due to microwave applications were recorded both by physico-chemical and thermal analyses [6].

The goal of this study was to determine the effects of microwave treatment on the oxidative stability of three

vegetable oils with different fatty acid compositions: canola, corn and hazelnut oils.

## MATERIALS and METHODS

### Materials

Canola, corn and hazelnut oils, produced in 2015 season, were purchased from a local market. All of the chemicals used for the analyses were of analytical grade and purchased from Sigma-Aldrich or Merck.

### Microwave Heating Treatment

Oil samples (100 g) were filled into beaker-glasses and then heated for 0, 3, 5, 10, 15, 20 and 30 min in microwave oven (Cendix, 2450 MHz, 1200 W). The microwave treatment was done in duplicates. After microwave treatment, oil samples were poured into amber-glass bottles and the bottles were closed under N<sub>2</sub> gas flow. The treated samples were stored in deep-freezer until analysis.

### Physico-Chemical Measurements

The free fatty acids content (FFA), peroxide value (PV), iodine (IV), K<sub>232</sub> and K<sub>270</sub> values and refractive indices (RI) of the samples were measured according to AOCS Official methods (Ca 5a-40), (Cd 8-53), (Da 15-48), (Ch 5-91) and (Cc 7-25), respectively [15]. The turbidity values of the oil samples were determined by using Micro T100 Lab Turbidimeter (HF Scientific Inc., USA) according to the instructions of the instrument.

### Thermal Measurements

Oxidative induction time (OIT) values of the oil samples were determined with differential scanning calorimeter (DSC- 4000, Perkin Elmer). Approximately, 10-12 mg oil samples were weighed into aluminium pans. The pans were heated from 30°C to 150°C under N<sub>2</sub> gas flow rate 20 mL/min and after that the samples were held at that temperature for 1 min under N<sub>2</sub> gas flow rate 50 mL/min. Then, the gas was switched to O<sub>2</sub> flow rate 50 mL/min at isothermal conditions for determination of the OIT values of the samples [16]. Oxidative induction time was calculated from the thermograms by using DSC software. A sample of OIT thermogram is given in Figure 1.

### Statistical Analysis

The microwave heating treatment was done twice and all analyses were done in triplicate. The results were presented as means with standard deviation values. Comparison of the results was accomplished by applying the analysis of variance (ANOVA) test, with Tukey's test. Statistical analyses were carried out with Minitab v.16.1.1 software [17].



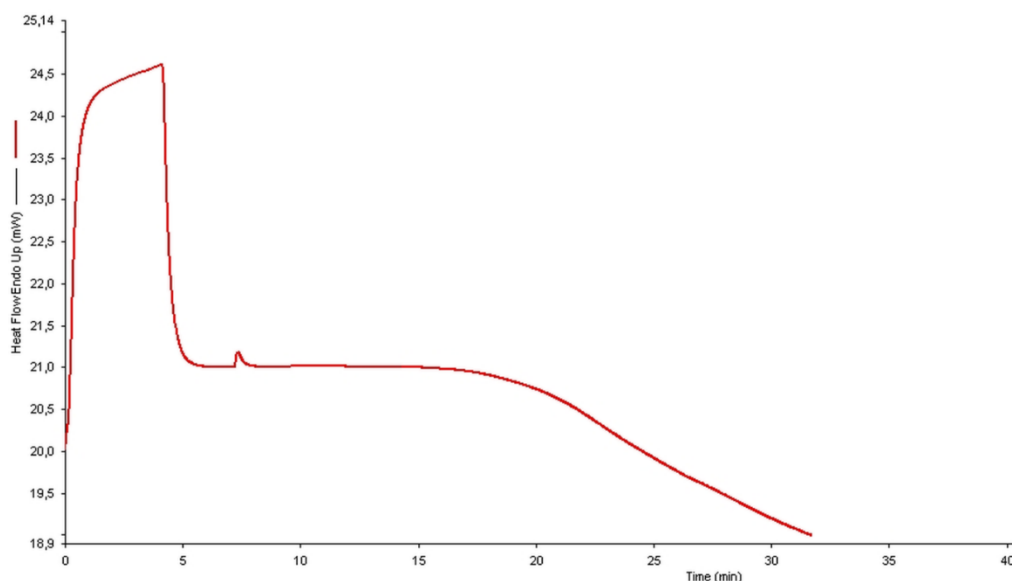


Figure 1. Sample OIT thermogram

## RESULTS and DISCUSSION

The physico-chemical properties of untreated oil samples are presented in Table 1. All samples exhibited similar refractive index and turbidity values ( $p > 0.05$ ). On

the other hand there were statistically significant differences for the iodine values, free fatty acids content, peroxide values,  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values and oxidative induction time values of the investigated oil samples ( $p < 0.05$ ).

Table 1. Physico-chemical features of untreated oil samples

Oils	RI	Turbidity (NTU)	IV	FFA (%)	PV (meqgO <sub>2</sub> /kg)	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	OIT (min)
Canola	1.4700±0.01	0.19±0.03	115.94±0.02b*	0.34±0.01a	3.27±0.16a	7.39±0.04b	0.85±0.22b	18.45±0.26a
Corn	1.4710±0.01	0.14±0.05	131.97±1.45a	0.22±0.01b	3.06±0.18b	11.01±0.01a	3.92±0.02a	13.22±0.01b
Hazelnut	1.4673±0.01	0.20±0.05	92.97±2.26c	0.22±0.01b	0.05±0.01c	4.88±0.04c	0.47±0.04c	11.94±0.01c

RI; Refractive index, IV; Iodine value, FFA; Free fatty acid, PV; Peroxide value, OIT; Oxidative induction time. \*Different small letters show differences among the oil samples in the same column

The effect of microwave heating on the turbidity values of the oils is given in Figure 2. After 15 minutes of exposure to microwave heating corn oil exhibited an increase in the turbidity level, then its turbidity decreased (Fig. 2). Although there was an increase in the turbidity level of canola oil, visibly there were no sharp changes in the appearance of all oil samples, revealing that there was no obvious effect of microwave heating on oil turbidity.

The free fatty acid (FFA) content is related with the formation of off-flavours in oils and fats, since it represents the level of hydrolysis in vegetable oils. Thus, when the FFA increases, the level of hydrolysis due to deterioration also increases [18]. The change of FFA during microwave heating of the oil samples is given in Figure 3. Overall, the FFA contents of all investigated samples increased after 30 min microwave heating (Fig. 3). Similar increase in the FFA content of canola oil was reported by Vieira and Regitano-d'Arce [10] after 36 min microwave heating. Significant increase in FFA of safflower oil and rapeseed oil after 5 min exposure to microwave heating was indicated by Pop [19]. On the other hand, Dostalova et al. [12] stated that the increase in FFA was negligible for sunflower, rapeseed, peanut oils and lard after 40 min microwave

heating. On the contrary, Hassanein et al. [3] reported gradual significant increase in FFA of sunflower, soybean and peanut oils during 18 min microwave heating and concluded that this increase was mainly because of the splitting of ester linkages of triglycerides due to heating.

The peroxide value (PV) of oils shows the amount of peroxides produced as a result of oil oxidation and is regarded as a useful parameter for measuring the level of primary oxidation [18, 19]. Thus, the PVs of the hazelnut, canola and corn oils subjected to microwave heating were measured in this study. As can be seen from Figure 4, for all samples there was an increase in the PVs at the end of 30 minutes of exposure to microwave heating, although there were also drops at different times for the different oil samples. Hassanein et al. [3] reported that there was gradual increase in PVs of sunflower, soybean and peanut oils during 18 min. microwave heating. On the other hand, in a number of studies, increase and decrease in PVs during microwave heating were reported for canola oil [10]; pork lard, sunflower, zero-erucic rapeseed peanut and high-oleic peanut oils [12]; sunflower, soybean, rapeseed and corn oils [8]; peanut, sunflower and canola oils [13]; corn oil [9]; blended fat (hydrogenated

palm kernel oil and butter) [14]; safflower and rapeseed oils [20] and tiger nut oil [7]. Javidipour et al. [6] detected that after 9 minutes of microwave heating a sharp decrease in PVs of refined hazelnut, soybean, sunflower and virgin olive oils. According to Dostalova et al. [12] and Lukesova et al. [8], the different level of unsaturated

fatty acids and the degree of their oxidation is the reason for the variability of the PVs during microwave heating exposure, since PV is a measure of primary oxidation products. After a drop in the PV is observed, the oxidation reactions continue to next phases and thus new compounds are formed.

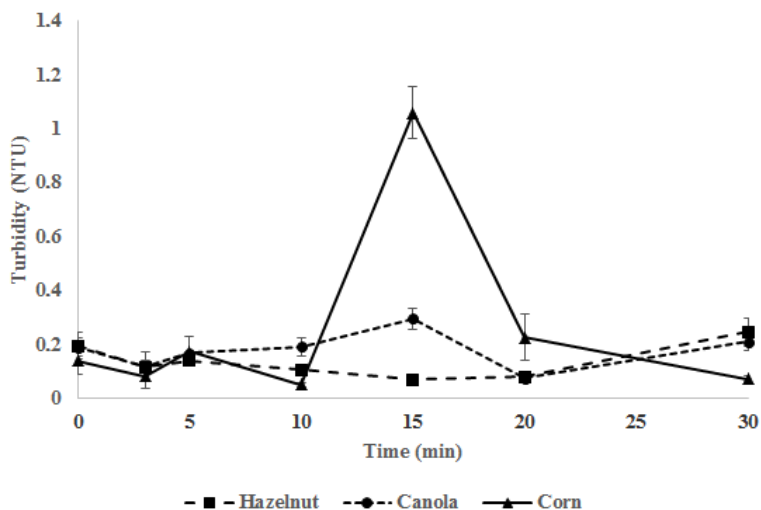


Figure 2. Turbidity values of the microwave treated oil samples

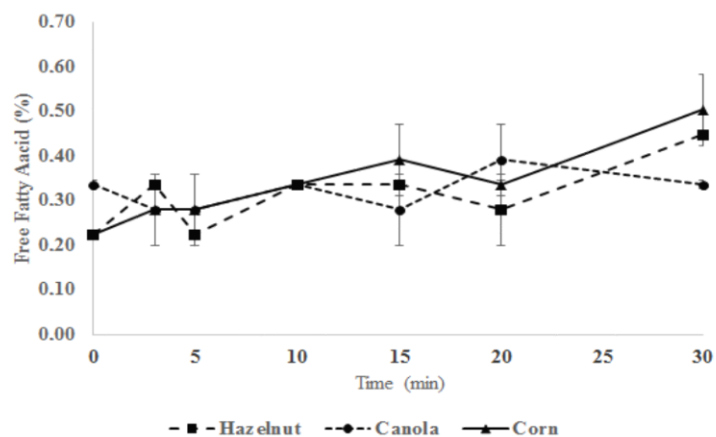


Figure 3. Free fatty acid values of the microwave treated oil samples

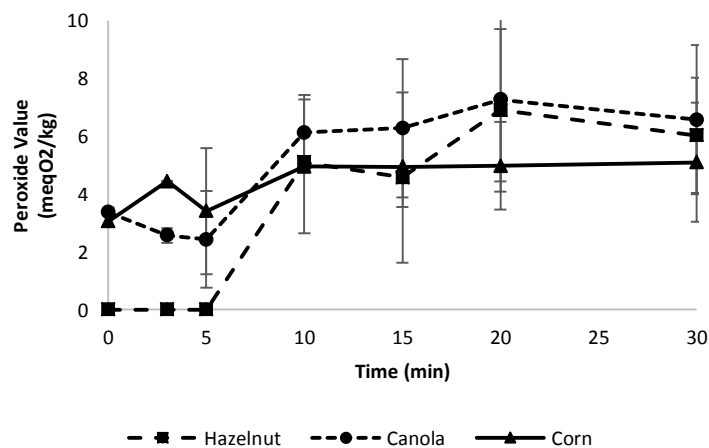


Figure 4. Peroxide values of the microwave treated oil samples

Absorbance values at 232 and 270 nm are found to be good indicators of the formation of secondary oxidation products, since absorbance at 232 nm represents the conjugated dienes, while absorbance at 270 – the conjugated trienes [18]. Thus, in the present study, the  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values of the oil samples were monitored during microwave heating and the results were presented in Figure 5 and Figure 6, respectively. For all samples, both  $K_{232}$  and  $K_{270}$  increased with microwave heating, showing that secondary oxidation products were formed during microwave heating of hazelnut, canola and corn oils (Fig. 5 and Fig. 6). Similarly, Albi et al. [1] found out that  $K_{232}$  and  $K_{270}$  of virgin olive, olive, sunflower, high oleic sunflower oils and lard increased after microwave cooking and were higher when compared to conventional heating and suggested that this increase was mainly due to the fact that during microwave heating, the formation of trienes and unsaturated ketones or aldehydes was higher because of the internal friction of the molecules. Lukesova et al. [8] reported that conjugated dienes and trienes gradually increased in rapeseed, sunflower, soybean and corn oils exposed to microwave heating for 30 min. Kiralan and Kiralan [21] investigated the effect of microwave heating on the quality of black cumin and hazelnut oils and

found out that there was an increase in the  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values after 8 min. exposure to microwave heating. Similar increase for the  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values of tiger nut oil after 15 min. microwave heating was reported by Sobhani et al. [7].

Besides evaluation of oil oxidation with the aforementioned physico-chemical parameters, nowadays, differential scanning calorimetry (DSC) appears as reliable method since it is time-saving and no chemicals that might be toxic for both laboratory staff and environment are required [16]. In a number of studies, when assessing the oxidative deterioration of oils, a good correlation was proved between the thermal properties measured with DSC and the standard chemical oxidative parameters, such as PV and FFA content [13, 14]. In the present study, the OIT values of the oil samples were measured at different intervals after microwave heating for 30 min. The results are presented in Figure 7. For all oil samples there was a profound decrease in the OIT values with microwave heating, implying the oxidative deterioration due to microwave treatment.

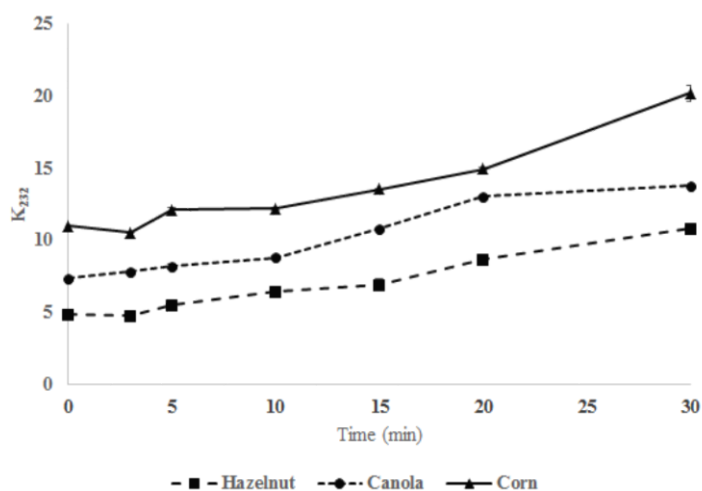


Figure 5.  $K_{232}$  values of the microwave treated oil samples

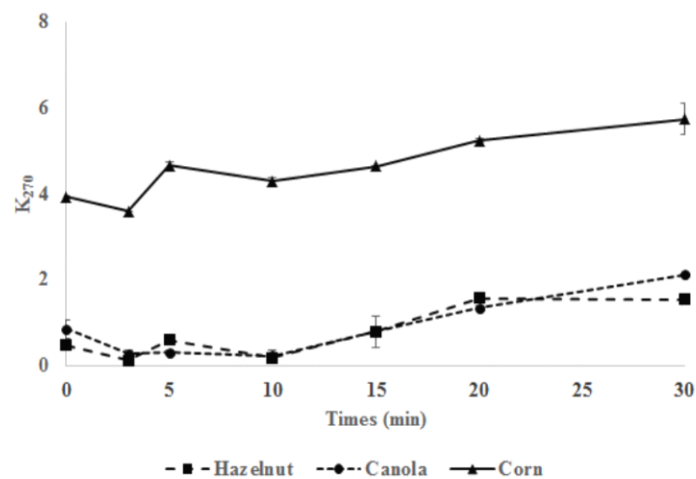


Figure 6.  $K_{270}$  values of the microwave treated oil samples

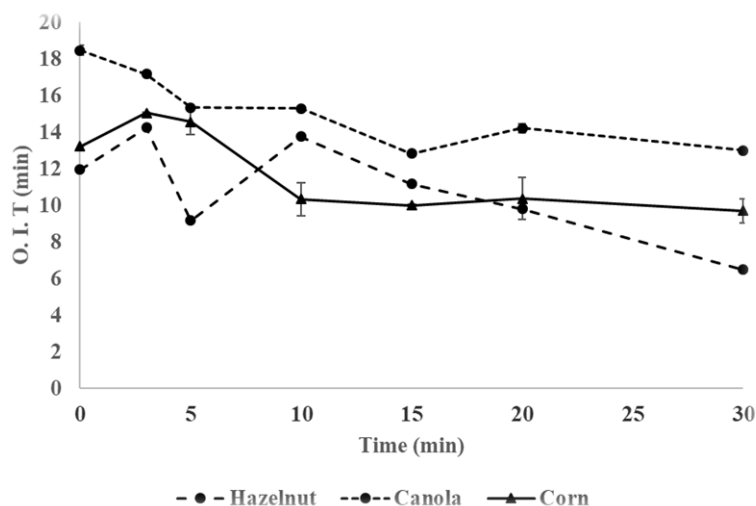


Figure 7. Oxidative induction times of the microwave treated oil samples

## CONCLUSIONS

In the present study, the effect of microwave heating from 0 to 30 min. on the quality of hazelnut, canola and corn oils was investigated by monitoring the turbidity, free fatty acid content, peroxide values,  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values, as well as oxidative induction time of the samples. The results revealed that in all of the oil samples oxidative changes occurred, with the extent of oxidation being different for the specified oils since their fatty acids content was different from each other. Furthermore, the results suggested that both primary and secondary oxidative products were formed during microwave heating of the oil samples. It was also proved that measurement of oxidation induction time via differential scanning calorimetry was effective in evaluating the extent of oil oxidation, showing that oil oxidation may be determined without using chemicals and causing less hazards and risks to laboratory staff. Detailed evaluation of the chemical changes of vegetable oils during microwave cooking might be suggested for further research studies.

## REFERENCES

- [1] Albi, T., Lanzón, A., Guinda, A., León, M., Pérez-Camino, M.C. (1997). Microwave and conventional heating effects on thermoxidative degradation of edible fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 3795-3798.
- [2] Yoshida, H., Hirakawa, Y., Tomiyama, Y., Mizushima, Y. (2003). Effects of microwave treatment on the oxidative stability of peanut (*Arachis hypogaea*) oils and the molecular species of their triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105(7), 351-358.
- [3] Hassanein, M.M., El-Shami, S.M., El-Mallah, M.H. (2003). Changes occurring in vegetable oils composition due to microwave heating. *Grasas y Aceites*, 54(4), 343-349.
- [4] Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2009). A kinetic study of oxidation development in sunflower oil under microwave heating: effect of natural antioxidants. *Food Research International*, 42(8), 1171-1177.
- [5] Aydınkaptan, E., Mazi, I.B. (2017). Monitoring the physicochemical features of sunflower oil and French fries during repeated microwave frying and deep-fat frying. *Grasas y Aceites*, 68(3), 202-214.
- [6] Javidipour, I., Erinc, H., Baştürk, A., Tekin, A. (2017). Oxidative changes in hazelnut, olive, soybean, and sunflower oils during microwave heating. *International Journal of Food Properties*, 20(7), 1582-1592.
- [7] Sobhani, A., Mohammed, A.S., Ghobakhlou, F., Ghazali, H.M. (2018). Determining the oxidative stability and quality of tiger nut (*Cyperus esculentus*) oil and its antioxidant activity during microwave heating. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 22(1), 52-63.
- [8] Lukešová, D., Dostálová, J., El-Moneim Mahmoud, E., Svárovská, M. (2009). Oxidation changes of vegetable oils during microwave heating. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, S178-S181.
- [9] Abbas Ali, M., Hadi Bin Mesran, M., Abd Latip, R., Hidayu Othman, N., Nik Mahmood, N.A. (2016). Effect of microwave heating with different exposure times on the degradation of corn oil. *International Food Research Journal*, 23(2), 842-848.
- [10] Vieira, T.M., Regitano-d'Arce, M.A. (2001). Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. *LWT-Food Science and Technology*, 34(4), 215-221.
- [11] Fennema, O.R. (1976). *Food Chemistry, Lipids*, New York, Marcel Decker, 140-187.
- [12] Dostalova, J., Hanzlik, P. L., Reblova, Z., Pokorny, J., Sakurai, H. (2005). Oxidative changes of vegetable oils during microwave heating. *Czech Journal of Food Sciences*, 23(6), 230-239.
- [13] Chiavaro, E., Rodriguez-Estrada, M.T., Vittadini, E., Pellegrini, N. (2010). Microwave heating of

- different vegetable oils: Relation between chemical and thermal parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 43(7), 1104-1112.
- [14] Sengar, G., Sharma, H.K., Kumar, N. (2015). Effect of microwave heating on physico-chemical and thermal behavior of blended fat. *International Food Research Journal*, 22(1), 295-303.
- [15] AOCS (1987). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Champaign, IL: AOCS Press.
- [16] Tan, C.P., Man, Y.C., Selamat, J., Yusoff, M.S.A. (2002). Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry*, 76(3), 385-389.
- [17] Minitab (2010). Minitab 16.1.1 Statistical Software. Minitab Inc, State College, Pennsylvania.
- [18] Gunstone, F. (2009). The chemistry of oils and fats: sources, composition, properties and uses. John Wiley & Sons.
- [19] Kaya, S., Bakalbasi, E., Cavidoglu, I. (2017). Kinetics of peroxide formation in hazelnut, olive and cottonseed oils. *Akademik Gıda*, 15(1), 36-42.
- [20] Pop, F. (2019). Effect of microwave heating on quality and fatty acids composition of vegetable oils. *Studia Universitatis Babes-Bolyai, Chemia*, 63(2), 43-52.
- [21] Kiralan, M., Kiralan, S.S. (2015). Changes in volatile compounds of black cumin oil and hazelnut oil by microwave heating process. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(10), 1445-1450.
- 
-

## Erzurum Çevresindeki Peynir İşletmelerinde Kullanılan Peynir Mayalarının Mikrobiyolojik, Duyusal ve Teknolojik Özellikleri

Ayşin Cantürk , Songül Çakmakçı  ✉

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

Geliş Tarihi (Received): 22.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 14.02.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [cakmakci@atauni.edu.tr](mailto:cakmakci@atauni.edu.tr) (S. Çakmakçı)

☎ 0 442 231 24 91 📠 0 442 231 58 78

### ÖZ

Peynir kalitesine büyük etkisi olan peynir mayaları ile ilgili olarak bu çalışmada, ülkemizin peynir üretim potansiyelinde önemli bir yeri olan Erzurum ve çevresinde peynir üretimi yapan süt işletmelerinde kullanılan peynir mayalarının mevcut mikrobiyolojik, duyusal, bileşim ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Erzurum ve çevresindeki süt işletmelerinden temin edilen 20 adet peynir mayası örneğinde, toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), koliform bakteri, maya ve küf sayıları tespit edilmiş; *Staphylococcus aureus*, anaerobik spor oluşturan bakteri ve *Salmonella* aranmıştır. Peynir mayası örneklerinde pH, % asitlik, % tuz ve maya kuvveti tespit edilmiş, duyusal özellikler incelenmiştir. Araştırma sonuçları değerlendirildiğinde; peynir mayası örneklerinin çoğunun Türk Peynir Mayası Standardı'na (TS 3844) mikrobiyolojik, duyusal ve teknolojik özellikler açısından uymadığı, ticari mayaların etiketleri üzerinde belirtilen maya kuvvetleri ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Peynir mayalarının peynir üretimi ve kalitesini etkileyen en önemli unsurlardan biri olması nedeniyle, üretim, muhafaza, kullanım ve denetimde tüm özelliklerinin dikkate alınması gerektiği ve bu konuda çalışmaların artırılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Peynir mayası, Rennet, Maya kuvveti, Mikrobiyolojik kalite, Duyusal özellikler

### Microbiological, Sensorial and Technological Characteristics of Rennet Used in Cheese Production Facilities around Erzurum City in Turkey

#### ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the microbiological, sensory, composition and technological properties of rennet samples used in dairy facilities in and around Erzurum city, which have an important role in the cheese production potential of Turkey. In 20 rennet samples obtained from dairy facilities, total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), coliform bacteria, yeast and mold counts were determined as well as *Staphylococcus aureus*, anaerobic spore forming bacteria and *Salmonella*. pH, % acidity, % salt and milk clotting activity were determined in cheese rennet samples, and their sensory properties were investigated. There were differences among the results of the rennet clotting activity indicated on the labels of commercial rennet while most of the rennet samples did not comply with the TS 3844 Turkish Rennet Standard in terms of their microbiological, sensory and technological properties. Since rennet is one of the most important factors affecting cheese production and quality, it has emerged that all the characteristics of production, preservation, use and supervision should be taken into consideration and studies on this subject should be increased.

**Keywords:** Rennet, Milk coagulants, Clotting activity, Microbiology, Sensorial properties

## GİRİŞ

Sütün pıhtılaştırılması, peynir üretiminde en temel aşamadır. Peynirlerin büyük çoğunluğu, binlerce yıldır, geviş getiren hayvanların süt emme döneminde bulunan yavrularının şirdenlerinden (abomasum) elde edilen ve yüksek oranda rennin (kimozi) enzimi içeren "peynir mayası" ile pıhtılaştırılarak üretilmektedir [1, 2]. Kimozi (EC, 3.4.23.4) süt proteini  $\kappa$ -kazeini fenilalanin (105) - metionin (106) (Phe-Met) aminoasit bağından koparmak için spesifik olup aşırı bir proteoliz oluşturmadan proteinle peptitler arasında dengeyi sağlamakta ve peynirin acılaştırmasını önlemektedir [1, 3, 4]. Kimozi pepsine göre daha yüksek pıhtılaştırma aktivitesine sahip olup, bu özellik peynir üretiminde istenmektedir [2]. Günümüzde peynirler, rennetle pıhtılaştırılan (en çok kullanılan), asitle pıhtılaştırılan (izoelektrik nokta) ve ısı işlem + asit kombinasyonu ile pıhtılaştırılan (çok küçük bir grup) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır [5, 6]. Ancak, Civil peynir asit, peynir mayası ve ısı işlemin birlikte kullanıldığı bir peynir çeşidi olduğundan dördüncü bir grup olarak eklenebilir [7, 8].

Uygulamada en yaygın kullanılan hayvansal kaynaklı enzim preparatı buzağı rennetidir. Bu nedenle "standart" kabul edilir ve diğer enzimlerle karşılaştırılır [9]. Rennet, hayvanın kesildiği yaşa, beslenme şekline ve kaynağına (buzağı veya sığır) bağlı olarak farklı oranlarda kimozi ve pepsin içermektedir. Ticari ürünlerde kimozi yaklaşık olarak %50-%95 arasında değişir [10]. Renneteki kimozinin pepsine oranı, teknolojik ve proteolitik özelliklerini etkilemektedir. Bu bakımdan peynir üreticileri, teknolojik ve ekonomik nedenlerle, sadece sütü pıhtılaştırma aktivitesini değil, aynı zamanda rennetin enzimatik bileşimini de bilmelidir [11].

Dünyada peynir üretimi ve tüketimi giderek artış gösterirken buzağı renneti temininin giderek azalması [12], araştırmacıları mikrobiyal, rekombinant ve bitkisel kaynaklı enzimler de dahil olmak üzere, peynir üretiminde buzağı rennetinin yerine geçecek, tatmin edici sonuçlar veren süt pıhtılaştırıcı enzimlerin keşfedilmesine yöneltmiştir [2, 10]. Ancak, proteolitik aktivitelerinin pıhtılaştırma aktivitelerine oranla çok daha fazla olması, bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı enzimlerin kullanımını sınırlamaktadır. Proteolitik aktivitenin yüksek olması, randımanda düşüş, pıhtı niteliklerinde bozulma ve acı tat oluşumu gibi kusurlara neden olmaktadır [13].

Eskiden, pıhtılaştırıcı enzimler, temizlenmiş ve kurutulmuş şirdenlerin peyniraltı suyunda ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. Kurutulmuş şirdenler günümüzde de mevcuttur ve neredeyse sadece ustalık gerektiren peynirlerde kullanılmaktadır [14]. Örneğin, Şavaklar tarafından yapılan Erzincan Tulum peyniri üretiminde; temizlenmiş genç buzağuların şirdenleri gölge ve kuru havada kurutulduktan sonra ince dilimler halinde doğranmakta, NaCl içeren peynir altı suyunda 1-2 hafta süreyle ara ara karıştırılarak rennetin ekstraksiyonu sağlanmaktadır [15, 16].

Buzağı kesiminin azalmasına bağlı olarak doğal rennet üretiminde sıkıntı yaşanırken, rekombinant kimozi üretimindeki gelişmeler ve Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi

FDA'nın 1997'de GRAS (Generally Recognized as Safe-Genellikle Güvenli Kabul Edilen Katkılar) bileşen olarak kullanımına izin vermesi, ihtiyacın karşılanmasına katkı sağlamıştır. Günümüzde dünya peynir üretiminden %50'den fazla rekombinant kimozi kullanılmaktadır. Bu oran ABD ve Britanya'da %90 oranına ulaşmaktadır [17]. Buzağı rennetinin süt pıhtılaştırma aktivitesinin %5-50'si pepsinden kaynaklanabilirken, mikrobiyal rekombinant kimozi preparatları pepsin içermez. Bu nedenle bu iki enzimle yapılan peynirlerin proteolizlerinde küçük farklılıklar gözlenir [18].

Peynir mayasının özellikleri, peynir kalitesini için önemlidir. Örneğin, kullanılan peynir mayasının pıhtılaştırma kuvveti (enzim aktivitesi, enzim kompozisyonu), ambalaj ve depolamadaki hatalar maya kuvvetini değiştirmektedir [19]. Pıhtılaştırma gücü, peynir mayasının teknolojik özelliğini, dolayısıyla pıhtının sertliği ve yumuşaklığını etkilemektedir [20, 21]. Bu araştırmada, ülkemizin peynir üretim potansiyelinde önemli yeri olan Erzurum ve çevresinde, peynir üreten süt işletmelerinde kullanılan peynir mayalarının mevcut mikrobiyolojik, duyuşal, bileşim ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi; peynir kalitesi ile ilişkisi açıklanmaya çalışılmıştır. Böylece, peynir mayasının kaynağı, enzim içeriği/çeşidi, üretim süreci, saklama şartları ve kullanımının peynir kalitesi ile ilgili problemlerde öncelikle akla getirilmesine/önemine dikkat çekmek amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada kullanılan 20 adet sıvı peynir mayası örneği (rennet) Erzurum ve çevresinde faaliyet gösteren, peynir üreten süt işletmelerinden temin edilmiştir. Örnekler 100 mL'lik steril kahverengi cam şişelere alınmış, alüminyum folyo ile kaplanmış ve en kısa sürede laboratuvara getirilip 4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Öncelikle mikrobiyolojik analizler tamamlanmış, bunu duyuşal ve diğer analizler takip etmiştir.

### Yöntem

Peynir mayası örneklerinde bazı mikrobiyolojik ve teknolojik analizler ile duyuşal değerlendirme yapılmış, maya kuvveti belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analiz olarak; toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı Plate Count agar (PCA-Merck) (30-32°C'de 48 saat) [22, 23], koliform grubu bakteri sayısı Violet Red Bile agar (VRBA-Merck) (37±1°C'de 48 saat) [22, 24], maya ve küf sayıları Potato Dextrose Agar (PDA-Merck) %10'luk steril tartarik asit çözeltisi ile pH'sı ayarlanarak (pH 3,5±0,1) (20-25°C'de 5-7 gün) [22, 25], *S. aureus* sayısı Baird Parker Agar (BPA-Merck) (35-37°C'de 24 saat) [26], anaerob spor oluşturan bakteri sayısı Sulfite Polymyxin Sulfadiazine (SPS) Agar (30°C'de 72 saat) [27] kullanılarak belirlenmiştir. Salmonella spp'nin geleneksel kültür yöntemiyle izolasyonunda ISO 6579 (The International Organization for Standardisation) ve FDA tarafından belirlenen yöntem uygulanmıştır

(Anonim, 2007). 9 ml rennet örneğinde, selektif olmayan besiyerinde (90 ml steril tamponlanmış peptonlu su) ön zenginleştirme (37°C'de 24 saat inkübasyon), Rappaport Vassiliadis Buyyon (RVB) ve Selenite Cystine Broth Base ile selektif zenginleştirme ve Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar ile XLT4 Agar selektif besiyerlerine çizme yöntemiyle ekim yapılarak (petriler 37°C'de 24-48 saatlik inkübasyon) tipik *Salmonella* spp kolonileri aranmıştır [28]. Sayım sonuçları, ilgili dilüsyon faktörü dikkate alınarak log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir.

Titrasyon asitliği (% laktik asit cinsinden) Kurt ve ark. [29]'nin verdiği yöntem, tuz miktarı TS 3844 [30]'e göre ve Kurt ve ark. [29]'nin verdiği yöntemle göre, pH birleşik elektrotlu dijital pH metre (SevenCompactTM pH/lon S220 marka) ile tespit edilmiştir [31]. Maya kuvveti TS 3844 [30]'e göre, 1 birim (1 mL) peynir mayasının sabit şartlarda pıhtılaştırdığı sütün hacmine (mL) oranı hesaplanarak belirlenmiştir.

Peynir mayası örneklerinin duyu özellikleri (renk, görünüş, koku) TS 3844 [30] Peynir Mayası Standardı'na göre yapılmıştır. Ayrıca, örneklerde gözlenen ve bundan sonra yapılacak ayrıntılı, objektif analizlere katkı amacıyla diğer bir duyu değerlendirme yapılmış olup içerikte verilmiştir.

Peynir mayası örneklerinde yapılan analizler sonucunda elde edilen verilere ait standart sapmalar, SPSS 20.0 programı kullanılarak elde edilmiştir.

## ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Rennet ile sütün pıhtılaşması, peynir yapımında en önemli safha olup, üretilen peynirin özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Peynirin lezzeti ve tekstürü, olgunlaşma sırasında ortaya çıkan kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik olayların bir sonucudur [32, 33]. Peynir mayası örneklerine ait bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1'de toplu olarak verilmiştir.

Peynir Mayası Standardı'nda [30], peynir mayasında en fazla  $10^3$  kob/mL TAMB bulunmasına izin verilmektedir. Tablo 1'de de görüldüğü gibi, 20 adet peynir mayası örneğinden 10 adedinin TAMB sayısının  $>10^3$  kob/mL olduğu ve TS 3844 [30]'e uygunluk göstermediği tespit edilmiştir. Benzer şekilde Çakmakçı ve Boroğlu [19], Türkiye genelinde faaliyet gösteren süt işletmelerinden aldıkları 25 adet ticari sıvı peynir mayası örneğinin 5 adedinde  $>10^3$  kob/mL düzeyinde TAMB tespit etmişlerdir. Tekinşen ve ark. [34], inceledikleri 20 adet sıvı şirden mayasına ait TAMB sayısının  $10^3$  kob/mL'den fazla olmadığını tespit etmiştir. Gürses ve Çakmakçı [14], Erzincan Tulum (Şavak) peyniri üreten Şavakların yaptıkları ev tipi sıvı peynir mayası örneklerinin TAMB sayısının  $1.9 \times 10^6$ -  $9.0 \times 10^6$  arasında değiştiğini ve bu değerlerin TS 3844'e uygunluk göstermediğini tespit etmişlerdir. Bunun nedenleri olarak kullanılan kuru şirdenlerin kalitesi, uygunsuz üretim (Şavak peyniri üreten üreticilerin yaptıkları ev tipi sıvı peynir mayası için), kullanım ve muhafaza koşullarının kontaminasyona neden olduğunu göstermektedir.

Tablo 1. Peynir mayası örneklerinde yapılan bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/mL)

Örnek No	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri	Koliform	Maya-Küf	S. aureus	Anaerobik Spor Oluşturan Bakteri	Salmonella (var-yok/25 mL)
1	<1	<1	<1	<1	<1	yok
2	2.67±0.52	<1	<1	<1	<1	yok
3	<1	<1	<1	<1	<1	yok
4	2.24±0.34	<1	2.15±0.21	<1	<1	yok
5	4.77±0.01	<1	1.24±0.34	<1	<1	yok
6	4.14±0.08	<1	<1	<1	<1	yok
7	3.84±0.08	<1	<1	<1	<1	yok
8	<1	<1	<1	<1	<1	yok
9	<1	<1	<1	<1	<1	yok
10	<1	<1	<1	2.69±0.30	<1	yok
11	7.14±0.13	<1	5.36±0.06	<1	<1	yok
12	7.13±0.03	2.72±0.17	5.45±0.09	<1	<1	yok
13	2.48±0.01	<1	1.82±0.05	<1	<1	yok
14	3.14±0.08	<1	<1	<1	<1	yok
15	3.78±0.01	<1	<1	<1	<1	yok
16	<1	<1	<1	<1	<1	yok
17	4.11±0.10	<1	3.17±0.02	<1	<1	yok
18	<1	<1	1.48±0.01	4.91±0.03	<1	yok
19	4.57±0.01	<1	2.18±0.25	<1	<1	yok
20	<1	<1	<1	<1	<1	yok
En düşük	<1	<1	<1	<1	<1	yok
En yüksek	7.14±0.13	2.72±0.17	5.45±0.09	<1	<1	yok

Peynir Mayası Standardı'na [30] göre, peynir mayasında bulunmasına izin verilmeyen mikroorganizmalardan biri olan koliform grubu bakteriye sadece 12 numaralı örnekte rastlanmıştır (2.72±0.17 log kob/mL) (Tablo 1).

Uraz [35], incelediği 19 adet peynir mayası örneğinin hiçbirinde koliform grubu bakteriye rastlanmadığını belirtmiştir. Gürses ve Çakmakçı [14], Erzincan Tulum (Şavak) peyniri üreten Şavakların yaptıkları ev tipi sıvı



peynir mayası örneklerinin sadece 1 adedinde koliform grubu bakteri ( $1.2 \times 10^3$  kob/mL) tespit etmişlerdir. Tekinşen ve ark. [34], 20 adet sıvı şirden mayası örneğinin hiçbirinde koliform grubu bakteriye rastlanmamışlardır. Çakmakçı ve Boroğlu [19] tarafından yapılan çalışmada, 25 adet ticari sıvı peynir mayası örneğinin hiçbirinde koliform grubu bakteriye rastlanmamıştır. Ev tipi peynir mayalarının mikrobiyolojik kalitesinin, öncelikle hammaddenin kalitesine, ayrıca hazırlama işlemlerine ve saklama koşullarına bağlı olduğu bildirilmektedir [36]. Koliform grubu bakteriler asitliğe duyarlıdır ve düşük pH değerlerine sahip rennetlerde kolay kolay bulunmazlar [37]. Ancak, 12 numaralı örneğin diğer maya örneklerinden daha düşük pH değerine sahip olmasına rağmen koliform grubu bakteri barındırıyor olması, ev tipi sıvı peynir mayası örneğinin hijyenik koşullarda üretilmediği veya muhafaza edilmediğini göstermektedir.

Peynir Mayası Standardı [30]'na göre, peynir mayasında en fazla  $10^2$  kob/mL maya ve küf bulunmasına izin verilmektedir. Peynir mayası örneklerinin maya ve küf sayıları (log kob/mL) incelendiğinde 4, 11, 12, 17 ve 19 numaralı peynir mayası örneklerinin TS 3844'e uymadığı, özellikle 11 ( $5.36 \pm 0.06$  log kob/mL) ve 12 ( $5.45 \pm 0.09$  log kob/mL) numaralı peynir mayası numunelerinin Standartta belirtilen sınırların oldukça üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Gürses ve Çakmakçı [14]'nin geleneksel şirden mayalarında tespit ettikleri sonuçlar ile karşılaştırıldığında, araştırmacıların tespit ettikleri değerlerin de ( $1.0 \times 10^5$ -  $3.6 \times 10^6$  kob/mL arasında değişen sayılarda maya ve küf) TS 3844'e uygunluk göstermediği bildirilmiştir. Tekinşen ve ark. [34], 20 adet sıvı şirden mayası örneğindeki maya ve küf sayısının  $<1 - 9.10$  kob/mL arasında değiştiğini, bu değerlerin de TS 3844'e uygunluk gösterdiğini bildirmişlerdir. Çakmakçı ve Boroğlu [19] tarafından yapılan çalışmada, 25 adet ticari sıvı peynir mayası örneğinin sadece 3 adedinde 10 kob/mL maya ve küf tespit edilmiştir.

İncelenen peynir mayası örneklerinin hiçbirinde, *S. aureus* ve anaerob spor oluşturan bakteri ( $<1$  log kob/mL) ile *Salmonella*'ya rastlanmamıştır (yok/25 mL). Bu sonuçlar bakımından TS 3844 [30]'e uygun bulunmuşlardır. Benzer şekilde Gürses ve Çakmakçı [14] ile Tekinşen ve ark. [34] peynir mayaları üzerinde yaptıkları çalışmalarda, *S. aureus* ve anaerob spor oluşturan bakteriye rastlanmadıklarını bildirmişlerdir. Çakmakçı ve Boroğlu [19], Türkiye genelinde faaliyet gösteren büyük kapasiteli süt işletmelerinden (peynir üreten) alınan 25 adet ticari sıvı peynir mayası örneğinin 4 adedinde anaerob spor oluşturan bakteriye rastladıklarını bildirmişlerdir. Koçak [20], ülke genelinde kullanılan sıvı şirden mayalarının farklı depolama şartlarındaki özelliklerini araştırmıştır. Oda sıcaklığı ve plastik ambalajın saklamaya uygun olmadığı ve bazı peynir mayalarının maya ve küf, koliform bakteri ve anaerob spor oluşturan bakteri içerdiği tespit edilmiştir.

Peynir mayası örneklerine ait bazı teknolojik analizlerin sonuçları Tablo 2'de toplu olarak verilmiştir. Örneklerin pH değerlerinin  $4.21 \pm 0.01$  ile  $6.12 \pm 0.02$  arasında değiştiği görülmektedir. En düşük pH değeri 11 numaralı

örnekte tespit edilmiş ( $4.43 \pm 0.01$ ), bunu 12 numaralı örnek takip etmiş ( $4.21 \pm 0.01$ ) ve bu örneklerin şirdenden geleneksel yöntemle yapılan ev tipi peynir mayası örnekleri olduğu dikkat çekmiştir. Gürses ve Çakmakçı [14] tarafından yapılan araştırma sonuçları ile karşılaştırıldığında, araştırmacıların ölçtükleri değerlerin 3.06–4.27 arasında değiştiği, Tekinşen ve ark. [34] tarafından ise pH değerlerinin 5.02–6.10 arasında değiştiği bildirilmiştir. Çakmakçı ve Boroğlu [19] da, örneklerin pH değerlerinin 5.08-5.85 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Moschopoulou ve ark. [37], ev yapımı kuzu ve oğlak rennetlerinin pH değerlerini  $4.74 \pm 0.22$  ve  $4.71 \pm 0.37$  olarak ölçmüştür. Aynı araştırmacılar, pH değerinin rennetin kararlılığını etkilediğinden kritik bir özellik olduğunu, incelenmiş rennetlerin düşük pH'sının muhtemelen abomasa'nın asit içeriğine bağlı olduğunu ve enzim inaktivasyonunu önlemek için nihai ürünün pH değerinin ayarlanması gerektiğini bildirmişlerdir.

Peynir mayası örneklerine ait % asitlik değerlerinin  $0.06 \pm 0.00$  (19 numaralı örnek) ile  $0.83 \pm 0.01$  (12 numaralı örnek) arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 2). 11 numaralı örneğin de ( $0.62 \pm 0.01$ ) asitlik değerinin diğer örneklerle kıyaslandığında, 12 numaralı örneğe benzer şekilde oldukça yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Gürses ve Çakmakçı'nın [14] tespit ettikleri titre edilebilir asitlik (laktik asit) değerlerinin  $0.9-1.67$  arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu araştırmada bulunan değerler ile karşılaştırıldığında, özellikle 11 ve 12 numaralı numuneler ile diğer 18 adet numune arasında, % asitlik değerleri açısından büyük oranda farklılık olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar 11 ve 12 numaralı örnekler ile Gürses ve Çakmakçı'nın [14] inceledikleri örneklerin şirdenden üreticiler tarafından evde yapılan peynir mayaları olduğu dikkat çekmektedir.

Rennetin stabilitesine katkıda bulunan tuz içeriği, sıvı rennetin önemli bir özelliğidir [38]. TS 3844'e göre, hayvansal peynir mayasının tuz oranının en az %15, mikrobiyel peynir mayasının tuz oranının ise en az %10 olması gerekmektedir. Bu durumda 2 (% $9.33 \pm 0.04$ ), 5 (% $8.15 \pm 0.06$ ), 9 (% $7.05 \pm 0.04$ ) ve 18 (% $9.34 \pm 0.03$ ) numaralı örneklerin her halükarda bu oranların altında bir değere sahip olduğu görülmektedir. Gürses ve Çakmakçı [14], geleneksel yöntemle yapılan şirden mayası örneklerinin tuz oranının % $4.21-6.13$  arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Tekinşen ve ark. [34] ise, peynir mayası örneklerinin tuz oranının % $12.91-18.79$  arasında değiştiğini ve iki numune dışında bütün numunelerin TS 3844'te belirtilen kriterlere uyduğunu bildirmişlerdir. Çakmakçı ve Boroğlu [19], peynir mayası örneklerinin tuz oranının % $4.83-14.05$  arasında olduğunu, yani büyük farklılıklar gösterdiğini, bu durumun da peynir mayasının hazırlanması sırasında tuzun rastgele ilave edilmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Peynir Mayası Standardı [30]'na göre, maya kuvveti en az 1/10.000 olan peynir mayaları 1. Sınıf, maya kuvveti en az 1/5.000 olan peynir mayaları 2. Sınıf, maya kuvveti en az 1/3.000 olan peynir mayaları ise 3. Sınıf peynir mayası olarak sınıflandırılmaktadır. Bu bilgiye dayanarak peynir mayası örnekleri sınıflandırıldığında, sadece 1 adet peynir mayası örneğinin (5 numaralı

örnek, 1/10561) 1. Sınıf, 15 adet peynir mayası örneğinin 2. Sınıf, 2 adet peynir mayası örneğinin ise 3. Sınıf olduğu görülebilir (Tablo 2). 11 (1/180) ve 12 (1/356) numaralı şirden mayası örneklerinin ise bu sınıflandırmanın dışında kaldığı görülmektedir. Gürses ve Çakmakçı [14] geleneksel yöntemle şirdenden yapılan peynir mayası örneklerinin süt pıhtılaştırma aktivitelerinin 1/160–1/1230 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu değerlerin Peynir Mayası Standardı [30]'nda belirtilen en düşük sınıflandırmanın da altında olduğu görülmektedir. Tekinşen ve ark. [30] da, 15 adet peynir mayası örneğinin TS 3844'e göre 1. Sınıf (1/10620- 1/51550 arasında değişen), 5 adet mayası

örneğinin 2. Sınıf (1/7270- 1/8420 arasında değişen) olarak değerlendirildiğini ve bulunan sonuçların etikette belirtilen sonuçlardan biraz düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çakmakçı ve Boroğlu [19], 25 adet ticari sıvı peynir mayası numunesinin maya kuvveti değerlerinin 1/5670 ile 1/45450 arasında değiştiğini, örneklerin maya kuvvetlerinin birbirinden çok farklı olduğunu ve 11 adet örneğin maya kuvvetinin etikette belirtilenden daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu sonucun da farklı kaynaklardan, örneğin mikrobiyal kaynaklı peynir mayaları olabileceği ve zamanla peynir mayası kuvvetinin azalmasına bağlı olarak düşük yazılmış olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 2. Peynir mayası örneklerine ait bazı teknolojik analiz sonuçları

Örnek No	pH	Asitlik (%)	Tuz (%)	Maya Kuvveti	
				Etikette Belirtilen	Tespit Edilen
1	5.58±0.02	0.28±0.01	15.20±0.02	1/18000	1/6163
2	5.64±0.01	0.24±0.01	9.33±0.04	1/8000	1/5379
3	5.65±0.01	0.27±0.00	14.07±0.04	1/18000	1/5218
4	5.21±0.02	0.19±0.00	15.18±0.04	1/20000	1/9523
5	5.04±0.02	0.16±0.01	8.15±0.06	1/20000	1/10561
6	5.28±0.01	0.09±0.01	11.71±0.01	1/20000	1/8973
7	5.67±0.01	0.13±0.00	15.21±0.01	1/18000	1/3969
8	6.12±0.02	0.11±0.01	22.24±0.01	1/16000	1/7017
9	5.69±0.01	0.26±0.00	7.05±0.04	1/18000	1/5934
10	5.38±0.00	0.09±0.01	14.09±0.07	1/20000	1/8992
11	4.43±0.01	0.62±0.01	14.05±0.01	Ev tipi şirden M.*	1/180
12	4.21±0.01	0.83±0.01	11.60±0.14	Ev tipi şirden M.	1/356
13	5.64±0.01	0.29±0.01	11.71±0.01	1/18000	1/5576
14	5.88±0.01	0.17±0.01	12.85±0.04	1/18000	1/6115
15	5.65±0.03	0.27±0.01	11.71±0.01	1/18000	1/5396
16	5.85±0.01	0.16±0.01	15.19±0.03	1/18000	1/6008
17	6.08±0.02	0.14±0.00	11.68±0.04	1/16000	1/4873
18	5.63±0.00	0.22±0.00	9.34±0.03	1/18000	1/5333
19	5.58±0.00	0.06±0.00	12.86±0.01	1/20000	1/9698
20	5.54±0.02	0.08±0.01	17.54±0.02	1/20000	1/8278
En düşük	4.21±0.01	0.06±0.00	7.05±0.04	1/8000	1/180
En yüksek	6.12±0.02	0.83±0.01	22.24±0.01	1/20000	1/10561
Ortalama	5.48±0.48	0.23±0.19	13.04±3.43	-	-

\*Ev tipi şirden M.= Ev tipi şirden mayası

Erzurum ve civarında peynir yapan işletmelerden alınan 20 adet peynir mayası örneğine ait yöntemde belirtilen bazı duyuşsal değerlendirmeler Tablo 3'te verilmiştir. Ayrıca incelenen peynir mayalarında tarafımızdan yapılan diğer bazı duyuşsal değerlendirmeler de, mayaların duyuşsal özelliklerinin ortaya konulmasında yardımcı olabilecek ve aroma ile ilgili ileride yapılacak araştırmalar için temel teşkil edebilecek bazı özellikleri de Tablo 4'te verilmiştir. TS 3844 [30]'de, peynir mayasının kendine özgü renkte, kokuda ve görünüşte olması, tortusuz ve berrak olması gerektiği belirtilmiştir. 20 adet peynir mayası numunesinin 6 adedi tamamen renksiz bulunurken, geri kalan örneklerin renklerinin açık sarıdan karamela kadar farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Tablo 3). Gürses ve Çakmakçı [14], Tulum (Şavak) peyniri üreticilerinin kuru tuzlanmış şirdenden kendilerinin yaptıkları ev tipi sıvı peynir mayalarının sarı veya karamel benzeri renkte, bulanık görünüşte olduklarını ve küçükü büyüklü parçacıklar içerdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Çakmakçı ve

Boroğlu [19], 25 adet ticari sıvı peynir mayası numunesinden 11 adedinin karamel renkte, 14 adedinin ise açık sarı renkte olduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 3'te verildiği gibi, 11 ve 12 numaralı örnekler dışında bütün peynir mayası örneklerinin berrak ve tortusuz olduğu görülmüştür. 11 ve 12 numaralı örneklerin bulanık ve hafif tortulu görünmesi, örneklerin geleneksel yöntemle şirdenden evde yapılmış peynir mayası oluşunu desteklemektedir. Çünkü bu işlemden tülbenten süzme dışında bir berraklaştırma/saflaştırma yapılmamaktadır [14]. Çakmakçı ve Boroğlu [19], 25 adet peynir mayası örneğinden 1 örneğin bulanık, 1 örneğin de hafif tortulu olduğunu, bu durumun mayanın hammaddesinin temizliğinden ve işleme teknolojisindeki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğini vurgulamışlardır. Bu araştırmada incelenen 20 adet peynir mayası örneğinden 10 adedinin kendine has kokuda olduğu, 10 adedinin ise yabancı kokuda olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Peynir mayası (rennet) örneklerinin duyuşal özellikleri

Örnek No	Renk	Görünüş ve berraklık	Koku
1	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
2	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
3	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
4	Karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
5	Açık karamel	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
6	Karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
7	Çok açık karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
8	Çok açık karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
9	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
10	Karamel	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
11	Açık sarı	Bulanık, hafif tortulu	Yabancı koku
12	Açık sarı	Bulanık, hafif tortulu	Kendine özgü
13	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
14	Sarımsı kahve	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
15	Renksiz	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
16	Sarımsı kahve	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
17	Sarımsı kahve	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
18	Sarı	Berrak, tortusuz	Kendine özgü
19	Karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku
20	Karamel	Berrak, tortusuz	Yabancı koku

Tablo 4. Peynir mayası (rennet) örneklerinin tarafımızca belirlenen diğery duyuşal özellikleri

Örnek No	Renk	Görünüş ve Berraklık	Koku
1	Su gibi	Berrak	Keskin, çok beklemiş PAS*
2	Su gibi	Berrak	Keskin, çok beklemiş PAS
3	Su gibi	Berrak	Keskin, çok beklemiş PAS
4	Orta kahve	Berrak	İlk 3 örnekten çok farklı, esans gibi
5	Açık kahve	Berrak	Çok yoğun Tulum peynirimsi
6	Orta kahve	Berrak	Çok keskin asidimsi, kimyasalimsi
7	Çok çok açık kahve	Berrak	Çok değışik, çocuk şurubu gibi
8	Çok çok açık kahve	Berrak	Keskin, kimyasal madde kokusu
9	Su gibi	Berrak	Keskin, hafif fermente PAS
10	Orta kahve	Berrak	Çok keskin, peynir mayamsı, kimyasalimsi
11	Bulanık sarı (peynir suyu gibi)	Bulanık	Çok değışik kimyasal, fermente PAS
12	Bulanık sarı (peynir suyu gibi)	Bulanık	Çok keskin, fermente PAS
13	Su gibi	Berrak	Keskin, hafif fermente PAS
14	Sarımsı kahve	Berrak	Hafif kimyasalimsi
15	Su gibi	Berrak	Yoğun, beklemiş PAS
16	Sarımsı kahve	Berrak	Çok değışik kimyasalimsi
17	Sarımsı kahve	Berrak	Çok farklı kimyasalimsi
18	Sarı	Berrak	Keskin, beklemiş PAS
19	Orta ile açık kahve arası	Berrak	Çok keskin, çok kimyasalimsi
20	Orta kahve	Berrak	Çok keskin, kimyasalimsi

\*: PAS: peyniraltısu

Tablo 4'te ise, peynir mayası örneklerinin standartta belirtilen duyuşal kriterlere ek olarak, tarafımızca değılendirilen daha açıklayıcı bilgiler verilmek istenmiştir. Böylece bu konu ile ilgili yapılacak objektif analizlere dayalı araştırmalara katkı sağlayacağı düşünölmektedir. Tabloda göröldüğü gibi asidik ve kimyasal madde gibi algılanan kokular yabancı koku olarak değılendirilmiştir. Gürses ve Çakmakçı [14], Şavak'ların yaptığı ev tipi sıvı şirden mayasının kokusunun peynir suyu veya alkol kokusunu andırdığını tespit etmişlerdir. Çakmakçı ve Boroğlu [19] ise, 25 örneğin 8 adedinde yabancı koku tespit ettiklerini, diğery 17 örneğin kendine has kokuda olduklarını bildirmişlerdir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada, ölkemizin peynir üretim potansiyelinde büyük payı olan Erzurum ve çevresinde, peynir üretimi yapan süt işletmelerinin kullandıkları peynir mayalarındaki mikrobiyolojik, duyuşal, bileşim ve teknolojik özelliklerin belirlenmesi; bu sayede peynir üretiminde yaşanan kalite sorunlarını anlamada yardımcı olmak ve Peynir Mayası Standardı'na (TS 3844) uygunluğunun araştırılması ve bu konuya dikkat çekmek amaçlanmıştır. Yapılan araştırma sonucunda elde edilen bulguların tamamı değılendirildiğinde, oldukça yüksek düzeyde tüketim ölçğine sahip olan peynircilik sektöründe, verim kaybına neden olan başlıca etkenlerden birinin peynir mayası olabileceğine

dikkat çekmektedir. Gerek standart üretimin sağlanması, gerekse en az kayıpla en yüksek verimin elde edilmesi amacıyla, peynir mayalarının üretiminin teknolojik gelişmeler ışığında olduğu anlaşılmaktadır. Çeşitli peynirlerin kendilerine özgü niteliklerinin oluşması, lezzet ve tekstürde standardizasyon için peynir mayalarının da belli özellikleri taşımaları gerektiği; peynir mayalarının üretim, muhafaza ve kullanımında hijyenik şartların, mikrobiyolojik durumun, maya kuvvetlerinin ve taşıdıkları özelliklerin peynirlerin pıhtılaşma süre ve kalitesinde önemini bir kez daha ortaya çıkarmıştır.

## TEŞEKKÜR


Ayşin CANTÜRK'ün Yüksek Lisans Tezi'nden hazırlanan bu araştırma makalesinin laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını gördüğümüz Gıda Yük. Müh. Hatice ERTEM ve Arş Gör. Yusuf ÇAKIR'a (Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Süt Teknol. Böl.) teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Shamtsyan, M., Dmitriyeva, T., Kolesnikov, B., Denisova, N. (2014). Novel milk-clotting enzyme produced by *Coprinus lagopides* basidial mushroom. *Food Science and Technology*, 58, 343–347.
- [2] Çakmakçı, S., Cantürk, A., Çakır, Y. (2017). Peynir üretimi için sütü pıhtılaştırıcı enzimlere genel bir bakış ve bazı gelişmeler. *Akademik Gıda*, 15(4), 396–408.
- [3] Stepaniak, L. (2004). Dairy enzymology. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2/3), 153–171.
- [4] Tejada, L., Abellán, A., Prados, F., Cayuela, J.M. (2008). Compositional characteristics of Murcia al Vino Goat's cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Journal of Dairy Technology*, 61 (2), 119–125.
- [5] Badgujar, S.B., Mahajan, R.T. (2014). Nivulian-II a new milk clotting cysteine protease of *Euphorbia nivulia* latex. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 391–398.
- [6] Fox, P.F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P.L.H., O'Mahony, J.A. (2015). Chemistry and Biochemistry of Cheese. Chapter 12. Dairy chemistry and biochemistry. Springer International Publishing. Switzerland.
- [7] Çakmakçı, S. (2011). *Türkiye Peynirleri* (19. Bölüm: 585–614). In: Peynir Biliminin Temelleri. (Editörler: A.A. Hayaloğlu ve B. Özer), ISBN: 978-605-87976-1-1, SİDAS Medya Ltd. Şti., İzmir, 643 s.
- [8] Çakmakçı, S., Hayaloglu, A.A., Dagdemir, E., Cetin, B., Gurses, M., Tahmas-Kahyaoglu, D. (2014). Effects of *Penicillium roqueforti* and whey cheese on gross composition, microbiology and proteolysis of mould-ripened Civil cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 67(4), 594–603.
- [9] Şahan, N., Yaşar, K. (2002). Peynir üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(3), 21–30.
- [10] Jacob, M., Jaros, D., Rohm. (2011). Recent advances in milk clotting enzymes. A review. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 14–33.
- [11] Rolet-Repecaud, O., Arnould, C., Dupont, D., Gavoye, S., Beuvier, E., Achilleos, C. (2017). Quantification of pepsin in rennet using a monoclonal antibody-based inhibition ELISA. *Food Science and Technology*, 76, 190–196.
- [12] Shieh, C.J., Thi, L.A.P., Shih, I.L. (2009). Milk-clotting enzymes produced by culture of *Bacillus subtilis* natto. *Biochemical Engineering Journal*, 43, 85–91.
- [13] Yetişemiyen, A. (2007). Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 142 s.
- [14] Gürses, M., Çakmakçı, S. (2009). Şirdenden geleneksel olarak üretilen sıvı peynir mayalarının bazı kalite özellikleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, s: 881–884, 27–29 Mayıs, 2009, Van.
- [15] Hayaloglu, A.A., Cakmakci, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C., McSweeney, P.L.H. (2007). Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goats skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science*, 90, 1102–1121.
- [16] Çakmakçı, S., Dagdemir, E., Hayaloglu, A.A., Gurses, M., Gundogdu, E. (2008). Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 293–299.
- [17] GMO-Compass. (2012). Information on genetically modified organisms. <http://www.gmo-compass.org/eng/database/enzymes/83.chymosin.html>.
- [18] Dervişoğlu, M., Aydemir, O., Yazıcı, F. (2007). Peynir yapımında kullanılan pıhtılaştırıcı enzimler ve kazein fraksiyonları üzerine etkileri. *Gıda*, 32(5), 241–249.
- [19] Çakmakçı, S., Boroğlu, E. (2004). Some quality characteristics of commercial liquid rennet samples. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28, 501–505.
- [20] Koçak, C. (1979). Türkiyede Kullanılan Sıvı Şirden Mayalarının Değişik Saklama Koşullarında Dayanıklılığı Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ankara.
- [21] Uraz, T. (1979). Peynir mayalarında pıhtılaştırıcı gücünün (kuvvet) saptanması üzerine bir araştırma. *Gıda*, 4(3), 103–109.
- [22] Harrigan, W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.
- [23] TS EN ISO 4833–2 Gıda Zinciri Mikrobiyolojisi-Mikroorganizmaların Sayımı İçin Yatay Yöntem-Bölüm 2: Yayma Plak Tekniğiyle 30°C'ta Koloni Sayımı (ISO 4833-2:2013).2014. Türk Standartları Enstitüsü, Necati Bey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- [24] TS ISO 4832 (2010). Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi-Koliformların Sayımı İçin Yatay Yöntem- Koloni Sayım Tekniği. Türk Standartları Enstitüsü, Necati Bey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.

- [25] Speck, M.L. (1984). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington.
- [26] Pichhardt, K. (2004). Gıda Mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar). Literatür Yayıncılık, İstanbul.
- [27] Baumgart, J., Firnhaber, J., Spicher, G. (1986). Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Behr's Verlag Hamburg, Germany.
- [28] Anonymous (2007). Food and Drug Administration (FDA), Salmonella. Bacteriological Analytical Manual 8th Edition, Chapter 5.
- [29] Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (2007). Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi (Genişletilmiş 9. Baskı). Atatürk Üniv. Yay. No: 252/d, Ziraat Fak. Yay. No: 18, Erzurum.
- [30] TS 3844 Peynir Mayası Standardı (1996). Türk Standartları Enstitüsü, Necati Bey Cad. No: 112, Ankara.
- [31] Savello, P.A., Ernstrom, C.A., Kalab, M. (1989). Microstructure and meltability of model process cheese made with rennet and acid casein. *Journal of Dairy Science*, 72, 1–11.
- [32] Çakmakçı, S. (1996). Peynir lezzeti ve oluşumu I ve II. *Gıda*, 21(4), 261–272.
- [33] Addis, M., Piredda, G., Pirisi, A. (2008). The use of lamb rennet paste in traditional sheep milk cheese production. *Small Ruminant Research*, 79, 2–10.
- [34] Tekinşen, K.K., Uçar, G., Köseoğlu, İ.E. (2006). Hayvansal peynir mayalarının bazı kalite nitelikleri. *Avrasya Veteriner Bilimleri Dergisi*, 22(3–4), 69–73.
- [35] Uraz, T. (1976). Türkiye Peynirciliğinde Kullanılan Mayalar ve Bunların Elde Edildiği Şirdenler Üzerinde Araştırmalar. (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No. 625, Ankara.
- [36] Moschopoulou, E. (2011). Characteristics of rennet and other enzymes from small ruminants used in cheese production. *Small Ruminant Research*, 101, 188–195.
- [37] Moschopoulou, E., Kandarakis, I., Anifantakis, E. (2007). Characteristics of lamb and kid artisanal liquid rennet used for traditional Feta cheese manufacture. *Small Ruminant Research*, 72, 237–241.
- [38] Chitpinyol, S., Crabbe, M.J.C. (1998). Chymosin and aspartic proteinases. *Food Chemistry*, 61(4), 395–418.
- 
-

## Bireysel Hızlı Dondurma İşlemi Basamaklarının Granny Smith Elmaların Polifenol İçeriği ve Antioksidan Kapasitesine Etkileri

Senem Kamiloğlu 

Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Turanköy, 16540, Kestel, Bursa

Geliş Tarihi (Received): 27.01.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 14.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [senem@mvs.com.tr](mailto:senem@mvs.com.tr) (S. Kamiloğlu)

☎ 0 224 383 36 01 📠 0 224 383 31 23

### ÖZ

Granny Smith elmalar taze olarak tüketilebildiği gibi donmuş gıda sanayinde de yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Gıdaların üretim basamakları sırasında polifenol içeriğinde meydana gelen değişimlerin incelenmesi son ürünün besin değerini artırmak açısından önemlidir. Bu konu dikkate alınarak, bu çalışmada Granny Smith elmaların bireysel hızlı dondurma (IQF) işlemi sırasında çeşitli üretim basamaklardan alınan numunelerin polifenol içeriğinde meydana gelen değişimlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik ve flavonoid madde ile toplam antioksidan kapasitedeki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilmiş olup, polifenolik bileşiklerin tayini yüksek performanslı sıvı kromatografisi–fotodiyot dizi dedektörü (HPLC–PDA) kullanılarak kromatografik yöntemle yapılmıştır. HPLC–PDA ile yapılan analizler sonucunda hammaddede flavanoller, dihidrokalkonlar, fenolik asitler ve flavonoller dahil 4 gruba ait toplam 10 adet polifenolik bileşen tespit edilmiştir. Atık olarak ayrılan ürünlerin dihidrokalkonlar ve flavonoller açısından hammaddeden daha zengin olduğu görülmüştür (%140–378) ( $p<0.05$ ). Asitlendirme toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, toplam antioksidan kapasite, flavanoller ve fenolik asitlerin içeriğinde önemli artışlara neden olmuştur (%9–121) ( $p<0.05$ ). Kesim ve dondurma işlemlerinden sonra asitlendirmeye kıyasla düşüşler görülmüş olsa da, hammadde ve son ürün arasında toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, flavanol, dihidrokalkon ve fenolik asit içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlar IQF Granny Smith elmaların da taze elmalar gibi iyi bir polifenol kaynağı olduğuna işaret etmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Malus domestica* Borkh., IQF, Flavonoidler, Fenolik asitler, HPLC–PDA

### Effect of Individual Quick Freezing Steps on Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Granny Smith Apples

#### ABSTRACT

Granny Smith apples can be consumed as fresh or they are widely used in the frozen food industry. Determining the changes in polyphenol content during the production steps of foods is important for the nutritional value of the final product. The aim of this study was to determine the changes in the polyphenol content of Granny Smith apples taken from various steps of the individual quick freezing (IQF) treatment. Total phenolic content, total flavonoid content, and total antioxidant capacity were determined using spectrophotometric methods whereas the quantification of polyphenols were carried out by a chromatographic method using high performance liquid chromatography–photodiode array detector (HPLC–PDA). As a result of HPLC–PDA analysis, a total of 10 polyphenolic compounds belonging to 4 groups including flavanols, dihydrochalcones, phenolic acids and flavonols were identified in the raw material. Waste product was richer in dihydrochalcones and flavonols compared to raw material (140-378%) ( $p<0.05$ ). Acidification resulted in significant increases in total phenolic content, total flavonoid content, total antioxidant capacity, flavanols and phenolic acids (%9–121) ( $p<0.05$ ). Although there were decreases after cutting and freezing

steps compared to acidification, there was no statistically significant difference between the raw material and end product in terms of the total phenolic content, total flavonoid content, flavanols, dihydrochalcones and phenolic acids ( $p>0.05$ ). These results indicated that IQF Granny Smith apples are good sources of polyphenols, just as fresh apples.

**Keywords:** *Malus domestica* Borkh., IQF, Flavonoids, Phenolic acids, HPLC–PDA

## GİRİŞ

Elma (*Malus domestica* Borkh.) *Rosaceae* familyasının bir üyesi olup, dünyadaki en önemli ve en yaygın yetiştirilen ılıman meyvedir. Türkiye, Çin ve ABD'yi takip eden dünyanın en büyük üçüncü elma üreticisi ülkesidir [1]. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü'nün 2018 yılının Nisan ayında yayınladığı bir rapora göre, Türkiye'de üretilen toplam elma miktarı içerisinde Starking çeşidi %38.97 oranı ile ilk sırada yer alırken, Golden çeşidi %25.66 oranı ile ikinci, Amasya çeşidi %7.93 oranı ile üçüncü ve Granny Smith çeşidi %4.60 oranı ile dördüncü sırada yer almaktadır. Yüzdesel olarak üretim diğer bazı elma çeşitlerinden düşük olsa da, Granny Smith elma üretim hacmi son yıllarda artışa geçmiştir. Yine aynı raporda verilen istatistiklere göre, 2012 yılında Granny Smith elma üretimi 103 569 ton iken, 2016 yılında 134 448 tona ulaşmıştır [2].

Elma tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle ilgili patofizyolojik koşulları önleyerek, sağlık ve yaşam kalitesini artırdığı bilinmektedir [3, 4]. Görülen bu hastalıklara karşı koruyucu etkiler polifenoller ile özdeşleştirilmiştir. Polifenoller, bitkilerde sadece fizyolojik rol oynamakla kalmayıp aynı zamanda antioksidan özellikleri sayesinde insan sağlığı için de olumlu etkileri olan sekonder metabolitlerdir [5]. Elma zengin bir polifenol kaynağıdır (136 mg/100 g) ve nitekim, yeşil çay ve zeytinyağı gibi iyi bilinen iki polifenol kaynağı, elmadan daha düşük seviyede polifenol içermektedir (sırasıyla 89 ve 62 mg/100 g) [6].

Elma taze tüketilebildiği gibi meyve suyu, konserve, kurutulmuş meyve ve dondurulmuş meyve gibi çeşitli ürünlere işlenerek de tüketilmektedir [7]. Bireysel hızlı dondurma (IQF) doğranmış veya dilimlenmiş elmaların düşük sıcaklıklarda (-30 ile -40°C arasında) hava püskürtmeli akışkan yataklı dondurucuda dondurulması işlemi olup, konvansiyonel dondurmaya kıyasla çok daha kısa sürede gerçekleştirilmektedir. Dondurma işlemi sırasında hava güçlü fanlar yardımıyla gıda maddesi ile evaporatör arasında hızla hareket eder ve böylece durgun hava ile yapılan dondurma işlemine kıyasla gıda maddesinin daha kısa sürede dondurulması sağlanır. Akışkan yataklı dondurucularda dondurulan ürünler blok halinde değil taneler halinde donar ve bu şekilde her bir parçacığın ayrı ayrı donması işlemine IQF adı verilir. IQF işlemi ile gıdaların dondurulması konvansiyonel yöntemlere kıyasla gıdaların kalite özelliklerinin daha iyi korunmasını sağlamaktadır. Nitekim literatürde daha önce yapılan bir çalışmada, IQF yöntemi ile dondurulan meyvelerin toplam flavonoid madde miktarının konvansiyonel yöntemle dondurulan meyvelere kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür [8]. Gıda sanayinde IQF elma üretiminde, diğer elma

çeşitlerine kıyasla kararma hızı daha düşük olduğu için Granny Smith çeşidi tercih edilmektedir.

Gıdaların üretim basamakları sırasında polifenol içeriğinde meydana gelen değişimlerin incelenmesi son ürünün besin değerini artırmak açısından önemlidir. Literatürde dondurma işleminin elmanın kompozisyonuna etkisini inceleyen çalışmalar sınırlı olup [9], bilindiği kadarıyla daha önce yapılmış hiçbir çalışmada IQF işlemi basamaklarının Granny Smith elmaların polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesine etkileri incelenmemiştir. Yukarıdakiler dikkate alınarak, bu çalışmanın amacı Granny Smith elmaların IQF işlemi sırasında çeşitli üretim basamaklarından alınan numunelerde toplam fenolik maddede, toplam flavonoid maddede, toplam antioksidan kapasitede ve polifenol içeriğinde meydana gelen değişimleri değerlendirmektir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Isparta'nın Senirkent ilçesinden hasat edilen taze Granny Smith elmalar (*Malus domestica* Borkh.) 2018 yılının Mayıs ayında endüstriyel bir gıda işleme fabrikasında (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Turanköy, Bursa) Şekil 1'de verilen akım şemasına göre dondurulmuşlardır. Akım şeması üzerinde işaretlenen 5 farklı noktadan 3 farklı üretim günü numuneler toplanmıştır. Toplanan numuneler -20°C'de depolanmış ve ertesi hafta soğuk zincirle laboratuvara nakledilmiştir. Önceden soğutulmuş değirmen (IKA, Almanya) kullanılarak sıvı azot içinde yaklaşık 30 saniye boyunca ince bir toz halinde öğütülmüş ve analizlerden önce -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Analizlerde kullanılan tüm kimyasallar ve reaktifler, analitik veya HPLC derecesine sahip olup, aksi belirtilmediği takdirde Sigma-Aldrich'den (Almanya) temin edilmiştir.

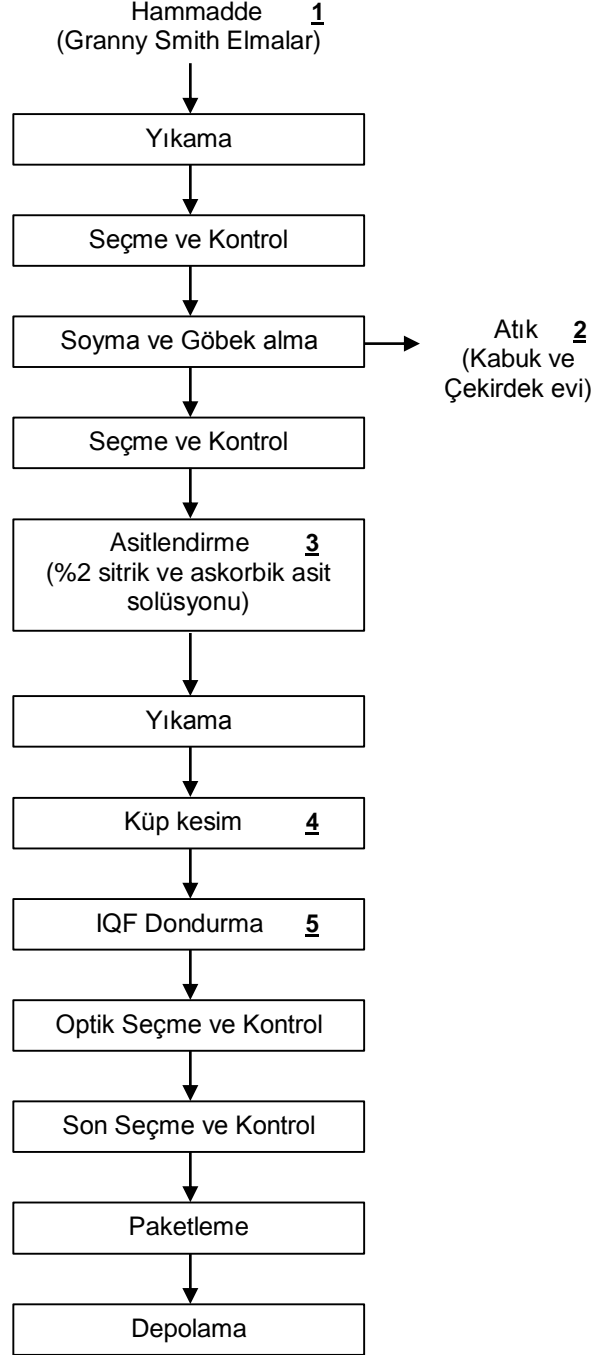
### Nem Tayini

Numunelerin nem içeriği Resmi Analitik Kimyacılar Derneği (AOAC) analiz yöntemi [10] referans alınarak belirlenmiştir. 2.00±0.01 g numune önceden tartılmış alüminyum kaplara alınmıştır. Numuneler nem içeriği dengeye ulaşıncaya kadar etüv (Memmert, Almanya) içerisinde 105°C'de kurutulmuşlardır. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra, kaplar etüvden çıkarılıp desikatörde soğumaya bırakılmış ve tekrar tartılmışlardır. Numunelerin nem miktarları yüzde (%) olarak ifade edilmiştir.

## Ekstraksiyon

Ekstraksiyonlar daha önce Kamiloğlu ve Capanoğlu'nun [5] çalışmasında belirtilen şekilde yapılmıştır. 2.00±0.01 g numuneye 5 mL %0.1 formik asit içeren %75 metanol (Merck, Almanya) solüsyonu ilave edilmiş ve 15 dakika soğutulmuş ultrasonik banyoda (VWR, ABD)

tutulmuştur. Sonrasında 4°C'de 10 dk. boyunca 2700 x g devirde santrifüjlenmiştir (Hettich, Almanya). Üst faz temiz bir tüpe alınarak, aynı işlemler bir kez daha tekrar edilmiştir. İki üst faz birleştirilip, son hacim 10 mL olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan ekstraktlar analizlerden önce -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Bireysel hızlı dondurulmuş (IQF) küp elma üretiminin akım şeması. 1: Hammadde, 2: Atık, 3: Asitlendirme, 4: Kesim, 5: Dondurma.

## Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde analizi daha önce Velioglu ve ark. [11] tarafından tarif edilen şekilde yapılmıştır. 100 µL

ekstrakt 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılıp 5 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 0.75 mL %6 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solüsyonu karışıma ilave edilmiş ve 90 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.



İnkübasyon süresinden sonra 725 nm'de spektrofotometre (Optima, Japonya) ile absorbans ölçümü yapılmıştır. Numunelerin toplam fenolik madde miktarları gallik asit standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 10–400 ppm,  $R^2= 0.999$ ), sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g kuru ağırlık (KA) olarak ifade edilmiştir.

### Toplam Flavonoid Madde Analizi

Toplam flavonoid madde miktarı daha önce Kim ve ark. [12] tarafından uygulanan şekilde tespit edilmiştir. 1 mL ekstrakta 0.3 mL %5 NaNO<sub>2</sub> eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 0.3 mL %10 AlCl<sub>3</sub> eklenmiş ve 1 dakika sonrasında karışıma 2 mL 1 M NaOH ilave edilmiştir. Hemen ardından 2.4 mL saf su eklenmiş ve 510 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçümü yapılmıştır. Numunelerin toplam flavonoid madde miktarları (+)-kateşin standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 10–400 ppm,  $R^2= 0.999$ ), sonuçlar mg kateşin eşdeğeri (KE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### Toplam Antioksidan Kapasite Analizleri

Toplam antioksidan kapasitenin tespiti için 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu) (ABTS), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) ve bakır (II) iyonu indirgenen antioksidan kapasitesi (CUPRAC) metotları uygulanmıştır. Literatürde daha önce yapılmış çalışmalarda gıdalarda antioksidan kapasite ölçümünün tek bir metot kullanılarak doğru değerlendirilmesinin mümkün olmadığı belirtilip, farklı çalışma prensiplerine sahip birden fazla metodun uygulanması tavsiye edilmiştir [13]. Bu nedenle bu çalışmada 4 farklı antioksidan kapasite analiz metodu uygulanmıştır.

ABTS metodu daha önce Miller ve RiceEvans [14] tarafından tarif edilen şekilde uygulanmıştır. ABTS stok solüsyonu (Applichem, Almanya) 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 8.0) içinde 734 nm'de 0.90±0.05 absorbans derecesine seyreltilmiştir. Sonrasında 100 µL ekstrakt, 1 mL ABTS-çalışma solüsyonu ile karıştırılmıştır. 1 dakika sonra 734 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçümü yapılmıştır. Numunelerin toplam antioksidan kapasiteleri Trolox® standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 1–100 ppm,  $R^2= 0.994$ ), sonuçlar mg Trolox® eşdeğeri (TE)/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

DPPH metodu daha önce Kumaran ve Karunakaran'ın [15] çalışmasında belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakt, 2 mL 0.1 mM metanolde çözünmüş DPPH reaktifi ile karıştırılmıştır. 30 dakika inkübasyondan sonra 517 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçülmüştür. Numunelerin toplam antioksidan kapasitesi Trolox® standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 10–100 ppm,  $R^2= 0.999$ ), sonuçlar mg TE/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

FRAP metodu daha önce Benzie ve Strain [16] tarafından belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakt 900 µL FRAP reaktifi (sırasıyla 10:1:1

oranlarında asetat tamponu (pH 3.6), 10 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) solüsyonu ve 20 mM FeCl<sub>3</sub> karışımı ile karıştırılmıştır. 4 dakika sonra 593 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçümü yapılmıştır. Numunelerin toplam antioksidan kapasiteleri Trolox® standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 10–100 ppm,  $R^2= 0.991$ ), sonuçlar mg TE/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

CUPRAC metodu daha önce Apak ve ark.'nın [17] çalışmasında belirtilen şekilde uygulanmıştır. 100 µL ekstrakt 1'er mL 10 mM CuCl<sub>2</sub>, 7.5 mM neokuproin, 1 M NH<sub>4</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub> ve saf su ile karıştırılıp, nihai hacim 4.1 mL'ye getirilmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 450 nm'de spektrofotometre ile absorbans ölçülmüştür. Numunelerin toplam antioksidan kapasiteleri Trolox® standart eğrisi kullanılarak belirlenip (lineer aralık: 10–600 ppm,  $R^2= 0.997$ ), sonuçlar mg TE/100 g KA olarak ifade edilmiştir.

### HPLC-PDA ile Polifenollerin Tayini

Numune ekstraktlarında bulunan polifenollerin tayini için daha önce Capanoglu ve ark. [18] tarafından tarif edilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. 0.45 µm membran filtreden geçirilen numune ekstraktları HPLC-PDA'ya (Waters, ABD) enjekte edilmiştir. Seperasyon için 250 x 4.6 mm, 5 µm Supelcosil LC-18 kolonu (Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmış olup, kolon sıcaklığı 40°C olarak ayarlanmıştır. Mobil faz A %0.1 trifloroasetik asit içeren ultra saf su olup, mobil faz B olarak %0.1 trifloroasetik asitli asetonitril kullanılmıştır. Kullanılan lineer gradyan şu şekildedir: 0 dk., %95 A ve %5 B; 45 dk., %65 A ve %35 B; 47 dk., %25 A ve %75 B; 49 dk., %65 A ve %35 B; 50 dk., %95 A ve %5 B. Akış hızı 1 mL/dk. ve enjeksiyon hacmi 10 µL olup; 280, 312 ve 360 nm'de spektral ölçümler yapılmıştır. Kateşin, epikateşin, klorojenik asit, kafeik asit, floridzin, kuersetin-3-galaktozid, kuersetin-3-glukozit ve kuersetin-3-ramnozid kendi otantik standartlarının harici kalibrasyon eğrileri kullanılarak mg/100 g KA şeklinde kantifiye edilmiş olup, kuersetin-3-ksilozit ve kuersetin-3-arabinozid miktarları ise kuersetin-3-glukozit standardı kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm polifenol standart eğrileri belirlenen konsantrasyon aralığında (0.1–200 ppm) doğrusallık göstermiştir ( $R^2 \geq 0.995$ ). Dedeksiyon limiti (LOD) ve tayin limiti (LOQ), sırasıyla 0.1–0.3 ppm ve 0.3–0.9 ppm aralığındadır.

### İstatistiksel Analiz

Tüm analizler 3 tekerrürlü olarak temin edilen numunelerde 3 paralelli ölçümler yapılarak gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Veriler SPSS yazılımı (IBM, ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabii tutulmuştur. Numuneler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (p<0.05). Spektrofotometrik analizler arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) Excel yazılımı (Microsoft, ABD) kullanılarak hesaplanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Nem İçeriği

IQF işlemi sırasında Granny Smith elmaların nem içeriklerinde meydana gelen değişimler Tablo 1'de verilmiştir. Hammadde için tespit edilen nem miktarı literatürde belirtilenden (%84) bir miktar düşük olup [19], atık, asitlendirme, kesim ve dondurma basamaklarından

alınan numunelerin nem içeriğinde artışlar meydana gelmiştir (%4–9). Nem miktarında meydana gelen bu artışların yıkamada ve asitlendirmede kullanılan sularının meyvenin yüzeyine tutunmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Numunelerin nem miktarlarındaki farklılıkları ortadan kaldırmak için, bu çalışmadaki tüm sonuçlar kuru ağırlık (KA) olarak ifade edilmiştir.

Tablo 1. Granny Smith elmaların bireysel hızlı dondurulması (IQF) esnasında farklı üretim basamaklarında nem miktarında, toplam fenolik madde miktarında, toplam flavonoid madde miktarında ve toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler

Analizler	Hammadde	Atık	Asitlendirme	Kesim	Dondurma
Nem içeriği (%)	81.2±0.7 c	85.1±0.9 bc	86.6±0.6 ab	90.4±3.0 a	87.0±0.2 ab
Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/100 g KA)	115.9±20.9 ab	88.4±20.8 b	154.5±26.8 a	92.2±12.0 b	86.3±21.3 b
Toplam flavonoid madde içeriği (mg KE/100 g KA)	322.7±36.8 b	271.2±44.2 b	428.1±34.7 a	264.1±14.8 b	233.8±31.9 b
ABTS (mg TE/100 g KA)	654.4±68.8 ab	530.0±90.6 bc	712.0±71.8 a	382.2±45.9 cd	298.8±13.8 d
DPPH (mg TE/100 g KA)	254.0±38.9 ab	179.2±31.7 c	304.6±19.7 a	251.2±26.7 abc	186.8±10.8 bc
FRAP (mg TE/100 g KA)	158.4±9.9 b	127.2±26.9 b	223.0±16.6 a	146.9±6.5 b	130.4±26.2 b
CUPRAC (mg TE/100 g KA)	1007.9±81.3 ab	692.2±170.4 c	1216.4±52.9 a	776.1±37.2 bc	697.3±139.2 c

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekerrürlü ve 3 paralelli olarak yapılmış ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $p < 0.05$ ).

### Toplam Fenolik Madde İçeriği

Taze Granny Smith elmalar için tespit edilen toplam fenolik madde içeriği (Tablo 1) literatürde daha önce belirtilen değerlere (440–670 mg GAE/100 g KA) kıyasla düşüktür [20, 21]. Görülen bu fark, meyvenin olgunluğu, uygulanan tarımsal işlemler, meyve toplandıktan sonra fabrikaya ulaşıncaya kadar muhafaza edilen depo sıcaklığı, süresi, oksijen veya ışık varlığı gibi koşullardaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Asitlendirme sonrası toplam fenolik madde miktarında %33 artış meydana gelirken, atık, kesim ve dondurma basamaklarından alınan numunelerde hammaddeye kıyasla %20–26 kayıplar görülmüştür. Folin-Ciocalteu sadece fenolik bileşenlere özgü olan bir test olmayıp, askorbik asit, sitrik asit, basit şekerler ve bazı amino asitler gibi indirgen bileşenleri de ölçerek, toplam fenolik madde içeriğinin gerçek değerinden fazla çıkmasına neden olabilmektedir [13]. Buna bağlı olarak asitlendirme sonrası görülen artışın sitrik ve askorbik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Atık olarak ayrılan ürünün toplam fenolik madde miktarının hammaddeye düşük olması ise oksidasyon reaksiyonu ile açıklanabilir. Kesim basamağına gelindiğinde toplam fenolik madde miktarında görülen kayıp ürünün asitten arınmasından kaynaklanıyor olabileceği gibi, kesimle birlikte meyvenin oksidatif strese maruz kalarak membranın zarar görmesinden de kaynaklanıyor olabilir [22]. İlaveten, dondurma işlemi sırasında oluşan buz kristalleri hücrelerde turgor basıncı kaybına ve hücre duvarının yapısının zarar görmesine sebep olmaktadır.

Dondurma basamağında görülen toplam fenolik madde miktarındaki azalış bu duruma bağlı oluşan enzimatik esmerleşme ve oksidasyon nedeniyle olmuş olabilir [23]. İşleme basamakları boyunca toplam fenolik madde miktarında bazı dalgalanmalar gözlenmiş olsa da, görülen bu değişimler hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemsizdir ( $p > 0.05$ ).

### Toplam Flavonoid Madde İçeriği

Granny Smith elmaların toplam flavonoid madde içeriğinde IQF işlemi basamaklarında görülen değişikliklerin trendi toplam fenolik madde içeriği için elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermiştir (Tablo 1). Diğer taraftan, hammadde için elde edilen toplam flavonoid madde miktarı literatüre kıyasla bir miktar daha yüksektir (119–220 mg KE/100 g KA) [24, 25]. Daha önce bahsedildiği üzere, bu farklılık meyve olgunluğu, depolama koşulları ve tarımsal işlemler gibi faktörlerden kaynaklanıyor olabilir. Toplam fenolik madde sonuçlarında olduğu gibi, asitlendirme toplam flavonoid madde miktarında da %33 artışa neden olurken, atık, kesim ve dondurma basamaklarından alınan numunelerde %16–27 azalışlar görülmüştür. Yukarıda belirtildiği üzere görülen bu değişimlerin sebebinin enzimatik esmerleşme ve oksidasyon reaksiyonları olduğu düşünülmektedir. Yine toplam fenolik madde sonuçlarında olduğu gibi toplam flavonoid madde miktarında meydana gelen bu düşüşler hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemsizdir ( $p > 0.05$ ). Bunlara ilaveten, Folin-Ciocalteu metodunda

olduğu gibi toplam flavonoid madde içeriğinin ölçülmesinde kullanılan kolorimetrik metot da sadece flavonoidlere özgü bir test değildir. Flavonoidlerin yanı sıra, fenolik asitler de bu testte oldukça güçlü bir reaksiyon verirken, flavanoller hariç çoğu flavonoid bu teste zayıf reaksiyon vermektedir [26]. Spektrofotometrik metotlarla elde edilen toplam fenolik ve toplam flavonoid madde sonuçlarının spesifik olmaması nedeniyle, bu çalışmada polifenollerin kromatografik yöntemle tayininin de yapılmasına karar verilmiştir.

### Toplam Antioksidan Kapasite

IQF işlemi basamaklarında Granny Smith elmaların toplam antioksidan kapasitede meydana gelen değişimler 4 farklı metot (ABTS, DPPH, FRAP ve CUPRAC) kullanılarak tespit edilmiştir (Tablo 1). En yüksek toplam antioksidan kapasite CUPRAC metodu ile elde edilmiş olup, daha sonra bu metodu sırasıyla ABTS, DPPH ve FRAP metotları takip etmiştir. Bu veriler literatürde daha önce farklı metotlar kullanarak Granny Smith elmaların toplam antioksidan kapasitesini ölçmüş bir çalışmada elde edilen sonuçlar (CUPRAC > ABTS > FRAP) ile uyumludur [20]. Gözlenen bu durum CUPRAC ve ABTS metotları ile gıda maddelerinde bulunan hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlar tespit edilebiliyorken, DPPH metodu ile sadece lipofilik antioksidanların ve FRAP metodu ile de sadece hidrofilik antioksidanların tespit edilebiliyor olmasından kaynaklanıyor olabilir. İlâveten, FRAP metodu yavaş kinetik özelliklere sahip olan antioksidan bileşenlerin protokol süresi içinde (4 dk.) reaksiyona giremediğinden

dolayı tespit edilemiyor olması nedeni ile de eleştirilmektedir [27]. Toplam fenolik ve toplam flavonoid madde sonuçlarında olduğunda gibi asitlendirme toplam antioksidan kapasitede de artışla (%9–41) sonuçlanmış olup, atık, kesim ve dondurma basamaklarından alınan numunelerde hammaddeye kıyasla daha düşük (%1–54) toplam antioksidan kapasite miktarı tespit edilmiştir. Diğer yandan, toplam fenolik ve toplam flavonoid madde sonuçlarından farklı olarak, CUPRAC ve ABTS metotları ile tespit edilen sonuçlara göre IQF işlemi görmüş elmalar hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemli miktarda daha az (%31–54) toplam antioksidan kapasiteye sahiptir ( $p < 0.05$ ).

### Spektrofotometrik Analizler Arası Korelasyonlar

Spektrofotometrik analizler arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) Tablo 2’de verilmiştir. Toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde arasında iyi bir doğrusal ilişki görülmüştür ( $R^2 = 0.838$ ). Kullanılan 4 farklı antioksidan kapasite ölçüm metodu arasında, en yüksek korelasyon CUPRAC ve FRAP metotları arasında tespit edilmiştir ( $R^2 = 0.900$ ). ABTS metodu hariç, toplam antioksidan kapasite ile toplam fenolik madde veya toplam flavonoid madde arasında da orta-iyi bir korelasyon görülmüştür ( $R^2 = 0.654–0.875$ ). Bu sonuçlar fenoliklerin ve flavonoidlerin incelenen elma örneklerinin antioksidan kapasitelerine önemli katkılarda bulunduğunu göstermektedir. Daha önce yapılmış başka bir çalışmada da elma örneklerinde toplam fenolik madde ve toplam antioksidan kapasite arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir [28].

Tablo 2. Spektrofotometrik analizler arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ )

Analizler	TFEM	TFLM	ABTS	DPPH	FRAP	CUPRAC
TFEM	1.000					
TFLM	0.838	1.000				
ABTS	0.453	0.684	1.000			
DPPH	0.728	0.654	0.376	1.000		
FRAP	0.875	0.851	0.447	0.744	1.000	
CUPRAC	0.819	0.864	0.641	0.723	0.900	1.000

TFEM: Toplam Fenolik Madde; TFLM: Toplam Flavonoid Madde

### Flavanoller

HPLC–PDA kullanılarak 280 nm’de yapılan analizler sonucunda incelenen numunelerde flavanollerden kateşin ve epikateşin tespit edilmiştir (Şekil 2). Granny Smith elmalarda kateşinin ve epikateşinin varlığı literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarla uyumlu olup, yapılan çalışmalarda bu bileşiklere ilâveten prosiyanidin B1 ve B2 de tespit edilmiştir [29, 30]. Prosiyanidinlerin UV ile deteksiyonu spesifik olmayıp, bu bileşenlerin tespiti için floresan dedektörü kullanmak daha hassas sonuçlar vermektedir. İlâveten, bu çalışmada ticari standartların olmaması da bu bileşiklerin analizini sınırlandırmıştır. Flavanoller elmaların hem içinde hem de dış kabuğunda bulunmasına rağmen [30], atık olarak ayrılan kabukça zengin kısımda hammaddeye kıyasla %85 daha az miktarda toplam flavanol tespit edilmiştir (Tablo 3). Spektrofotometrik olarak elde edilen sonuçlarda olduğu gibi, asitlendirme hammaddeye kıyasla toplam flavanol

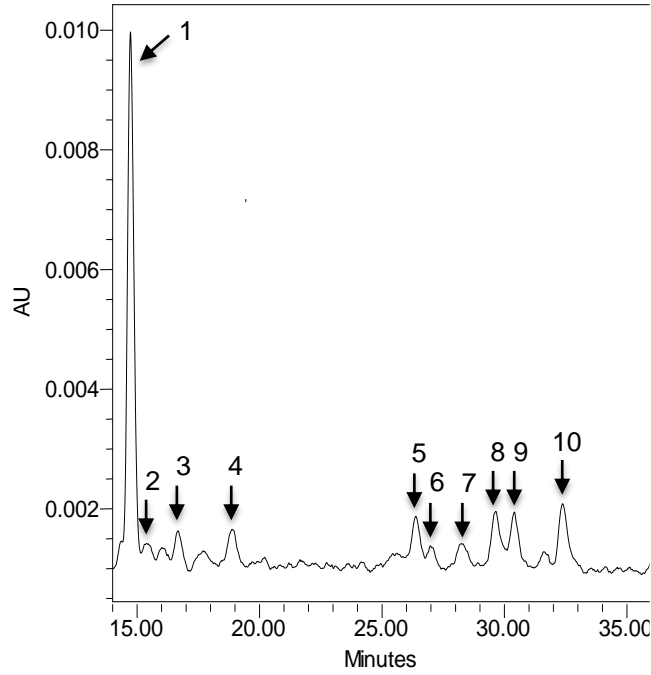
miktarında artışa neden olmuş olup (%121), kesim ve dondurma ise asitlendirmeye kıyasla %55 kadar azalışla sonuçlanmıştır ( $p < 0.05$ ). Asitlendirme sonucu görülen artış gıda matrisine bağlı flavanollerin asit ile 2 saat inkübasyonu sonucu serbest kalması ile açıklanabilirken, sonrasında görülen azalmanın sebebinin daha önce de bahsedildiği üzere enzimatik esmerleşme ve oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yine spektrofotometrik sonuçlarla uyumlu olarak, hammadde ve son ürün arasında toplam flavanol içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).

### Dihidrokalonlar

280 nm’de HPLC–PDA ile yapılan analizler sonucunda numunelerde dihidrokalonlar grubundan floridzin tespit edilmiştir (Şekil 2). Hammaddede atığa kıyasla istatistiksel olarak önemli derecede düşük miktarda floridzin bulunmuştur (%58) ( $p < 0.05$ ) (Tablo 3). Literatürde daha

önce yapılan çalışmalar Granny Smith elmalarının kabuğundaki floridzin konsantrasyonunun meyvenin içi ile karşılaştırıldığında çok daha yüksek olduğunu gösterdiği için [31], kabuk açısından zengin olan atığın hammaddeye daha yüksek miktarda floridzin içermesi

beklenen bir sonuçtur. Asitlendirme, kesim ve dondurma işlemleri sonrasında floridzin içeriği bakımından hammaddeye kıyasla istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ).



Şekil 2. Granny Smith elma hammaddeğinde bulunan polifenollerini gösteren HPLC–PDA kromatogramı.

1: Klorojenik asit, 2: Kafeik asit, 3: Kateşin, 4: Epikateşin, 5: Kuersetin-3-galaktozit, 6: Kuersetin-3-glukozi, 7: Kuersetin-3-ksilozit, 8: Kuersetin-3-arabinozit, 9: Kuersetin-3-ramnozi, 10: Floridzin

Tablo 3. Granny Smith elmaların bireysel hızlı dondurulma (IQF) işlemi öncesi ve sonrasında polifenol içeriğinde meydana gelen değişimler

Polifenoller	Hammadde	Atık	Asitlendirme	Kesim	Dondurma
<i>Flavanoller</i>					
Kateşin	11.5±3.3 b	0.9±0.03 c	26.0±2.2 a	7.9±0.8 b	9.2±3.1 b
Epikateşin	8.7±2.2 b	2.1±0.3 c	18.7±3.0 a	12.3±0.9 b	11.1±2.1 b
$\Sigma$ Flavanoller	20.2±5.5 b	3.0±0.2 c	44.7±5.2 a	20.2±0.8 b	20.3±5.1 b
<i>Dihidroalkonlar</i>					
Floridzin	1.5±0.5 b	3.6±1.0 a	1.6±0.2 b	1.1±0.2 b	0.8±0.4 b
<i>Fenolik asitler</i>					
Klorojenik asit	10.0±1.3 b	5.7±0.1 c	14.9±1.5 a	14.1±1.8 a	9.7±2.1 b
Kafeik asit	0.2±0.02 d	0.3±0.01 cd	0.5±0.1 ab	0.7±0.1 a	0.4±0.2 bc
$\Sigma$ Fenolik asitler	10.2±1.3 b	6.0±0.1 c	15.5±1.4 a	14.8±1.9 a	10.1±2.1 b
<i>Flavonoller</i>					
Kuersetin-3-galaktozit	6.4±2.4 b	42.7±7.4 a	-	-	-
Kuersetin-3-glukozi	1.8±0.5 b	14.1±2.8 a	-	-	-
Kuersetin-3-ksilozit	2.5±0.1 b	7.8±1.6 a	-	-	-
Kuersetin-3-arabinozit	4.3±0.9 b	12.8±2.0 a	-	-	-
Kuersetin-3-ramnozi	4.3±0.5 b	14.0±2.5 a	-	-	-
$\Sigma$ Flavonoller	19.2±4.3 b	91.8±14.6 a	-	-	-

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekerrürlü ve 3 paralelli olarak yapılmış ölçümlerin ortalama  $\pm$  standart sapma değerleridir. Tüm polifenol içerikleri mg/100 g KA olarak ifade edilmiştir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $p<0.05$ ).

### Fenolik Asitler

Fenolik asitlerin alt grubu hidroksisünamik asitlerden klorojenik asit ve kafeik asit HPLC–PDA ile 312 nm’de yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir (Şekil 2).

Klorojenik asit miktarı kafeik asite kıyasla çok daha yüksek olup (Tablo 3), tespit edilen miktar daha önce literatürde yapılmış çalışmalarla uyumludur [31]. Atık olarak alınan numunede hammaddeye kıyasla %41 kadar daha düşük miktarda toplam fenolik asit tespit

edilmiştir ( $p<0.05$ ). Granny Smith elmalardaki fenolik asitler meyvenin iç kısmında yer almaktadır [31]. Bu sebeple kabuk açısından zengin olan atık ürünün daha az miktarda fenolik asit içermesi beklenen bir sonuçtur. Flavanoller için elde edilen sonuçlarda olduğu gibi asitlendirme sonucunda toplam fenolik asit miktarı da hammaddeye kıyasla %52 kadar artmıştır ( $p<0.05$ ). Daha önce de belirtildiği üzere, görülen bu artışın gıda matriksine bağlı fenolik asitlerin sitrik ve askorbik asit ile uzun süre inkübasyonu sonucu serbest kalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kesim sonrası asitlendirmeye kıyasla önemli bir fark görülmezken ( $p>0.05$ ), dondurma işlemi sonrasında kesime kıyasla %32 azalma görülmüştür ( $p<0.05$ ). Bu azalma dondurma işlemi sırasında oluşan buz kristallerinin turgor basıncı kaybına ve hücre duvarının yapısının zarar görmesine neden olarak, bu duruma bağlı oluşan enzimatik esmerleşme ve oksidasyon reaksiyonlarından kaynaklanıyor olabilir [23]. Diğer polifenolik bileşiklerde olduğu gibi, hammadde ve son ürün arasında toplam fenolik asit içeriği bakımından da istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ).

### Flavanoller

Son olarak, HPLC–PDA ile 360 nm’de yapılan analizler sonucunda hammadde ve atıkta flavanoller grubundan 5 adet kuersetin glikozit türevi tespit edilmiştir. Tespit edilen bileşikler kuersetin-3-galaktozid, kuersetin-3-glukozid, kuersetin-3-ksilozit, kuersetin-3-arabinozid ve kuersetin-3-ramnozittir (Şekil 2). Kuersetin-3-galaktozid en yüksek miktarda tespit edilen flavanol olup, toplam flavanol miktarının %33–47’sini oluşturmaktadır. Atıkta tespit edilen toplam flavanol miktarı hammaddeye kıyasla yaklaşık 4 kat daha fazla bulunmuştur (Tablo 3) ( $p<0.05$ ). Asitlendirme, kesim ve dondurma işlemlerden sonra ise hiç flavanol tespit edilememiştir. Kuersetin glikozitlerinin elmanın sadece kabuğunda bulunduğu daha önce yayınlanmış çalışmalarda belirtilmiştir [32]. Bu bilgi dikkate alındığında elde edilen sonuçların literatür ile uyumlu olduğu söylenilebilir.

### SONUÇ

Bu çalışmada Granny Smith elmaların IQF işlemi sırasında hammaddeden dondurmaya kadar çeşitli üretim basamaklarından alınan numunelerin polifenol içeriğinde meydana gelen değişimler değerlendirilmiştir. Hammaddede flavanoller, dihidrokalkonlar, fenolik asitler ve flavanoller dahil 4 gruba ait toplam 10 adet polifenolik bileşen tespit edilmiştir. Atık olarak ayrılan ürünlerin dihidrokalkonlar ve flavanoller açısından hammaddeden daha zengin olduğu görülmüştür (%140–378) ( $p<0.05$ ). Asitlendirme toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, toplam antioksidan kapasite, flavanoller ve fenolik asitlerin içeriğinde önemli artışlara neden oluştur (%9–121) ( $p<0.05$ ). Kesim ve dondurma işlemlerinden sonra asitlendirmeye kıyasla düşüşler görülmüş olsa da, hammadde ve son ürün arasında toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, flavanol, dihidrokalkon ve fenolik asit içeriği bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlar IQF Granny Smith elmaların da

taze elmalar gibi önemli bir polifenol kaynağı olduğuna işaret etmiştir.

### KAYNAKLAR

- [1] Rana, S., Bhushan, S. (2016). Apple phenolics as nutraceuticals: Assessment, analysis and application. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1727-1738.
- [2] T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). Ürün Raporu Elma 2017. Erişim tarihi: Aralık, 2018. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge>.
- [3] Weichselbaum, E., Wyness, L., Stanner, S. (2010). Apple polyphenols and cardiovascular disease—a review of the evidence. *Nutrition Bulletin*, 35(2), 92-101.
- [4] Tu, S.H., Chen, L.C., Ho, Y.S. (2017). An apple a day to prevent cancer formation: Reducing cancer risk with flavonoids. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 119-124.
- [5] Kamiloglu, S., Capanoglu, E. (2015). Polyphenol content in figs (*Ficus carica* L.): Effect of sun-drying. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 521-535.
- [6] Pérez-Jiménez, J., Neveu, V., Vos, F., Scalbert, A. (2010). Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(S3), S112.
- [7] Taiwo, K., Angersbach, A., Knorr, D. (2002). Rehydration studies on pretreated and osmotically dehydrated apple slices. *Journal of Food Science*, 67(2), 842-847.
- [8] Şengül, Y. (2014). Farklı Dondurma Ve Çözündürme Metotlarının Nar Tanelerinin Fiziksel Ve Antioksidan Özellikleri Üzerine Etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [9] Chassagne-Berces, S., Fonseca, F., Citeau, M., Marin, M. (2010). Freezing protocol effect on quality properties of fruit tissue according to the fruit, the variety and the stage of maturity. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1441-1449.
- [10] AOAC. (1999). *Official Method of Analysis* (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- [11] Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- [12] Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.
- [13] Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Ozkan, G., Apak, R. (2018). Evaluation of antioxidant activity/capacity measurement methods for food products. In *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*, R. Apak, E. Capanoglu, & F. Shahidi, Editors., Chicester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd., p. 273-286.

- [14] Miller, N.J., Rice-Evans, C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radical Research*, 26(6), 195-199.
- [15] Kumaran, A., Karunakaran, R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1), 109-114.
- [16] Benzie, I.F., Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- [17] Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [18] Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., De Vos, R. (2008). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 964-973.
- [19] Cruz, A.C., Guiné, R.P., Gonçalves, J.C. (2015). Drying kinetics and product quality for convective drying of apples (cvs. Golden Delicious and Granny Smith). *International Journal of Fruit Science*, 15(1), 54-78.
- [20] Dalmau, M.E., Bornhorst, G.M., Eim, V., Rosselló, C., Simal, S. (2017). Effects of freezing, freeze drying and convective drying on in vitro gastric digestion of apples. *Food Chemistry*, 215, 7-16.
- [21] Santacatalina, J., Contreras, M., Simal, S., Cárcel, J., Garcia-Perez, J.V. (2016). Impact of applied ultrasonic power on the low temperature drying of apple. *Ultrasonics Sonochemistry*, 28, 100-109.
- [22] Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., De Vos, R.C., Hall, R.D. (2010). The effect of industrial food processing on potentially health-beneficial tomato antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10), 919-930.
- [23] Loncaric, A., Dugalic, K., Mihaljevic, I., Jakobek, L., Pilizota, V. (2014). Effects of sugar addition on total polyphenol content and antioxidant activity of frozen and freeze-dried apple purée. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(7), 1674-1682.
- [24] Santacatalina, J., Rodríguez, O., Simal, S., Cárcel, J., Mulet, A., García-Pérez, J.V. (2014). Ultrasonically enhanced low-temperature drying of apple: Influence on drying kinetics and antioxidant potential. *Journal of Food Engineering*, 138, 35-44.
- [25] Ertekin Filiz, B., Seydim, A.C. (2018). Kinetic changes of antioxidant parameters, ascorbic acid loss, and hydroxymethyl furfural formation during apple chips production. *Journal of Food Biochemistry*, 42(6), e12676.
- [26] Ho, Y.C., Yu, H.T., Su, N.W. (2012). Re-examination of chromogenic quantitative assays for determining flavonoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), 2674-2681.
- [27] Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S.E., Bektasoglu, B., Berker, K.I., Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- [28] Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T., Rupasinghe, H.V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(5), 396-401.
- [29] Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6532-6538.
- [30] Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Psomas, A., Zovoili, A., Siatis, V. (2009). Polyphenolic profile and antioxidant activity of five apple cultivars grown under organic and conventional agricultural practices. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(6), 1167-1175.
- [31] Karaman, Ş., Tütem, E., Başkan, K.S., Apak, R. (2013). Comparison of antioxidant capacity and phenolic composition of peel and flesh of some apple varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 867-875.
- [32] Erdoğan, S.S., Demirci, M. (2015). Fitokimyasal kaynağı elma posası. *Akademik Gıda*, 13(3), 265-271.

## Organik ve Konvansiyonel Memecik Çeşidi Yeşil Zeytinler Arasındaki Fiziksel, Kimyasal ve Pomolojik Özellikler Açısından Farklılıklar

Seçil Küçükyaşar , Fikret Pazır 

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 04.03.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 17.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [fikret.pazir@gmail.com](mailto:fikret.pazir@gmail.com) (F. Pazır)

☎ 0 232 311 30 01 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Çalışmada organik ve konvansiyonel olarak yetiştirilen Memecik çeşidi zeytinlerin fiziksel, kimyasal ve pomolojik analizleri yapılarak ürünler arasındaki farklılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır. Pomolojik özelliklerden dane ağırlığı, dane boyu ve meyvenin et oranı organik yeşil zeytinlerde konvansiyonel yeşil zeytinlere kıyasla daha düşük bulunarak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark elde edilmiştir ( $p<0.05$ ). Dane enleri ve et/çekirdek oranları arasında ise anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde, organik zeytinlerde toplam kurumadde ve pH değerlerinin konvansiyonellere göre önemli derecede düşük ( $p<0.05$ ), titrasyon asitliği ve oleuropein değerlerinin ise önemli derecede yüksek ( $p<0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Toplam şeker, protein, yağ, kül ve toplam fenolik içerikleri kurumadde bazında incelendiğinde organik zeytinlerde daha yüksek değerler elde edilmiştir ( $p<0.05$ ). Zeytinlerin renk değerleri kıyaslandığında, organik zeytinlerde  $L^*$  ve  $b^*/a^*$  değerleri, konvansiyonel zeytinlerde ise  $a^*$  ve  $a^*/b^*$  değerleri önemli derecede yüksek ( $p<0.05$ ) bulunurken,  $b^*$  değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.  $H^\circ$  değerlerinin organik zeytinlerde anlamlı derecede yüksek ( $p<0.05$ ) bulunurken, C değerleri arasında fark tespit edilmemiştir. Elde edilen  $\Delta E$  değeri ile organik ve konvansiyonel zeytinler arasında renk farkı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Organik, Konvansiyonel, Yeşil zeytin, Memecik, Farklılıklar

### Differences in Physical, Chemical and Pomological Properties between Organic and Conventional Memecik Varieties of Green Olives

#### ABSTRACT

The aim of this study is to determine the differences in the pomological, physical and chemical characteristics between the conventionally and organically cultivated Memecik varieties of green olives. The olive weight, the olive length and the flesh/seed ratio, considered as pomological properties, were found in organic green olives at a lower level than the conventional green olives, and statistically significant differences were determined between these two groups ( $p<0.05$ ). However, significant differences were found in the olive width and flesh/seed ratios between olives. Chemical analysis results indicated that the total dry matter and pH values of organically cultivated olives were significantly lower ( $p <0.05$ ) while the titratable acidity and oleuropein values were significantly higher ( $p <0.05$ ) than those of the conventional ones. In terms of the total sugar, protein, fat, ash and total phenolic contents on dry matter basis, higher values were obtained in organic olives ( $p<0.05$ ) than the conventional ones. The color parameters as  $L^*$  value and  $b^*/a^*$  ratio were higher in organically produced green olives. In contrast,  $a^*$  value and  $a^*/b^*$  ratio were measured at significantly higher levels in the conventionally cultivated green olives ( $p <0.05$ ). In addition, there was no significant difference in  $b^*$  values between two different cultivation methods.  $H^\circ$  value was determined at significantly higher levels in organic olives. In addition, there was no significant difference in C values between two different cultivation methods. Based on the  $\Delta E$  value, the color difference was significant between organic and conventional green olives ( $p<0.05$ ).

**Keywords:** Organic, Conventional, Green olives, Memecik, Differences

## GİRİŞ

Zeytin Oleacea familyası içinde yer alan, anavatanı Yukarı Mezopotamya ve Güney Ön Asya olan, günümüzde 20. yüzyılın bitkisi olarak gösterilen ve yüzyıllardır önemini yitirmemiş bir meyvedir. Türkiye dünya sofralık zeytin üretiminde 2013 - 2017 yıllarında Avrupa Birliği ülkeleri, Mısır, Cezayir, Fas ve Suriye ile en önemli üretici ülkelerden biri konumundadır [1]. Türkiye 2017 itibarıyla dünyada zeytin üretiminde %10'luk ve ekim alanında %7.8'lik bir paya sahiptir [2].

Türkiye'de 90'ın üzerinde zeytin çeşidi bulunmakla birlikte, 17 çeşidi ticari değere sahiptir. Bunlar, Memecik, Ayvalık (Edremit), Gemlik, Domat, Uslu, Memeli, Manzanilla, Edincik Su, İzmir Sofralık, Çelebi, Tavşan Yüreği, Halhalı, Yamalak, Karamürsel Su, Çilli, Kaba ve Erkence'dir. Memecik çeşidi %74'lük pay ile zeytin varlığımızın en yaygın çeşidini oluşturmaktadır [3, 4]. Zeytin çeşitleri yağlık ve sofralık olarak iki ayrı grupta değerlendirilse de ülkemizde yağlık zeytinler sofralık zeytin olarak da kullanılmaktadır. Zeytin meyvesinde aranan önemli özellikler arasında dane ağırlığı ve yağ oranı olduğu belirtilmiştir [4].

Zeytin, %33 oranlarında yenebilir yağ içeriği ile insan beslenmesinde temel bir besin maddesi olmaktadır. Bünyesinde bulunan mineraller, proteinler, aroma maddeleri ve vitaminler, özellikle sadece yağlardan naturel olarak alınan A ve E vitaminleri, dengeli ve sağlıklı beslenme yönünden değerini arttırmaktadır [4]. Zeytinde bulunan fenolik bileşenlerden biri olan oleuropein acı bir tat olarak hissedilmektedir. Bu maddenin sağlık üzerinde düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL)'in oksidasyonunu önlemesi, hipoglisemik ve kolesterolemik etkileri ile büyük önem taşıdığı belirtilmektedir [4, 5, 6, 7, 8]. Zeytinde bulunan fenolik bileşenlerin, zeytin meyvesinin mezokarp, pulp ve çekirdek kısımlarında buldukları ve patojenlere karşı doğal koruma sağladıkları ifade edilmektedir [9].

Organik tarım, ülkelere göre dil farklılıkları sebebiyle farklı isimlerle ifade edilmektedir. Örneğin, İngiltere'de organik (organic), Almanya'da ekolojik (ökologisch) ve Fransa'da biyolojik (biologique) kelimeleri kullanılmaktadır [10]. Uluslararası Organik Tarım Hareketi Federasyonu (IFOAM) tarafından Organik tarım "Sentetik gübrelerin ve pestisitlerin kullanılmasını önleyen, hava, toprak ve su kirliliğini en aza indiren ve toprak, ekosistem, insan sağlığını sürdüren bütünsel bir üretim yönetim sistemi" olarak tanımlanmıştır [11]. Organik tarımda gübre olarak hayvan gübreleri, yeşil gübreler, kompost, turba toprağı, hümik asit gibi toprak iyileştiriciler kullanılmaktadır [12]. Organik tarım izlenebilir, kayıtlı ve şeffaf bir yönetim sistemini benimseyen, tüm aşamalarında bağımsız sertifikasyon kuruluşları ve müfettişleri tarafından kontrol edilen ve sertifikalandırılan sürdürülebilir tarım sistemlerinden biridir. Bu sertifika, organik ve konvansiyonel olarak yetiştirilen ürünlerin ayırt edilmesinde kullanılıp sağlıklı yaşamayı ve doğayı korumayı hedefleyen tüketicilere bir güvence olarak görülmektedir [10].

Tüketici bilincinin artması organik tarımı günden güne önemli kılmaya başlamış ve her iki tarım sistemi ile üretilen ürünlerinin özelliklerinin kıyaslanmasını doğurmuştur. Ülkemizde 2002 yılında 89827 hektar alanda üretilen organik ürün miktarı 310.125 ton iken, 2017 verilerine göre organik tarım alanı 6 kat büyüme ile 543.033 hektar alanda 2.406.606 ton organik ürün üretimi ile üretimini yaklaşık 8 katına çıkarmıştır [13]. Ülkemizde 2017 yılındaki verilere göre üretilen organik zeytin miktarı 229.526.984 tondur ve toplam organik ürün üretiminde %14.25'lik paya sahiptir [14].

İncelenen literatür taraması sonucunda farklı meyve ve sebzelerde organik ve konvansiyonel yetiştirme yönteminin kıyaslandığı çalışmalara rastlanılmıştır [34-37, 39]. Zeytinde bu konuda sınırlı çalışmalara ve bu çalışmalarda belli özelliklerin incelenmesine rastlanılmış ve çalışmamızda daha fazla özellik incelenerek organik ve konvansiyonel yetiştirilen Memecik çeşidi yeşil zeytinlerin özelliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Çalışmamızda sofralık yeşil zeytin olarak değerlendirilmek üzere İzmir Kemalpaşa bölgesinde organik ürün sertifikası olan bir üreticiden Memecik çeşidi organik yeşil zeytinler ve yine aynı bölgede başka üreticiden temin edilen Memecik çeşidi konvansiyonel yeşil zeytinler kullanılmıştır. Zeytinler her iki üreticiden de 3 tekrar ve her tekrarda bütünü temsil eden 6 ağaçtan 1'er kg olarak sıyırma şeklinde eş-zamanlı olarak toplanmıştır. Zeytinlerin hasat zamanında olgunluk indeksi metodu dikkate alınarak, 0.5 ve 1. olgunluk indeksi arasında olan zeytinler hasat edilip analiz yapıncaya kadar Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde +4°C ve %85-90 bağıl nemli ortamda saklanmıştır [15, 16].

### Metot

#### Pomolojik Analizler

Zeytinlerin dane ağırlıkları, dane boyutları Çetin ve ark.[17]'a, et-çekirdek oranı Uylaşer ve ark. [18]'a ve meyvenin et oranı Kaya ve ark. [19]'a göre belirlenmiştir.

#### Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Zeytinlerde kül değerleri ve toplam kurumadde miktarları AOAC [20], protein (N\*6.25) değerleri (Leco FP-528 Protein/Nitrogen Determinator, ABD) Kjeldahl yöntemi kullanılarak AOAC [21] standart metoduna göre belirlenmiştir. Yağ değerleri Soxhlet ekstraksiyon cihazında n-hekzan kullanılarak Doğan ve Başoğlu [22]'a, toplam şeker (Luff-Schoorl metodu), titrasyon asitliği (potansiyometrik titrasyon yöntemi) ve pH değerleri (WTW InoLab model pH-metre) Cemeroğlu [23]'a göre belirlenmiştir. Acılık (oleuropein) miktarları (Varian 50 Bio UV-Visible model) spektrofotometre ile 345 nm dalga boyunda absorbans okumaları yapılarak bulunmuştur [24]. Toplam fenolik madde miktarı ise (Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak) Singleton ve Rossi



[25] ile Singleton ve ark.'nın [26] uyguladığı metodun modifiye edilmesi ile gallik asit cinsinden (GAE) belirlenmiştir. Örneklerin renk tayini üç boyutlu renk ölçümü esasına göre çalışan Konica Minolta Chroma Meter CR- 400, Japonya cihazı kullanılarak yapılmıştır. Hesaplamalarda CIE L\*, a\* ve b\* renk skalası kullanılmıştır [27]. Toplam renk farklılığını gösteren ( $\Delta E$ ) değeri Eşitlik 1 yardımıyla [28], kroma (C) ve Hue açısı ( $H^\circ$ ) değerleri de Eşitlik 2 ve 3 yardımıyla hesaplanmıştır [29]. Eşitlik 1'de belirtilen L\*, a\* ve b\* değerleri için organik zeytin verileri, L<sub>0</sub>\*, a<sub>0</sub>\* ve b<sub>0</sub>\* değerleri için ise konvansiyonel zeytin verileri kullanılmıştır. H° değerlerinin 0°, 90°, 180°, 270° ve 360° olması sırasıyla; kırmızı, sarı, yeşil, mavi ve kırmızı rengi belirtmektedir [29].

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

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

$$H^\circ = \tan^{-1}(b/a) \quad (3)$$

Çalışmada gerçekleştirilen fiziksel ve kimyasal analizler meyve etinde yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olacak şekilde kaydedilerek SPSS 20.0 paket programı (SPSS Inc., ABD) ile %95 güven aralığında istatistik t-testi ile test edilmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Organik ve konvansiyonel Memecik çeşidi yeşil zeytinlerin arasındaki farklılıkları incelemek üzere pomolojik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Memecik çeşidi organik ve konvansiyonel yeşil zeytinlerin pomolojik analiz sonuçları

	Organik Zeytin	Konvansiyonel Zeytin
Dane Ağırlığı (g)	4.80±0.23*	5.86±0.08*
Dane Boyu (mm)	24.89±0.15*	26.52±0.33*
Dane Eni (mm)	18.87±0.47	19.66±0.26
Meyvenin Et Oranı <sup>a</sup> (%)	78.09±0.31*	79.28±0.21*
Et/Çekirdek Oranı	3.72±0.03	3.85±0.08

\*: p<0.05 düzeyinde anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir.

<sup>a</sup>: (Meyve eti/Meyve ağırlığı) \*100

Tablo 1 incelendiğinde konvansiyonel yeşil zeytinlerin organik zeytinlere göre dane ağırlığı, dane boyu ve meyvenin et oranı daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür (p<0.05). Ayvalık çeşidi organik ve konvansiyonel zeytinlerde yapılan bir çalışmada elde edilen verilerde organik ürünlerde meyve iriliği daha düşük bulunmuştur [30]. Konvansiyonel Memecik çeşidinde yapılan farklı bir çalışmada ise meyve et oranının %88.8 ve meyve sayısının kg'da 209 adet olduğunu belirtilmiştir [31]. Biricik ve Başoğlu [32]'un farklı çeşitte konvansiyonel zeytinlerin (Samanlı, Domat, Manzanilla, Ascolana) pomolojik özelliklerini incelediği çalışmasında dane ağırlıklarının 3.76-7.88 g, dane uzunluklarının 21.32-29.17 mm ve meyve et oranlarının %79.86-85.43 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Araştırmamızda organik ve konvansiyonel zeytinlerde dane enleri ve et/çekirdek oranları arasında istatistiksel açıdan bir fark görülmemiştir. Konvansiyonel Memecik çeşidi zeytinde yapılan farklı bir çalışmada, meyve özelliklerinden 100 dane ağırlığı, kg'daki dane miktarı, meyve boyu, et/çekirdek oranı analizlerinden alınan sonuçlarda yıllar arasında istatistiksel açıdan farklılık görülmüş ve organik zeytinlerin dane eni daha yüksek bulunmuştur [31]. Farklı konvansiyonel zeytin çeşitlerinde yapılan araştırmalarda et/çekirdek oranlarının 3.43 ile 5.90 arasında değiştiği ve olgunlaşmanın et/çekirdek oranını azaltıcı etkisi olduğu görülmüştür [24, 33]. Nitekim araştırmamızda organik ve konvansiyonel zeytinlerde bulunan et/çekirdek oranları sırasıyla 3.72 ile 3.85 bulunarak bu değerler arasında yer almaktadır. Savaş ve Uylaşer [33]'in yaptığı çalışmada meyve boyutlarındaki değişime

periyodisitenin etki edebileceği belirtilmiştir. Literatürde, konvansiyonel fındıklarda meyve genişliği, iç meyve uzunluğu, meyve ağırlığının daha yüksek olduğu, taze domateslerde konvansiyonel olanların daha iri olduğu, taze kırmızıbiberlerde konvansiyonel olanlarda meyve ağırlığı ve çapının daha yüksek olduğu, meyve boyunun ise yıllara göre hem organik hem de konvansiyonelde yüksek bulunduğunu belirtilmiştir [34-36].

Organik ve konvansiyonel Memecik çeşidi yeşil zeytinlerin arasındaki farklılıkları incelemek üzere fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 2'de ve Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 2 incelendiğinde organik yeşil zeytinlerde toplam kurumadde ve pH değerleri daha düşük, titrasyon asitliği ve oleuropein değerleri ise konvansiyonelle kıyasla daha yüksek bulunarak istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir (p<0.05).

Araştırmamızda organik ve konvansiyonel zeytinlerin toplam kurumadde değerleri sırasıyla %31.68 ve %38.67'dir (p<0.05). Konvansiyonel zeytin ile ilgili yapılan bir çalışmada farklı zeytin çeşitlerinde kurumadde verilerinin %23.88 ile %55 arasında değişkenlik gösterdiği görülmüştür [32, 33]. Farklı meyvelerde (çilek, domates) organik ve konvansiyonel yetiştirme koşulları sonucundaki farklılıklar incelendiğinde, organik meyvelerin daha yüksek kurumadde içerdiği belirtilmiştir [36, 37]. Organik ve konvansiyonel taze kırmızıbiberlerde toplam kurumadde değerleri arasında uygulanan yetiştirme koşulları açısından anlamlı bir fark tespit edilmemiştir [34]. Huber ve ark. [38], 19 organik ve konvansiyonel meyve ve

sebzenin kurumadde içeriğini karşılaştırdığında 10 tanesinde organik ürünlerin %20 daha yüksek kurumadde içeriğine sahip olduğunu saptamıştır. Gastol ve ark. [39], organik armut, frenk üzümü, pancar ve kerevizlerde kurumadde içeriğini daha yüksek, organik

havuç ve elmalarda ise daha düşük olarak tespit etmişlerdir. Farklı bir çalışmada ise konvansiyonel patateslerin daha yüksek kurumadde içerdiği ortaya konulmuştur [40].

Tablo 2. Memecik çeşidi organik ve konvansiyonel yeşil zeytinlerin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

	Organik	Konvansiyonel
Toplam Kurumadde (%)	31.68±0.07*	38.67±0.17*
Toplam Şeker <sup>b</sup> (%)	4.28±0.03*	2.22±0.05*
Protein <sup>b</sup> (%)	2.01±0.01*	1.85±0.01*
Yağ <sup>b</sup> (%)	15.77±0.14*	16.05±0.01*
Kül İçeriği <sup>b</sup> (%)	1.25±0.01*	1.42±0.01*
pH	5.02±0.01*	5.23±0.01*
Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit Cinsinden)	0.47±0.01*	0.37±0.01*
Oleuropein (Absorbans)	2.65±0.02*	2.41±0.03*
Toplam Fenolik Madde İçeriği <sup>b</sup> (mg (GAE) /100 g)	82.33±0.57	81.67±0.49
L* değeri	54.50±0.72*	50.14±0.41*
a* değeri	-13.89±0.27*	-15.13±0.05*
b* değeri	42.23±0.17	42.17±0.08
a*/b* değeri	-0.33±0.01*	-0.36±0.00*
b*/a* değeri	-3.04±0.06*	-2.79±0.01*
C değeri	44.46±0.21	44.79±0.09
H° değeri	7.97±0.95*	2.69±0.40*

\*: p<0.05 düzeyinde anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir. <sup>b</sup>: Yaş ağırlık bazında verilmiştir.

Tablo 3. Memecik çeşidi organik ve konvansiyonel yeşil zeytinlerin kurumadde bazında (KM) analiz sonuçları

	Organik	Konvansiyonel
Toplam Şeker (%KM)	13.52±0.11*	5.74±0.12*
Protein (%KM)	6.35±0.51*	4.78±0.25*
Yağ (%KM)	49.78±0.44*	41.50±0.17*
Kül İçeriği (%KM)	3.94±0.51*	3.67±0.25*
Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE / 100 g KM)	259.19±0.91*	211.37±0.89*

\*: p<0.05 düzeyinde anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir.

Tablo 2'de organik ve konvansiyonel zeytinlerin titrasyon asitliği (laktik asit cinsinden) %0.47 ve %0.37, pH değerleri ise sırasıyla 5.02 ve 5.23 olarak verilmiştir (p<0.05). Domateslerde yapılan iki farklı çalışmada titrasyon asitliği konvansiyonel örneklerde daha yüksek bulunarak anlamlı bir fark tespit edilirken, taze kırmızıbiber ve elmada yapılan iki ayrı çalışmada organik ve konvansiyonel ürünlerin asitlikleri arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır [34, 36, 41, 42]. İncelenen çalışmalarda, pH değerlerinin de titrasyon asitliği değerlerinde olduğu gibi farklı meyve ve sebzelerde değişkenlik gösterdiğine dair bulgulara rastlanılmıştır. Organik ve konvansiyonel elma ve domateste pH değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı, konvansiyonel taze kırmızıbiberde pH değerinin daha yüksek bulunduğu bu çalışmalara örnektir [34, 41, 43].

Araştırmamızda organik zeytinlerin oleuropein absorbans değeri 2.65 ve konvansiyonel zeytinlerin 2.41 bulunarak istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir (p<0.05). İncelenen bir çalışmada zeytinin en temel fenolik glikoziti olan oleuropeinin çeşide göre değiştiği ve zeytinin olgunlaşması ile azaldığı belirtilmiştir [44]. Konvansiyonel Domat çeşidi zeytinlerde farklı yıllarda ölçülen oleuropeinin absorbans değerleri 1.12 ve 1.14 olarak verilmiştir [33]. Biricik ve Başoğlu [32] yaptıkları araştırmada dört çeşit zeytinde (Samanlı, Domat,

Manzanilla, Ascolana) oleuropein değerlerini 0.178–0.309 absorbans arasında düşük değerlerde bulmuştur. Acılığını ağaç üzerinde kaybeden konvansiyonel Hurma zeytininde yapılan bir çalışmada ise oleuropein absorbans değeri 0.52 olarak düşük değerde bulunmuştur [45].

Tablo 2 ve 3 incelendiğinde toplam şeker ve protein değerleri gerek yaş bazda gerekse kurumadde bazında organik zeytinlerde konvansiyonele kıyasla anlamlı derecede (p<0.05) yüksek bulunmuştur. Yağ ve kül değerleri incelendiğinde ise yaş bazda organik zeytinlerde değerler düşük çıkmasına karşın, kurumadde bazında irdelendiğinde ise organik ürünlerde değerlerin daha yüksek olduğu görülmektedir (p<0.05). Her iki tabloda da fenolik madde miktarları incelendiğinde değerlerin organik zeytinlerde daha yüksek olduğu fakat, yaş bazda değerler arasında anlamlı bir fark elde edilemezken, kurumadde bazında anlamlı (p<0.05) bir fark elde edildiği görülmektedir.

Araştırmamızda yaş ve kurumadde bazında organik zeytinlerin toplam şeker miktarları sırasıyla %4.28, %13.52 ve konvansiyonel zeytinlerin %2.22, %5.74 olarak bulunmuştur (p<0.05). Yapılan farklı çalışmalarda zeytinde bulunan toplam şeker miktarının %2-4 arasında olduğu, konvansiyonel zeytinlerden Memecik çeşidinde yaklaşık %2.9, Gemlik çeşidinde %4.62, Domat

çeşidinde %3.3-3.71 arasında, Ayvalık çeşidinde %0.80 olduğu tespit edilmiştir [33, 46]. Toplam şeker miktarının zeytin çeşitleri arasında değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Olgunlaşmanın da toplam şeker miktarını azaltıcı yönde bir etkisi olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [47]. Farklı çalışmalar incelendiğinde, Suja ve ark. [48], tropikal bir bitki olan taroda organik örneklerin, Cayuela ve ark. [49], organik çileklerin konvansiyonellere kıyasla daha yüksek şeker içerdiğini belirterek önemli bir farklılık tespit etmiştir. Domateslerde yapılan iki ayrı çalışmada ise organik olanların daha yüksek şeker içerdiği saptanarak anlamlı bir fark gözlenmiştir [36, 50].

Çalışmamızda yaş ve kurumda bazında organik zeytinlerin protein miktarları sırasıyla %2.01, %6.35 ve konvansiyonel zeytinlerin %1.85, %4.78 olarak bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Zeytin meyvesinin yaklaşık %1.5-3'ünü proteinin oluşturduğu belirtilmiştir [44]. Konvansiyonel zeytinlerde yapılan iki ayrı çalışmada protein değerleri ile ilgili Domat çeşidinde iki farklı yıl için %1.57-1.58 ve Gemlik, Edincik çeşitleri için sırasıyla %1.67 ve %1.16 bulguları tespit edilmiştir [33, 51]. Başka bir çalışmada farklı çeşitte zeytinlerde protein değerleri %1.34-2.15 arasında saptanmıştır [32]. Farklı meyve ve sebzelerde yapılan çalışmalar incelendiğinde, organik taze domateslerde protein miktarı, konvansiyonele kıyasla daha yüksek bulunurken, taze kırmızıbiber ve marulda protein içerikleri açısından aradaki farkın önemsiz olduğu bulunmuştur [34, 36, 52]. Bourn ve Prescott [53] organik yetiştirilen mısırlarda protein içeriğinin konvansiyonele kıyasla daha düşük olduğunu belirtmektedir.

Zeytin meyvesinin bileşiminin %10-30 unu yağın oluşturduğu belirtilmektedir [33]. Araştırmamızda Tablo 2 ve Tablo 3' te belirtilen yaş ve kurumda bazında yağ içerikleri sırasıyla konvansiyonellerde %16.05, %41.50 ve organik zeytinlerde %15.77, %49.78 olarak bulunmuştur. Kaleci [30] yaptığı araştırmada, Ayvalık çeşidi organik zeytinlerin yağ içeriğini %31.46, konvansiyonel olanların ise %33.33 bularak farklılık tespit etmiştir. Farklı çalışmalar incelendiğinde konvansiyonel zeytinden Memecik çeşidinde yağ içeriği %22-23, Domat çeşidinde %5.64-7.38 ve farklı zeytin çeşitlerinde %8.16 - 20.44 olarak tespit edilmiştir [32, 44, 46]. Memecik çeşidi zeytinde yapılan başka bir çalışmada 2008/09 ve 2009/10 yıllarında ölçülen yağ içerikleri sırasıyla %15.40 ve %13.12 olarak belirtilmiştir [54].

Tablo 2 ve 3 incelendiğinde kül değerleri yaş bazda konvansiyonel ve organik zeytinlerde sırasıyla %1.42 ve %1.25 bulunurken, kurumda bazında irdelendiğinde ise konvansiyonel ve organik zeytinlerde sonuçlar sırasıyla %3.67 ve %3.94 olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada Domat çeşidi konvansiyonel zeytinlerde farklı yıllarda kül değerleri %0.34 ve %1.25 olarak bulunmuştur [33]. Farklı bir çalışmada ise organik ve konvansiyonel marullarda kül değerleri sırasıyla %1.14 ve %0.97, organik ve konvansiyonel kırmızıbiberlerde ise sırasıyla %0.51 ve %0.36 bulunarak istatistiksel açıdan anlamlı bir fark

gözlenmiştir. Aynı çalışmada organik ve konvansiyonel domateslerde aradaki fark önemsiz bulunmuştur [52].

Araştırmamızda fenolik madde miktarı zeytinde başlıca bulunan fenolik asit olan gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Tablo 2 incelendiğinde konvansiyonel zeytinlerde toplam fenolik madde miktarı 81.67 mg (GAE) /100 g ve organik zeytinlerde 82.33 mg (GAE) /100 g olarak tespit edilmiş ve sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tablo 3'te kurumda bazında bu değerler incelendiğinde ise konvansiyonelde 211.37 mg (GAE) /100 g ve organikte 259.19 mg (GAE) /100 g hesaplanarak sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark saptanmıştır ( $p<0.05$ ). İncelenen çalışmalarda fenolik madde miktarları kateşin, trolox eşdeğeri ve kafeik asit olarak farklı cinslerden verilmektedir. Organik ve konvansiyonel zeytin üzerine yapılan bir çalışmada, organik zeytinlerdeki toplam fenolik madde miktarları kurumda bazında 25675.3 ile 108833.9 mg (tyrosol eşdeğeri) /kg arasında, konvansiyonel zeytinlerde 30269.7 ile 93707.77 mg (tyrosol eşdeğeri) /kg arasında olarak verilmiştir [55]. 5 çeşit konvansiyonel zeytin örneğinde yapılmış bir çalışmada ise fenolik madde bileşiklerinin 82-171 mg (kafeik asit) /100 g arasında değiştiği saptanmıştır [56]. Farklı bir çalışmada ise Gemlik, Halhalı ve Sarı Haşebi çeşidi zeytinlerde genel olarak olgunlaşma ile fenolik bileşiklerin azaldığı belirlenmiştir [44].

Organik ve konvansiyonel yetiştirilen farklı ürün gruplarındaki fenolik bileşiklerin değişiklik gösterdiği incelenen çalışmalarda gözlenmiştir. Farklı meyve ve sebze sularında yapılan bir çalışmada organik ve konvansiyonel örnekler arasında fenolik bileşikler açısından önemli bir fark bulunmamıştır [39]. Bunun yanı sıra iki çeşit yaban mersininin fenolik içerikleri incelendiğinde, bir çeşitte organik olarak yetiştirilenlerin belirgin bir farkla yüksek olduğu görülmektedir [57]. Mditswa ve ark. [58] tarafından yapılan çalışmada organik olarak üretilen meyvelerin fenolik içeriğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Tablo 2'de üç boyutlu renk skalası  $L^*$ ; [0=siyah, 100=beyaz koyuluk/açıklık],  $a^*$ ; [+a kırmızı, -a yeşil] ve  $b^*$  [+b sarı, -b mavi] değerleri verilmiştir. Organik ve konvansiyonel zeytinlerde  $a^*$  değeri (-) değerli olarak ölçülerek yeşili temsil etmektedir. Organik ve konvansiyonel zeytinler arasında  $a^*$  değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğu ( $p<0.05$ ) belirlenmiş ve konvansiyonel zeytinlerde daha yüksek (-15.13) bulunarak daha yeşil oldukları tespit edilmiştir. Organik ve konvansiyonel zeytinlerin  $b^*$  değerleri arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır. Organik ve konvansiyonel zeytinlerde  $a^*/b^*$  değerleri sırasıyla -0.33 ve -0.36 bulunarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). Konvansiyonel zeytinlerde yeşilin sarıya oranı ( $a^*/b^*$ ) anlamlı derecede yüksek bulunarak, konvansiyonel zeytinlerin daha yeşil olduğu yorumlanabilmektedir ( $p<0.05$ ). Organik zeytinlerde sarının yeşile oranı ( $b^*/a^*$ ) daha yüksek (-3.04) bulunarak örnekler arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Zeytinler renk ve ton açısı olarak bilinen  $H^\circ$  değerleri bakımından incelendiğinde her iki değerlerin kırmızı-sarı bölgede olmasına rağmen, organik

zeytinlerde değerin (7.97) konvansiyonel zeytinlere (2.69) göre daha yüksek bulunması ile sarıya yakınlaştığı görülmüştür ( $p<0.05$ ). Renk doygunluğunu ifade eden C değeri için organik ve konvansiyonel zeytinler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 2). Renk farklılığını gösteren ( $\Delta E$ ) değeri ise 4.54 olarak hesaplanmıştır. Saraç ve ark. [28] tarafından,  $\Delta E$  değerinin 2.0'dan büyük koşulunda gözle görülebilir renk farkının olduğu belirtilmiştir. Nitekim, çalışmamızda organik zeytinlerin  $L^*$  değerleri konvansiyonellere göre daha yüksek bulunup, organik zeytinlerin daha açık, parlak renkte olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Yukarıda verilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde; zeytinlerde aranan önemli özelliklerden biri olan dane iriliğinin konvansiyonel zeytinlerde daha yüksek olması sofralık olarak değerlendirilmesinde tercih edilebilirliğini arttırmaktadır. Literatürde yıl içerisinde çok yağış alan zeytinlerde düşük kurumadde ve yüksek yağ içeriği ile zeytinin dış renginde bir değişimin olduğu belirtilmiştir [46]. Çalışmamızdaki aynı bölgede aynı iklim koşullarına sahip zeytinlerde, organik tarım sistemi ile alınan örneklerin daha açık renkte, yüksek yağ (%KM) ve düşük kurumadde içeriğine sahip olması, kontrollü ortamda yetiştirildiği yönünde yorumlanabilmektedir. Çalışmamızda dane ağırlığı ve dane eni açısından daha küçük olan organik zeytinlerde oleuropein değerinin daha yüksek bulunması, literatürde geçen küçük taneli zeytinlerde oleuropein değerinin yüksek olduğu bilgisi ile benzer sonuç göstermektedir [46]. Literatürde organik asitlerin gıdalarda aroma, renk parlaklığı, stabilite ve kalitenin korunması üzerine etkili olduğu belirtilmektedir [46]. Çalışmamızda laktik asit cinsinden asitliğin organik örneklerde daha yüksek bulunması ve organik örneklerin daha açık ve parlak renkte tespit edilmesi bu bilgiyi doğrular niteliktedir. Zeytinlerin olgunlaşması, tarımsal faaliyetlere, coğrafi konuma, çeşide göre değişmektedir. Çalışmamızda aynı bölgede ve çeşitte incelenen özellikler açısından protein, şeker, yağ (%KM) değerlerinin organik örneklerde yüksek bulunması, organik tarım yöntemlerinin meyve özellikleri üzerine daha olumlu etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda meyvedeki farklı pek çok özellik açısından anlamlı farklılıklar elde edilmiş olup, farklı zeytin çeşitlerinde uygulanan kültürel işlemler (budama, sulama, gübreleme, vb.) ve değişen iklim koşulları ile verilerin değişkenlik gösterebileceği düşünülmektedir.

## SONUÇ

Araştırmamızda organik ve konvansiyonel olarak yetiştirilen Memecik çeşidi zeytinlerin pomolojik, fiziksel ve kimyasal analizleri yapılarak ürünler arasındaki farklılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır. Konvansiyonel ve organik zeytinlerde pomolojik özelliklerden dane ağırlığı (sırasıyla 5.86 g, 4.80 g), dane boyu (sırasıyla 26.52 mm, 24.89 mm) ve meyvenin et oranı (sırasıyla %79.28, %78.09) değerlerinin konvansiyonel örneklerde daha yüksek olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ).

Toplam kurumadde miktarının konvansiyonel (%38.67) zeytinlerde daha yüksek bulunması ile anlamlı bir fark tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Çalışmamızda toplam şeker, protein, yağ, kül ve toplam fenolik madde içerikleri hem yaş hem de kurumadde bazında irdelenmiştir. Buna göre, yağ ve kül değerleri konvansiyonellere kıyasla yaş bazda organik zeytinlerde (sırasıyla %15.77, %1.25) daha düşük bulunurken, kurumadde bazında ise organik zeytinlerde değerler (sırasıyla %49.78, %3.94) daha yüksek görülmüştür ( $p<0.05$ ). Toplam şeker ve protein değerleri hem yaş bazda hem de kurumadde bazında incelendiğinde organik zeytinlerden elde edilen değerler konvansiyonellere kıyasla anlamlı derecede ( $p<0.05$ ) yüksek bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarlarının yaş ve kurumadde bazında organik zeytinlerde daha yüksek olduğu, ancak bu farkın kurumadde bazında değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Organik zeytinde pH değeri (5.02) konvansiyonelle göre daha düşük, titrasyon asitliği (%0.47 laktik asit) ve oleuropein (2.65 absorbans) değeri ise daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yapılan renk ölçümlerinde ( $\Delta E$ ) değeri ile örnekler arasında renk farkı olduğu, organik zeytinlerde elde edilen daha yüksek  $L^*$  (54.50) ve daha yüksek  $H^\circ$  (7.97) değeri ile anlamlı bir fark gözlenmiş ve organik zeytinlerin daha açık ve parlak renkte olduğu tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Anonim. (2018). *2017 Yılı Zeytin ve Zeytinyağı Raporu*. T.C. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Koperatifçilik Genel Müdürlüğü.
- [2] Anonim. (2019a). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- [3] Kaya, H. (2017). <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/kumelenme/Belgeler/Budama/Zeytinde%20%C3%87e%C5%9Fit%20Tan%C4%B1lama.pdf>.
- [4] Aktan, N., Kalkan Yıldırım, H. (2012). *Sofralık Zeytin Teknolojisi*. İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri.
- [5] Brenes, M., Garcia, P., Romero, C., Medina, E. (1998). Ripe olives storage liquids reuse during the oxidation process. *Journal of Food Science*, 63(1), 117-121.
- [6] Bianco, A., Buiarelli, F., Cartoni, G., Coccioli, F., Muzzalupo, I., Polidori, A., Uccella, N. (2001). Analysis by HPLC-327 MS/MS of biophenolic components in olives and oils. *Analytical Letters*, 34(6), 1033-1051.
- [7] Stupans, I., Murray, M., Kirlich, A., Tuck, K.L., Hayball, P.J. (2001). Inactivation of cytochrome P450 by the food-derived complex. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 1119-1124.
- [8] Uccella, N. (2001). Olive biophenols: biomolecular characterization, distribution and phytoalexin histochemical localization in the drupes. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 315-317.
- [9] Saija, A., Uccella, N. (2001). Olive biophenols: functional effects on human wellbeing. *Food Science & Technology*, 11, 357-363.
- [10] Demiryürek, K. (2011). Organik tarım kavramı ve organik tarımın dünya ve Türkiye'deki durumu.

- Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(1), 27-36.
- [11] Anonim. (2019b). <http://www.fao.org/organicag/oa-specialfeatures/oa-foodsecurity/en/>.
- [12] Anonim. (2019c). <https://www.tarimbilgisi.com/haber/tarim-ve-ciftci/organik-gubre-cesitleri-nelerdir>.
- [13] Anonim. (2019d). ([http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001)).
- [14] Anonim. (2019e). <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Organik-Tarim/Istatistikler>.
- [15] Cebeci, Z. (2007). *Zeytinde olgunluk derecesi tayini*. Türkiye Tarımsal Öğrenme Nesneleri Deposu: [http://traglor.cu.edu.tr/objects/ppt/zeytin\\_olgunluk\\_ndeksi\\_2007\\_11\\_27.ppt](http://traglor.cu.edu.tr/objects/ppt/zeytin_olgunluk_ndeksi_2007_11_27.ppt).
- [16] Vinha, A.F., Ferreres, F., Silva, B.M., Valentao, P., Goncalves, A., Pereira, J.A., Andrade, P.B. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89, 561-568.
- [17] Çetin, Ö., Mete, N., Şahin, M., Sefer, F., Kaya, H. (2016). Memecik x Uslu elezi (F1) zeytin genotiplerinin pomolojik özellikleri. *Zeytin Bilimi*, 6(1), 9-14.
- [18] Uylaser, V., Tamer, C.E., İncedayı, B., Vural, H., Çopur, Ö.U. (2008). The quantitative analysis of some quality criteria of Gemlik variety olives. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6(3), 26-30.
- [19] Kaya, Ü., Güngör, F.Ö., Çamoğlu, G., Akkuzu, E., Işık, Ş., Köseoğlu, O. (2017). Effect of deficit irrigation regimes on yield and fruit quality of olive trees (cv. Memecik) on the Aegean Coast of Turkey. *Irrigation and Drainage*, 66, 820-827.
- [20] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC. (17th ed). (W. Horwitz, Dü.) Gaithersburg, Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- [21] AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC. (18th ed). (W. Horwitz, Dü.) Gaithersburg, Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- [22] Doğan, A., Başoğlu, F. (1982). *Yemeklik Bitkisel Yağ Kimyası ve Teknolojisi Uygulama Kılavuzu*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- [23] Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- [24] Özdemir, Y., Özkan, M., Kurultay, Ş. (2011). Olgunlaşmayla gemlik zeytininde oluşan fizikokimyasal değişimler. *Bahçe*, 40(2), 21-28.
- [25] Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Phenolics Determination*, 144-158.
- [26] Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Roventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- [27] Panagou, E.Z. (2004). Effect of different packing treatments on the microbiological and physicochemical characteristics of untreated green olives of the Conservolea cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 757-764.
- [28] Saraç, Y.Ş., Saraç, D., Yüzbaşıoğlu, E. (2006). Üç farklı renk skalasının renk farklılıkları yönünden kolorimetrik olarak incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 23(2), 85-90.
- [29] Şengül, M., Topdaş, E.F., Doğan, H., Serencam, H. (2018). Artvin ilinde geleneksel olarak üretilen farklı marmelat çeşitlerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri, antioksidan aktiviteleri ve fenolik profilleri. *Akademik Gıda*, 16(1), 51-59.
- [30] Kaleci, N. (2010). Konvansiyonel ve organik olarak yetiştirilen ayvalık zeytin çeşidinin bazı meyve özellikleri, yağ asitleri ve tokoferol seyilerinin belirlenmesi. *Zeytin Bilimi*, 1(1), 79-84.
- [31] Varol, N., Alper, N., Köseoğlu, O., Topuz, H., Özaltaş, M., Pekcan, T., Akdoğan, G. (2011). Ege bölgesinde organik zeytin yetiştiriciliği. In A. Vural, *Organik Tarım Araştırma Sonuçları* (pp. 73-80). Ankara: T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü.
- [32] Biricik, G.F., Başoğlu, F. (2005). Marmara Bölgesinde zeytin adaptasyon denemesinde seçilmiş zeytin çeşitlerinin (samanlı, domat, manzaanilla, ascolana) bileşimi üzerine bir inceleme. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 8, 1-10.
- [33] Savaş, E., Uylaser, V. (2006). Domat çeşidi yeşil zeytinin işlenmesinde farklı acılık giderme işlemleri ve salamura bileşiminin etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 9, 1-12.
- [34] Kuşçu, A. (2008). Organik Ve Konvansiyonel Kırmızıbiber Ve Ürünlerinin Ayırt Edilebilme Yöntemleri Ve Kalite Özelliklerinin İncelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. İzmir.
- [35] Karaosmanoğlu, H., Üstün, N.Ş. (2017). Organik ve konvansiyonel fındıkların (*Corylus avellana* L.) bazı fiziksel özellikleri. *Akademik Gıda*, 15(4), 377-385.
- [36] Abdollahi, F. (2008). Organik Ve Konvansiyonel Domates Ve Ürünlerinin Ayırt Edilebilme Yöntemleri Ve Kalite Farklarının İncelenmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. İzmir.
- [37] Reganold, J.P., Andrews, P.K., Reeve, J.R., Carpenter-Boggs, L., Schadt, C.W., Alldredge, J.R., Zhou, J. (2010). Fruit and soil quality of organic and conventional strawberry agroecosystems. *Plos One*, 5(9), e12346.
- [38] Huber, M., Rembalkowska, E., Średnicka-Tober, D., Bügel, S., Vijver, L.P. (2011). Organic food and impact on human health: Assessing the status quo and prospects of research. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 58(3-4), 103-109.
- [39] Gaštoł, M., Domagała-Świątkiewicz, I., Krosniak, M. (2012). Organic versus conventional – a comparative study on quality and nutritional value of fruit and vegetable juices. *Biological Agriculture & Horticulture*, 27(3-4), 310-319.
- [40] Brazinskiene, V., Asakaviciute, R., Miezeliene, A., Alencikiene, G., Ivanauskas, L., Jakštas, V., Razukas, A. (2014). Effect of farming systems on the yield, quality parameters and sensory properties of conventionally and organically grown

- potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Food Chemistry*, 145, 903-909.
- [41] Celbiş, H.Ö. (2012). Organik Ve Konvansiyonel Yöntemlerle Yetiştirilmiş Taze Ve Dondurulmuş Domateslerde Kalıntı Miktarları Ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bilimleri Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.
- [42] Peck, G.M., Andrews, P.K., Reganold, J.P., Fellman, J.K. (2006). Apple orchard productivity and fruit quality under organic, conventional and integrated management. *Hort Science*, 41(1), 99-107.
- [43] Bordeleau, G., Myers-Smith, I., Midak, M., Szeremeta, A. (2002). Food Quality: A comparison of organic and conventional fruits and vegetables. *Ecological Agriculture*, 82.
- [44] Konuşkan, D.B. (2008). Hatay'da Yetiştirilen Halhalı, Sarı Haşebi Ve Gemlik Zeytin Çeşitlerinden Çözücü Ekstraksiyonuyla Elde Edilen Yağların Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi Ve Mekanik Yöntemle Elde Edilen Zeytinyağları İle Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.
- [45] Susamcı, E., Tuncay, Ö., Yoltaş, A. (2018). Effect of prepackaging treatments and different gas composition on physicochemical and sensory properties of Hurma Olive (*Erkence cv.*). *Akademik Gıda*, 16(3), 364-270.
- [46] Ergönül, P.G. (2006). Zeytin Meyvesinin Olgunlaşması Sırasında, Bileşimindeki Organik Asit Miktarındaki Değişimler Ve Bu Değişimlerin Yağ Birikimiyle Olan İlişkinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Manisa.
- [47] Nergiz, C., Engez, Y. (2000). Compositional variation of olive fruit during ripening. *Food Chemistry*, 69, 55-59.
- [48] Suja, G., Byju, G., Jyothi, A.N., Ss, V., Sreekumar, J. (2017). Yield, quality and soil health under organic vs conventional farming in taro. *Scientia Horticulturae*, 218, 334-343.
- [49] Cayuela, J.A., Vidueira, J.M., Albi, M.A., Gutierrez, F. (1997). Influence of the ecological cultivation of strawberries (*Fragaria x Ananassa Cv. Chandler*) on the quality of the fruit and on their capacity for conservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(5), 1736-1740.
- [50] Hallmann, E. (2012). The influence of organic and conventional cultivation systems on the nutritional value and content of bioactive compounds in selected tomato types. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 2840-2848.
- [51] Özay, G., Borcaklı, M., Alperden, İ., Özsan, E., Erdek, Y. (1994). Farklı iki tip zeytin (gemlik ve edincik) fermantasyonlarının kimyasal ve mikrobiyolojik yönden incelenmesi. *Gıda*, 19(1), 37-43.
- [52] Araújo, D.F., Silva, A.M., Lima, L.L., Vasconcelos, M.A., Andrade, S.A., Sarubbo, L.A. (2014). The concentration of minerals and physicochemical contaminants in conventional and organic vegetables. *Food Control*, 44, 242-248.
- [53] Bourn, D., Prescott, J. (2002). A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42, 1-34.
- [54] Sevim, D., Tuncay, Ö. (2012). Ayvacık ve memecik zeytin çeşitlerinin yaprağı ve meyvelerinin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri. *Gıda*, 37(4), 219-226.
- [55] Köse, M., Semizoğlu, D., Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2018). Gemlik tipi zeytinlerin olgunlaşma dönemindeki fenolik, flavonoid ve antioksidan kapasitesindeki değişiklikler. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 49-55.
- [56] Boskou, G., Salta, F.N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chiou, A., Andrikopoulos, N.K. (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, 94, 558-564.
- [57] Yu, X., Guo, L., Jiang, G., Song, Y., Muminov, M.A. (2018). Advances of organic products over conventional productions with respect to nutritional quality and food security. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 53-60.
- [58] Mditshwa, A., Magwaza, L.S., Tesfay, S.Z., Mbili, N. (2017). Postharvest quality and composition of organically and conventionally produced fruits: A review. *Scientia Horticulturae*, 216, 148-159.

## Manisa İlinden Toplanan Asma Yapraklarında Pestisit Kalıntıları

Gözde Türköz Bakırcı<sup>1</sup>, Ezgi Çınar<sup>2</sup>, Senem Karakaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Seferihisar Fevziye Hepkon Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Seferihisar, İzmir

<sup>2</sup>EDGE Gıda Kontrol ve Araştırma Laboratuvarı, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 31.05.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 02.10.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): gozde.turkoz@deu.edu.tr (G.T. Bakırcı)

☎ 0 232 743 51 10 📠 0 232 743 56 45

### ÖZ

Bu çalışmada, 2017 yılında Manisa ilinde bulunan halka açık satış alanlarından temin edilen 232 asma yaprağı (*Vitis vinifera*) örneğinde 318 pestisit kalıntısı, sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile QuEChERS yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi (TGK) Pestisit Maksimum Kalıntı Limitlerine (MRL) göre değerlendirilmiştir. Seksen beş (%36.6) numunede pestisit kalıntısına rastlanmış olup toplam 52 numunede (%22.4) TGK MRL'lerin üzerinde pestisit etken maddesi tespit edilmiştir. Analiz edilen asma yaprağı örneklerinde 318 pestisit etken maddesinden, 42 farklı pestisit ve 210 farklı sonuç elde edilmiş olup bu sonuçların 92'sinin ise MRL değerlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Analiz edilen asma yapraklarında en çok rastlanan etken maddenin metalaksil, TGK MRL değerleri üzerinde çıkan etken maddenin ise azoksistrobin olduğu çalışmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Sonuçlar, asma yapraklarında pestisit kalıntısının yüksek oranda tespit edildiğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Pestisit kalıntısı, Yaprak, LC-MS/MS, Manisa

### Pesticide Residues in Grape Leaves Collected from Manisa, Turkey

#### ABSTRACT

In this study, 318 pesticide residues were analyzed in 232 grape leaf (*Vitis vinifera*) samples provided from the Manisa region of Turkey in 2017. In these analyzes, the QuEChERS method was used by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The results obtained were evaluated according to the Turkish Food Codex (TFC) Pesticide Maximum Residue Limit (MRL). Pesticide residues were found in eighty five (36.6%) samples (22.4%) in total 52 samples detected pesticide active substance above MRLs it was. Of the 318 pesticide agents analyzed in the grape leaves, 42 different pesticides and 210 different results were obtained, and 92 of these results were compared with the MRL values. The most common factor in the analyzed grape leaves was metalaxyl, the active ingredient above the MRLs of TGK was azoxystrobin. Results showed that pesticide residues in grape leaves were detected at a high level.

**Keywords:** Pesticide residue, Leaf, LC-MS/MS, Manisa

### GİRİŞ

Bağcılık üretim alanı, üretim miktarı ve üzümde elde edilen ürün çeşitliliği ile en önemli tarım kollarından birisidir. Asmanın üzümünden değişik şekillerde

yararlanıldığı gibi, bir yaşındaki dalları fidancılıkta, yaprakları ise konserve ve salamura yapımında kullanılabilir. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan çok sayıda üzüm çeşidinin yaprakları işlenerek salamura ya da konserve şeklinde değerlendirilmektedir [1].

Birçok ülkede bilinip tüketilen asma yaprağının besin bileşenleri yaprak sebzeler ile kıyaslanabilecek düzeydedir [2]. Asma yaprağının bileşiminde şekerler, organik asitler, amino asitler, fenolik bileşikler ve bazı vitaminler bulunmaktadır [3]. Asma yaprağının 100 g yenilebilir kısımlarındaki besin değeri; 5.60 g protein, 17.30 g karbonhidrat, 11.00 g lif, 363.08 mg kalsiyum, 91.02 mg fosfor, 11.10 mg C vitamini şeklindedir [4]. Ülkemizde yaklaşık 30'u Ege Bölgesi'nde, 15'i Tokat ilinde olmak üzere kayıtlı 45 adet salamura yaprak işletmesi mevcuttur. Bu işletmelerde işlenen yaprağın mali değeri ise tahmini; 40.000.000 TL'dir [5].

Türkiye'de ihraç edilen ve iç piyasada tüketilen salamuralık yaprağın önemli bir kısmı Tokat ve Manisa bölgelerinde üretilmektedir. Yörede asmalardan yaprak toplandığı dönemde kontakt veya sistemik ilaçlar sıkça kullanılmaktadır [6]. Bağlarda kışın asmalar uyanmadan önce başlayan ilaçlamalar belirli aralıklarla hasattan 15 gün öncesine kadar devam etmekte, bazen tek etkili madde bazen birden fazla etkili madde içeren ilaçlama programı uygulanmaktadır [7]. Asmalardan yaprak toplandığı dönemde özellikle külleme, bağ uyuzu ve mildiyöye karşı kontakt veya sistemik fungusitler sıkça kullanılmakta olup kullanılan pestisitler asma yapraklarında bazen kalıntı sorunu yaşanmasına neden olmaktadır [1].

"Pestisit" terimi, insektisitler, herbisitler ve mantar öldürücüler gibi geniş bir sınıfı içeren bitki koruyucu kimyasal maddelerini tanımlamada yaygın olarak kullanılmaktadır [8]. Tarım ve endüstride kullanılmasıyla ilgili artıştan dolayı, pestisitler en önemli çevresel kirlenmeler arasında yer almaktadır [9]. Genellikle mahsullere ekim sırasında ve hasat sonrası uygulanırlar. Kullanılan pestisitler aynı zamanda birer kirlenici olup çevresel, gıda ve biyolojik örneklerde sıklıkla bulunmaktadır [10-13]. Yüksek dozda pestisit içeren gıdaların tüketilmesi sonucunda oluşan zehirlenmeler akut (kısa sürede şiddetli etki) ya da kronik (uzun sürede yavaş etki) olarak meydana gelebilir. Gıdalardaki pestisit kalıntılarının vücuda alınması ile ortaya çıkan kronik etki sonucu, uzun vadede çeşitli akciğer hastalıkları, kanser, beyinde hasar, karaciğer ve böbreklerde nefrozlar meydana gelmektedir [14].

Gerek ihracatta gerekse yapılan çalışmalarda, asma yapraklarında daha çok külleme, ölü kol ve bağ uyuzuna karşı kullanılan pestisit kalıntılarının rastlanmıştır. Bu kalıntılara; triadimenol, metalaksil, triadimefon ve azoksistrobin örnek verilebilir [15]. Son yıllarda gıda güvenliği ile ilgili basında çıkan haberler ile mesleki odalar ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının aldığı tedbirlerden değerlendirme yapacak olursak asma yaprağındaki pestisit sorununun dikkat çekecek düzeyde ciddiyet arz ettiğini görmekteyiz [16].

Asma yaprağı üretim döneminde uygulanan ve kalıntı sorunu yaşanan sistemik fungusitlerdeki kalıntı miktarının salamura uygulamaları ile ne derece azalabileceğinin bilinmesi gıda güvenliği açısından

önemli bir boşluğu dolduracaktır. Ayrıca, yaprak üretiminde sistemik fungusitlerin uygulanıp uygulanmayacağı konusunda da kesin bir bilgiye de ihtiyaç olduğu ortadadır [7]. İnsan, hayvan ve çevre sağlığını tehdit eden en önemli etkenlerden birisinin pestisit kalıntıları olduğu bilinen bir gerçektir. Sofralık üzüm, kuru üzüm ve şaraplarda pestisit kalıntısı ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen [1]; salamuralık yapraklarda bu sorunla ilgili araştırmaların son derece sınırlı olduğu görülmektedir [15, 7].

Bağ hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan ilaçların maksimum kalıntı seviyeleri (MRL) genel olarak taze olarak tüketilen üzüm esas alınarak belirlenmiştir. Asma yaprağı üretimi ülkemiz ve Yunanistan dışında ticari bir boyutta olmadığından, zirai ilaçları üreten firmaların asma yaprağına göre MRL belirleme konusunda bir çalışmaları olmamıştır. Ülkemizde ve AB mevzuatında asma yapraklarında bulunmasına izin verilen MRL değerleri analitik olarak tespit edilen en düşük limit olarak kodekse alınmıştır [17].

Bu çalışmada, 2017 yılında Manisa Bölgesinde halka açık satış alanlarından temin edilen 232 asma yaprağı (*Vitis vinifera*) örneğinde 318 pestisit kalıntı analizi, sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile QuEChERS yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi (TGK) Pestisit asma yaprağı MRL'ne göre değerlendirilmiştir.

## MATERYAL ve METOT

Analizlerde yüksek saflıkta Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Almanya) marka pestisit standartları, HPLC saflıkta Merck (Darmstadt, Almanya) marka asetonitril (ACN), metanol (MeOH), asetik asit (HAc), susuz magnezyum sülfat (MgSO<sub>4</sub>), sodyum asetat (NaAc) ve grafitize edilmiş karbon siyahı (GCB), Agilent (Santa Clara, ABD) marka primer sekonder amin (PSA) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan pestisit aktif maddeleri, ana ve ara stok çözeltileri -18°C'de muhafaza edilmiştir.

## Örnekler

Çalışmada 232 adet asma yaprağı (*Vitis vinifera*) numunesi kullanılmış olup örnekler Manisa ilinde bulunan halka açık satış alanlarından temin edilmiştir. Laboratuvara gelen örnekler hemen homojenize edilerek analiz edilmeye kadar -18°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

## Cihaz

Pestisit kalıntı analizleri için AB SCIEX API 4000™ LC-MS/MS (Concord, ON, Canada) cihazı kullanılmıştır. Tablo 1'deki çalışma şartları ile analizler gerçekleştirilmiş olup her bir pestisit etken maddesi için MRM (Çoklu Reaksiyon İzleme) çifti kullanılmıştır (pestisit etken maddeleri metot parametreleri sunulmamıştır).



Tablo 1. LC-MS/MS performans Şartları

Kolon	Phenomenex, Mac Herey-Nagel (4u Fusion-RP 80A 50 x 2.0 mm)		
Akış	0.5 mL/dakika		
Hareketli Faz A	5 mM Amonyum formatlı su		
Hareketli Faz B	5 mM Amonyum formatlı metanol		
Enjeksiyon Miktarı	10 µL		
	Zaman (dakika)	%A	%B
Gradient Tablosu	5	10	90
	8	10	90
	9	95	5
	11	100	0

### Ekstraksiyon Prosedürü

Tüm numuneler, TGK Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği Ek-1 Bölüm A da belirtildiği şekilde Waring marka blender kullanılarak öğütülmüştür. Homojenize edilen numuneler, QuEChERS (hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli) prosedürüne göre analiz edilmiştir [18]. QuEChERS metoduna göre, homojenize edilmiş üründen 50 ml lik tüp içerisindeki 15 g örnek üzerine, 15 mL %1'lik HAc:ACN (v:v), 6 g susuz MgSO<sub>4</sub>, 1.5 g NaAc, ilave edilmiştir. 1dk. vorteksleme işleminden sonra 1 dk. 1500 rcf de santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen ekstraktın üst fazından 1 mL alınıp her bir ml için 50 mg PSA, 150 mg MgSO<sub>4</sub> ve 50 mg GCB içeren tübe aktarılmıştır. 30 s vorteksledikten sonra 1dk. 1500 rcf'de santrifüjlenmiştir. Ekstrakt LC-MS/MS sistemine verilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Geri kazanım, hassasiyet ve tespit limitlerinin belirlenmesi için zirai ilaç içermeyen numuneler (blank numune) kullanılmıştır. Aktif maddelerin stok çözeltileri asetonitrilde çözülerek yaklaşık 1000 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Pestisitlerin kimyasal grupları göz önünde bulundurularak aktif maddeleri içerecek şekilde 25 mg/L'lik ara stok ve ara stoklardan iyonizasyon moduna göre 2 mg/L'lik ara stok çözeltileri (metanolle) oluşturulmuştur. Kalibrasyon çalışması 318 pestisit etken maddesini içerecek şekilde 2 mg/L'lik ara stok çözeltilerinden 0.0025 ve 0.1 mg/L arasındaki konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Matriks etkisini dengelemek amacı ile kalibrasyonlar temiz olduğu bilinen asma yaprağı ekstraktı kullanılarak matriksli kalibrasyon oluşturulmuştur. Kalibrasyonlar için korelasyon katsayılarının ( $r^2$ ) 0.99 üzerinde olduğu tespit edilmiştir (EK1). Tablo 1'de belirtilen cihaz şartları ile birlikte ekstraksiyon metodunun performansının belirlenmesi amacı ile 318 pestisit etken maddesi için, asma yaprağı numunelerinde farklı konsantrasyon seviyelerinde (0.01, 0.05 ve 0.1 mg/kg) 5 tekrarlı geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kabul edilebilir ortalama geri kazanım değerleri, tüm analitler için, % 70-120 aralığında olup, RSDr  $\leq$  % 20'dir [19]. SANTE dokümanına uygun olarak metot performans kabul

kriterlerini (%70-120 geri kazanım,  $\leq$  %20 RSD) karşılayan en düşük konsantrasyon olan 0.01 mg/kg ölçüm limiti (LOQ) olarak belirlenmiştir. Belirlenen ölçüm limitleri asma yaprağı için MRL değerlerinin altında bulunmaktadır. Ölçülen değer ile gerçek değer arasındaki yakınlığı gösteren doğruluk parametresi, temiz olduğu bilinen yaprak numunesine 318 etken maddeyi içeren pestisit karışım standardı 0.01 mg/L ve 0.050 mg/L seviyelerinde olacak şekilde zenginleştirme yapılarak kontrol edilmiştir. Yapılan analiz sonuçlarının geri kazanım değerlerinin ortalaması alınarak metodun geri kazanımı ve RSD değerleri belirlenmiştir. Örneklerde değer tespit edilen etken maddelerin metot performans değerlerine ait sonuçlar Tablo 3'de verilmiştir. Sonuçlar, validasyon çalışmalarının DG-SANTE Rehberine uygun olduğunu göstermiştir.

Bu çalışma için toplam 232 adet asma yaprağı (*Vitis vinifera*) analiz edilmiştir. Analiz edilecek olan 318 adet pestisit etken maddesi, asma yaprağı için TGK Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği'nde yasal limiti bulunan ve üzüm bağlarında zararlılara karşı kullanılan ilaçların içeriğindeki etken maddelerden seçilmiştir. Farklı kimyasal sınıflara ait 318 adet pestisit etken madde LC-MS/MS cihazı ile taranmıştır. Taraması yapılmış olan etken maddelerin listesi ve MRM çiftleri Ek1 de gösterilmektedir. Analizler sonucunda, 85 numunede en az 1 adet (% 36.6) pestisit kalıntısına rastlanmış olup toplam 52 numunede (% 22.4) TGK MRL'lerin [20] üzerinde pestisit etken maddesi tespit edilmiştir. Asma yapraklarında analiz edilmiş olan 318 pestisit etken maddeden, 42 farklı pestisit ve 210 farklı sonuç elde edilmiş olup bu sonuçların 92'sinin ise MRL değerlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Sonuçlara göre; en sık rastlanan pestisit etken maddeleri; azoxystrobin, boscalid ve metalaxyl'dir. Bu etken maddeler için tespit edilen en yüksek değerler sırası ile 1.12 mg/kg, 0.52 mg/kg ve 0.312 mg/kg'dir. Asma yaprağı örneklerinde en çok rastlanan etken madde metalaxyl iken TGK MRL değerleri üzerinde en fazla sonuç çıkan etken maddenin ise azoxystrobin olduğu görülmüştür.

Tablo 2. Tespit Edilen Pestisit Kalıntıları Sayıları ve Ortalama Değerleri

Pestisit	Tespit Edilen	>MRL	Ortalama Değer (mg kg <sup>-1</sup> )	TGK MRL (mg kg <sup>-1</sup> )
Acetamiprid	3	3	0.05	0.01
Ametoctradin	2	2	0.02	0.01
Azoxystrobin	20	20	0.82	0.01
Bifenthrin	4	2	0.06	0.05
Boscalid	15	15	0.26	0.01
Bupirimate	3	0	0.03	0.05
Carbaryl	2	2	1.06	0.01
Carbendazim/Benomyl	3	0	0.06	0.10
Chlorpyrifos	3	2	0.12	0.05
Cypermethrin	5	0	0.38	0.05
Deltamethrin	1	0	0.06	0.50
Difenoconazole	5	0	0.04	0.05
Diflubenzuron	1	0	0.03	0.05
Dimethoate	1	0	0.01	0.02
Dimethomorph	2	2	0.15	0.01
Ethoxazole	2	2	0.08	0.02
Famoxadone	1	1	0.03	0.01
Flufenoxuron	5	0	0.02	0.05
Flusilazole	1	1	0.58	0.01
Hexythiazox	1	0	0.04	0.50
Imidacloprid	10	0	0.65	2.00
Iprovalicarb	3	3	0.12	0.01
Indoxacarb	1	1	0.37	0.02
Iprodione	1	1	0.62	0.01
Kresoxim methyl	9	0	0.83	15.0
Malathion	3	2	0.30	0.02
Metalaxyl	32	6	0.25	0.05
Methoxyfenozide	1	1	0.51	0.01
Metrafenone	9	9	0.36	0.01
Myclobutanil	10	1	0.04	0.02
Penconazole	3	0	0.04	0.05
Pyraclostrobin	5	0	0.01	0.02
Pyrimethanil	3	3	0.06	0.01
Spinosad	8	0	0.36	10.0
Spirodiclofen	6	4	0.33	0.02
Tebuconazole	4	2	0.08	0.02
Tebufenozide	2	0	0.01	0.05
Tetraconazole	1	1	0.19	0.02
Thiacloprid	2	2	0.04	0.01
Triadimefon	5	2	0.15	0.10
Triadimenol	10	0	0.09	0.10
Trifloxystrobin	2	2	0.21	0.01

Çalışmalar incelendiğinde asma yapraklarındaki pestisit kalıntıları ile ilgili gerçekleştirilmiş çok fazla araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak asma yapraklarında kullanılan zirai ilaçların yaş üzümde de kullanıldığı göz önünde bulundurulduğundan üzüm çalışmaları incelenmiştir. Fujita ve arkadaşları [21], Japon yerel pazarlarından temin edilen 130 farklı üzümde acetamiprid ve cypermethrin kalıntısına rastlamıştır. Araştırmamızın sonuçları; asma yaprağı numunelerinde de benzer şekilde her iki etken maddenin tespit edildiğini ve tespit edilmiş olan değerlerin üzümde göre daha düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca üzüm ve asma yapraklarının zararlılardan korunması için benzer zirai ilaçların piyasada kullanıldığı görülmektedir. Gölge ve

Kabak (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise üzüm örneklerinde, MRL üzerinde %20.4 oranında pestisit etken maddesine rastlanmıştır [22]. Çalışmamızda asma yaprağı örneklerinde %22.4 MRL üzerinde değer tespit edilmiş olup üzümde göre daha yüksek miktarda uygun olmayan sonuç elde edilmiştir. Tokat yöresinde salamura yapraklarda ve taze yapraklarda yapılan çalışmada, üretici bağlarından alınan taze asma yaprağı örneklerinde %25.0; üreticilere ait salamura örneklerinde ise %52.3 pestisit tespit edilmiştir [16]. Bu sonuçlar çalışmamızda taze asma yaprağı örneklerinde elde edilmiş olan %36.6'lık sonuç ile birlikte kalıntı sorunun önemli düzeyde olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. LC-MS/MS Cihazında Örneklerde Değer Tespit Edilen Pestisitlerin Metot Performans Değerleri

Pestisit	Geri Alma (%)	RSD	Doğrusallık
Acetamiprid	102.38	0.0484	0.9993
Ametoctradin	101.19	0.0523	0.9956
Azoxystrobin	98.84	0.0269	0.9999
Bifenthrin	102.58	0.0434	0.9999
Boscalid	89.40	0.0721	0.9995
Bupirimate	100.92	0.0494	0.9984
Carbaryl	103.2	0.0479	0.9980
Carbendazim/Benomyl	103.58	0.0365	0.9989
Chlorpyrifos	100.52	0.0504	0.9962
Cypermethrin	102.86	0.0528	0.9993
Deltamethrin	102.26	0.0518	0.9986
Difenoconazole	100.28	0.0650	0.9909
Diflubenzuron	97.21	0.0680	0.9997
Dimethoate	104.60	0.0316	0.9991
Dimethomorph	98.44	0.0868	0.9960
Ethoxazole	94.96	0.0479	0.9995
Famoxadone	101.18	0.0524	0.9933
Flufenoxuron	95.44	0.1285	0.9996
Flusilazole	94.36	0.0404	0.9987
Hexythiazox	100.10	0.0573	0.9999
Imidacloprid	103.34	0.0325	0.9991
Iprovalicarb	95.96	0.1328	0.9906
Indoxacarb	92.44	0.0736	0.9930
Iprodione	100.66	0.0716	0.9971
Kresoxim methyl	103.26	0.0691	0.9977
Malathion	102.40	0.0477	0.9966
Metalaxyl	102.04	0.0625	0.9992
Methoxyfenozide	99.00	0.1063	0.9957
Metrafenone	94.72	0.0444	0.9984
Myclobutanyl	92.14	0.0913	0.9980
Penconazole	99.76	0.0408	0.9996
Pyraclostrobin	101.70	0.0488	0.9980
Pyrimethanil	98.96	0.0536	0.9996
Spinosad	105.56	0.0478	0.9946
Spirodiclofen	89.96	0.1025	0.9911
Tebuconazole	103.26	0.0563	0.9996
Tebufenozide	81.77	0.1313	0.9939
Tetraconazole	98.00	0.0973	0.9999
Thiacloprid	101.26	0.0936	0.9997
Triadimefon	100.58	0.0356	0.9988
Triadimenol	98.58	0.0560	0.9994
Trifloxystrobin	101.28	0.0364	0.9992

## SONUÇ

Bu çalışmadaki sonuçlar incelendiğinde, asma yapraklarındaki pestisit kalıntı seviyelerinin yüksek olduğu görülmüştür. Ülkemizde asma yaprağı üretimi üzüm yetiştiriciliği ile birlikte gerçekleştirilmektedir. Bu sebeptendir ki zirai ilaçlamanın üzüme yönelik planlanması bu bağlardan toplanan yapraklarda da kalıntı sorununa neden olmaktadır. Sofralık üzüm yetiştiriciliğinde ihracat ile birlikte sıkça gündeme gelen bu sorunun, asma yapraklarında da ortaya çıkması kalıntı probleminin önemli boyutta olduğunu göstermektedir.

Asma yaprağı üreticilerinin zararlılara karşı uyguladıkları yöntemleri gözden geçirmesi ve bilinçli uygulamalar yapması hem ürün kalitesi hem de insan sağlığı için büyük önem arz etmektedir. Bu aşamada aynı bağda

yaprak ve üzüm yetiştiriciliği birlikte yapılıyorsa ilaç uygulama stratejisi her iki üründe kalıntı düzeyi düşünülerek belirlenmelidir. Bağ aşamasında gereken tüm kontroller sağlandıktan sonra son ürün kalıntı analizleri yaptırılarak ürünün kalıntı düzeyinin belirlenen maksimum kalıntı limitlerinin altında olup olmadığı, risk taşıyıp taşımadığı kontrol edilmelidir. Asma yaprağının piyasada satışını gerçekleştiren firmaların bu konuda hassasiyet göstermesi ve tüm riskleri ortadan kaldırdıktan sonra ürünü piyasaya sunmaları gerekmektedir.

Kalıntı sorunu bağda bilinçli yapılan uygulamalar, hasat sonrası ve ürün satışı öncesi kontroller ile birlikte devletin alacağı önleyici politikalar sayesinde önlenilecektir.

## KAYNAKLAR

- [1] Cangı, R., Yanar, Y., Yağcı, A., Topçu, N., Sucu, S., Dülgeroğlu, Y. (2014). Narince üzüm çeşidinin yapraklarında farklı fungusit uygulamaları ve salamura yöntemlerine bağlı olarak fungusit kalıntı düzeylerinin belirlenmesi. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, 31, 23-30.
- [2] Kara, Z., Akay, A., Demirhan, Y. (2006). P-Value and Some Other Quality Characters of Grape Leaves and Leafy Vegetables Grown in Türkiye. Von der Methode zum Ganzen: Potenziale Zeitgemäßer Qualitätsforschung Symposium am, February 2-3, 2006, Wien, Österreich, Tagungsband, 47p.
- [3] Cangı, R., Yağcı, A. (2017). Bağdan sofraya yemeklik asma yaprak üretimi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi Cilt 6*, DOI: 10.17100/nevbittek.288316, 137-148.
- [4] Kara, Z. (2007). Sustainable viticulture activities in Turkey. *Agricoltura*, 1-2(61-62), 128-139.
- [5] Anonim, (2014). Bağ Danışma Kurulu Raporu. Asma Yaprığında Kalıntı ve Kodeks Değerlerinin Belirlenmesine Dair Rapor, Rapor No: 2. Erişim Tarihi: 18.08.2017.
- [6] Bal, H.S.G, Çallı, A., Yavuz, H., Buğancık, E. (2016). Salamuralık Yaprak Üreten Bağlarda Kimyasal İlaç Kullanımı, Kalıntı Sorunu ve Üretici Bilinci: Tokat Kazova, XVII. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, Mayıs 25-27, 2016, Samsun, Türkiye, 801-808s.
- [7] Dülgeroğlu, Y. (2012). Salamuralık Asma Yaprığı Üretiminde Fungusit Kalıntı Miktarı Üzerine Hasat Zamanı ve Salamura Yöntemlerinin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye, 54s.
- [8] Satpathy, G., Tyagi, Y.G., Gupta, R.K. (2014). Development and validation of multi-residue analysis of 82 pesticides in grapes and pomegranate as per the requirements of the European Union (EU) and Codex Alimentarius using GC-MS/MS with compound based screening. *American Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 53-61.
- [9] Şen Gürsoy, S., Gürsoy, O. (2017). Pestisit analizlerinde asetilkolinesteraz inhibisyonuna dayalı iletken polimer esaslı biyosensörler. *Akademik Gıda*, 15(4), 426-435.
- [10] Malik, A.K., Blasco, C., Pico, Y., (2010). Liquid chromatography-mass spectrometry in food safety. *Journal Chromatography A*, 1217, 4018-4040.
- [11] Botitsi, H.V., Garbis, S.D., Economou, A., Tsipi, D.F. (2011). Current mass spectrometry strategies for the analysis of pesticides and their metabolites in food and water matrices. *Mass Spectrometry*, 30, 907-939.
- [12] Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Cunsolo, V., Muccilli, V., Sforza, S. (2012). Applications of liquid chromatography-mass spectrometry for food analysis. *Journal Chromatography A*, 1259, 74-85.
- [13] Deme, P., Upadhyayula, V.V. (2015). Ultra performance liquid chromatography atmospheric pressure photoionization high resolution mass spectrometric method for determination of multiclass pesticide residues in grape and mango juices. *Food Chemistry*, 173, 1142-1149.
- [14] Öztekin, I. (2005). Şeftali ve Şeftali Sularında Bazı Organik Fosforlu ve Bromlu Pestisit Kalıntılarının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye, 79s.
- [15] Ertürk, A. (2009). Tekirdağ İlinde Yetiştirilen Yapıncak Üzüm Çeşidinin Yapraklarında Salamura Öncesi ve Sonrası Fungusit Kalıntı Miktarı. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye, 29s.
- [16] Özata, K. (2012). Tokat Yöresinde Üretilen Salamuralık Asma Yapraklarında Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat, Türkiye, 48s.
- [17] Gülcü, M. Torçuk, A.İ. (2016). Yemeklik Asma Yaprığı Üretimi ve Pazarlamasında Kalite Parametreleri, VII. Bahçe Ürünlerinde Muhafaza ve Pazarlama Sempozyumu, Ekim 04-07, 2016, Isparta, Türkiye, 75-79s.
- [18] Lehotay, S.J. (2007). Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 36, 485-520.
- [19] European Commission DG-SANTE. 2017. Method validation and quality control procedures for pesticide residue analysis in food and feed. Document SANTE/11813/2017, January 1, 2018.
- [20] Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği, 2016. T.C. Resmi Gazete, 29899, Kasım 25, 2016.
- [21] Fujita, M., Yajima, T., Iijima, K., Sato, K. (2012). Comparison of the variability in the levels of pesticide residue observed in Japanese cabbage and grape units. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1516-1521.
- [22] Golge, O., Kabak, B. (2018). Pesticides residues in table grape and exposure assessment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 1701-1713.

## **Nar (*Punica granatum L.*) Kabuğunun *In Vitro* Antidiyabetik, Antienflamatuar, Sitotoksik, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi**

Tuğba Demir<sup>1</sup>, Özlem Akpınar<sup>2</sup>, Haki Kara<sup>3</sup>, Hüseyin Güngör<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Sivas

<sup>2</sup>Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat

<sup>3</sup>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bölümü, Sivas

Geliş Tarihi (Received): 05.03.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 25.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [tugbilim@hotmail.com](mailto:tugbilim@hotmail.com) (T. Demir)

📞 0 346 219 10 10/25 95 📠 0 346 219 18 12

### **ÖZ**

Bu çalışmada nar (*Punica granatum L.*) kabuğunun sağlık açısından önemli antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar ve sitotoksik özellikleri araştırılmıştır. Nar kabukları (%33 etanol konsantrasyonu, 78°C, 113 dakika) ekstrakte edilerek fenolik bileşiklerinin kompozisyonu belirlenmiş, yüksek oranda punigalajin, kafeik asit ve epikateşin içerdiği ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen ekstrakt aynı zamanda, seçilen mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger*) karşı antimikrobiyal etki göstermiş ve en fazla mikrobiyal direnci *S. aureus*'a (21 mm; 1.87 mg ekstrakt/mL) karşı olduğu bulunmuştur. Ekstrakt  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerini inhibe etmiş ve antidiyabetik özellik göstermiştir. Aynı zamanda ekstraktın enflamasyondan sorumlu ksantin oksidaz ve lipoksigenaz enzimlerini de inhibe edebildiği ve meme ve kemik kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğu da gözlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktının belirlenen biyolojik aktiviteleri ile gıda ve gıda dışı uygulamalarda kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nar kabuğu, Antimikrobiyal, Antidiyabetik, Antienflamatuar, Sitotoksik

### ***In Vitro* Antidiabetic, Antiinflammatory, Cytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Peel**

#### **ABSTRACT**

In this study, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, antiinflammatory and cytotoxic properties of the pomegranate (*Punica granatum L.*) peel were investigated. The composition of the phenolic compounds of the pomegranate peel extract (33%, 78°C, 113 min) was determined and it was found to contain high amounts of punigalagin, caffeic acid and epicatechin. At the same time, the extract was found to have high antioxidant capacity. It showed antimicrobial activity against selected microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*) and its highest microbial resistance was found to be against *S. aureus* (21 mm; 1.87 mg extract /mL). It inhibited  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes and showed the antidiabetic property. At the same time, the extract was able to inhibit xanthine oxidase and lipoxygenase enzymes that were responsible for the inflammation and its cytotoxic activity on breast and bone cancer cells were also observed. It was concluded that pomegranate peel extracts could be used in food and non-food applications due to its biological activities.

**Keywords:** Pomegranate peel, Antimicrobial, Antidiabetic, Antiinflammatory, Cytotoxic

## GİRİŞ

*Punicaceae* ailesinin içinde yer alan nar meyvesi; antik dönemlerden bu yana mistik özellikleriyle ön plana çıkan, oldukça farklı özelliklere sahip bir meyvedir. Binlerce yıldır farklı medeniyetler tarafından, halk arasında tedavi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [1]. Nar meyvesinin, hastalık riskini azalttığı bildirilen tanen ve fenolik bileşikler açısından zengin olması [2], son yıllarda, popülerlik kazanmasını sağlamış ve Türkiye’de nar üretimini 5 kat artırmıştır [3].

İnsan vücudundaki antioksidan dengesi farklı nedenlerden (çevre kirliliği, yorgunluk, yaş ilerlemesi, aşırı kalori alımı ve yüksek yağlı diyetler) dolayı oksidanlar lehine geliştiğinde, vücut antioksidanlara ihtiyaç duymaktadır. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi oksidatif süreci azalttığından, hem insan vücudunda hem de gıda sistemlerinde oksidatif değişiklikleri kontrol etmede önemli bir rol oynamaktadır [4]. Son yıllarda antibiyotiklerin gelişi-güzel kullanımı ve insan patojeni bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazanmaları nedeniyle, antioksidan ve antimikrobiyal etkili fenolik bileşiklere olan ilgi artmıştır. Bu bileşiklerin ortamda bulunan çeşitli bakteri ve küf türlerinin gelişmesini engellediği ve bu mikroorganizmalardan kaynaklanabilecek çeşitli enfeksiyon hastalıklarının önüne geçilebileceği ve patojenlerin kontrolünde de etkili olabileceği farklı çalışmalarda saptanmıştır [5].

Farklı seviyelerde bitkilerin bütün kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin farklı enzimleri inhibe ettikleri, antialerjen, antimutajen, antikarsinojen, antiglisemik, antikolesterol, antienflamatuar, antitrombotik, vasodilatör ve sakinleştirici özelliklere sahip oldukları bildirilmektedir [6-9]. Yapılan çalışmalarda yüksek fenolik içerikli gıdalara beslenmelerinde yer veren bireylerde, koroner kalp hastalık risklerinin azaldığı bildirilmiştir [10]. *In vitro* araştırmalarda; bitki fenoliklerinin karbonhidrat yıkımında görevli enzimleri inhibe etme yeteneği ile antidiyabetik etkileri [11], LOX inhibe etme kapasiteleriyle antienflamatuar aktiviteleri [12] ve sitotoksik etkilerinin yüksek olması nedeniyle antikanser etkide önemli rol oynadığı vurgulanmıştır [13].

Narın fenolik bileşikler açısından da zengin olduğu yapılan birçok çalışma ile belirtilmiştir [14-17]. Li ve ark. [18]’nın nar kabukları üzerine yaptıkları çalışmada kabuk ve posa kısımlarında, fenolik maddelerin kabukta daha yüksek olduğu, antioksidan aktivite bakımından, posadan daha etkin olduğu saptanmıştır. Nar meyvesinin ve kabuğunun yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik bileşikleri kantitatif olarak incelenmiş ve antosiyaninler, gallotanenler, hidroksisünamik asit, hidroksibenzoik asitler ile elajitanenler ve gallagil esterleri içerdiği tespit edilmiştir [19]. Yapılan çalışmalarda; nar kabuklarının antioksidan [20-23], antimikrobiyal [23, 24], antidiyabetik etkisi olduğu [25], ayrıca antikanser [26-29] ve antienflamatuar aktivitelere [30-32] sahip olduğu rapor edilmiştir.

Her ne kadar nar kabukları ile ilgili çalışmalar olsa da, özellikle gıda ve gıda dışı endüstriyel boyutta

uygulamalarda verimli bir şekilde kullanılabilmesi için, hala fenolik maddelerin etkin bir şekilde ekstrakte edildiği, ekstrakte edilen bu bileşiklerin biyolojik aktivitesinin çok yönlü derinlemesine araştırıldığı ve sonuçların karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı nar kabuğu ekstraktının sağlık açısından önemli biyoaktif özelliklerini incelemektir. Bu amaç doğrultusunda bu çalışmada nar kabuğu ekstraktlarından ekstrakte edilen fenolik bileşik kompozisyonu belirlenmiş, ekstraktın antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar ve sitotoksik özelliklerini araştırılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Nar (*Punica granatum L.*) kabukları farklı zamanlarda yerel marketlerden temin edilen nar meyvesinden elde edilmiş, etüvde (40°C) kurutulduktan sonra toz haline gelinceye kadar kahve öğütücüsünde (Sinbo, Türkiye) öğütülmüş ve +4°C’de analiz edilinceye kadar depolanmıştır.  $\alpha$ -Amilaz (*Aspergillus oryzae*),  $\alpha$ -amilaz (pankreatik),  $\alpha$ -glukozidaz (*Saccharomyces cerevisiae*), ksantin oksidaz ve lipoksigenaz enzimleri Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)’den satın alınmıştır. Meme kanseri MCF-7 (86012803) ve kemik kanseri MG-63 (86051601) hücre hatları da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)’den temin edilmiştir. Eosin Metilen Blue (EMB), Chapman Agar, Sabouraud Glikoz Agar, Mueller Hinton Agar (MHA) ve Mueller Hinton Broth (MHB) Merck (Merck KGaA, Almanya) firmasından alınmıştır. *E. coli* (ATCC 25922), *E. faecalis* (ATCC 29212), *S. aureus* (ATCC 29213), *A. flavus* (ATCC 9170) ve *A. niger* (ATCC 6275) mikroorganizmaları Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Akarboz (Glukobay) Bayer’den (Türkiye), allopurinol (Ürikoliz) Sandoz’dan (Türkiye), metotreksat Koçak-Farma’dan (Türkiye), ampisilin antimikrobiyal duyarlılık diski Oxoid™ (Thermo Fisher Scientific, ABD)’den alınmıştır. Brownlee Analitik C18 (4.6 x 250mm, 5µm) HPLC kolonu Perkin Elmer’den (ABD) temin edilmiştir. Kullanılan diğer tüm kimyasallar analitik standartta olup Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) veya Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) firmalarından alınmıştır.

### Yöntem

#### Ekstraksiyon ve Konsantrasyon

Nar kabukları; daha önceki çalışmada belirlenen (%33 etanol, 78°C ve 113 dakika) koşulda [33], 200:20 (mL solvent/g bitki) oranında solvent ile karıştırılarak ekstraksiyona tabi tutulmuş, ekstrakt önce 5000 rpm’de 10 dakika santrüfuj edilmiş, daha sonrada oda sıcaklığında filtre edilmiştir [34]. Elde edilen filtrat evaporatörde (Buchi, R-300, İsviçre) konsantre edilerek kalın ve viskoz bir materyal elde edilmiş ve kullanılıncaya kadar -18°C’de saklanmıştır [35].

## Toplam Fenolik Madde Tayini

Nar kabuğu ekstraktının toplam fenolik madde içeriği Singleton ve Rossi [36] tarafından 2 N Folin-Ciocalteu fenol ayırıcı kullanılarak tanımlanan yöntemle göre belirlenmiştir. 2 N 100 µL Folin-Ciocalteu fenol ayırıcı, 100 µL ekstrakt, 100 µL standart galik asit çözeltileri, 2.3 mL saf su ve 1 mL %7 sulu sodyum karbonat çözeltisi karıştırılarak ve oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra spektrofotometrede 750 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülmüştür. Tüm analizler iki tekrarlı ve üç paralel olarak yapılmış, sonuçlar galik asit eşdeğeri (GAE) olarak açıklanmıştır.

## Toplam Flavonoid İçeriklerinin Belirlenmesi

Nar kabuğu ekstraktının toplam flavonoid içeriklerinin belirlenmesi Zhishen [37]' e göre yapılmıştır. Kuarsetin standart olarak kullanılmış ve örnekler sırasıyla %5 NaNO<sub>2</sub>, %10 AlCl<sub>3</sub> ve 1 M NaOH ile reaksiyona sokulmuştur. Karışımların 510 nm' de absorbansları ölçülmüştür ve toplam flavonoid miktarları kuarsetin eşdeğeri (KE) olarak ifade edilmiştir.

## Fenolik Bileşiklerin Tanımlanması

Nar kabuğu ekstraktının fenolik bileşik içeriği kantitatif olarak HPLC'de tanımlanmıştır. Örnekler 0.20 µm boyutlu filtrelerden geçirilip DAD detektöre (Diode-Array Detektör; Perkin Elmer Model Flexar, ABD) sahip Perkin Elmer yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) sisteminde Brownlee Analitik C18 (4.6 x 250mm, 5µm) kolonu (Perkin Elmer) ile analiz edilmiştir. Ortofosforik asit ile pH'sı 2.5'e ayarlanan su Solvent A, asetonitril ise Solvent B olarak kullanılmıştır [38]. Örnekler 25 °C'de ve 0.8 mL/dk akış hızı ile %100-%57 su içinde asetonitril gradienti ile kolondan elüt edilmiştir (0- 12 dk %100 A, 8 dk %100-91 A, 12 dk %91-87 A, 10 dk %87-67 A, 18 dk %67-57 A). Ekstraktın fenolik bileşikleri standart fenolik bileşiklerin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak tanımlanmış, konsantrasyonları da farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartların pik alanları kullanılarak çizilen grafiklere göre hesaplanmıştır.

## Antioksidan Aktivite

**Radikal Süpürme Aktivitesi – DPPH:** Nar kabuğu ekstraktının DPPH (2,2 difenil-1-pikrihidrazil) yöntemiyle antioksidan kapasite tayini Brand-Williams ve ark. [39] tarafından açıklanan yöntemle göre yapılmıştır. Sonuçlar Troloks eşdeğeri (TE) olarak açıklanmıştır.

**Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü – FRAP:** Nar kabuğu ekstraktının FRAP yöntemiyle antioksidan kapasite tayini Benzie ve Strain [40] tarafından tanımlanan yöntemle göre yapılmıştır. Sonuçlar Troloks eşdeğeri (TE) olarak açıklanmıştır.

**Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi – TEAC:** Nar kabuğu ekstraktının TEAC yöntemiyle antioksidan kapasite tayini Re ve ark. [41] tarafından açıklanan yöntemle göre yapılmıştır. Sonuçlar Troloks eşdeğeri (TE) olarak açıklanmıştır.

## Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan mikroorganizmaların üretiminde *E. coli* ve *E. faecalis* için Eosin Metilen Blue (EMB) agar, *S. aureus* için Chapman agar (Staphylococcus Selective Agar), *A. flavus* ve *A. niger* için ise Sabouraud glikoz agar kullanılmıştır. Nar kabuğu ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde Ebrahimabadi ve ark. [42] tarafından belirtilen disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Mikroorganizmaların katı besiyerlerinde üretilmiş olup, 18-24 saatlik taze kültürlerinden alınan koloniler serum fizyolojik içinde süspansiyon edilip, 0.5 McFarland bulanıklık tüpüyle kıyaslanarak 10<sup>8</sup> kob/mL'lik dilüsyonları hazırlanmıştır. MHA içeren petrilere bakteri dilüsyonundan 100 µL ekim yapılmıştır. Ekstrakt 6 mm çapındaki steril boş disklerle emdirilmiş, diskler petrilere yerleştirildikten sonra bakteriler 37°C'de, küfler ise 30°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür. Kontrol olarak ekstraksiyon solventi, su ve standart antibiyotik disk olan ampisilin kullanılmıştır.

Nar kabuğu ekstraktının minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) değerlerini belirlemede Oskay ve ark. [43] tarafından açıklanan makrobroth yöntemi esas alınmış ve modifiye edilerek kullanılmıştır. Hazırlanan her bir mikroorganizma kültürlerinden (18 saatlik) 25 µL (1×10<sup>8</sup> kob/mL), 3 mL MHB ve 10 mL farklı dilüsyonlarda hazırlanan ekstrakta (80 µg nar kabuğu ekstrakt/mL-0.156 µg nar kabuğu ekstrakt/mL) aktarılmıştır. Daha sonra bakteriler 37°C'de, küfler ise 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra üremenin görülmediği tüplerdeki en düşük konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir. Ayrıca bulanıklık oluşmayan tüplerden 50 µL alınarak MHA'ya ekim yapılmış, büyüme olup olmadığı kontrol edilmiş ve bu şekilde Minimum Bakterisit Konsantrasyonu (MBK) da belirlenmiştir. Kontrol olarak ampisilin kullanılmıştır.

## Antidiyabetik Aktivite

Ekstraktın alfa amilaz inhibisyon aktivitesi Worthington [44] yönteminin modifiye edilmesiyle ölçülmüş, akarboz pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ekstraktın ve akarbozun 0-10 mg ekstrakt (akarboz)/mL arasında değişen konsantrasyonları hazırlanmış ve küf ve pankreatik kökenli iki α-amilazı inhibe etme kapasiteleri belirlenerek antidiyabetik aktiviteleri ölçülmüştür. Enzimlerin uygun konsantrasyonu ön denemelerle seçilmiş, her iki α-amilazdan (küf α-amilaz: 29 U/mL ve pankreatik α-amilaz: 36 U/mL) 0.5 mL alınarak, 0.5 mL ekstrakt ya da akarboz (0-10 mg ekstrakt/mL veya 0-10 mg akarboz/mL) ile 10 dakika 25°C'de ön inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra enzim/ekstrakt (akarboz) karışımı üzerine 20 mM pH 6.9 fosfat tamponu içinde hazırlanmış 0.5 mL %1'lik patates nişastası çözeltisi eklenmiş ve 25°C'de 30 dakika reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon sonucu oluşan indirgen şeker miktarı Dinitrosalisilik Asit (DNS) yöntemi ile glikoz standardı kullanılarak belirlenmiştir [45] (1 mL örnek, 1.5 mL DNS çözeltisi ile karıştırılmış, 100°C'de 5 dakika kaynatılmıştır, oluşan renk spektrofotometrede 560

nm'de okunmuştur). Ekstraktın her iki  $\alpha$ -amilaz enzimi inhibe etme kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: ekstrakt/akarbozun kullanılmadan enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın indirgen şeker miktarı, A<sub>2</sub>: ekstrakt/akarboz kullanıldığında enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın indirgen şeker miktarıdır. Ekstraktların inhibisyon kapasitesi enzim aktivitesinin %50'sini inhibe eden konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) olarak belirlenmiştir.

Ekstraktın,  $\alpha$ -glukozidaz inhibisyon aktivitesi Worthington [44] yönteminin modifiye edilmesiyle ölçülmüş, akarboz pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.  $\alpha$ -Glukozidaz enziminin uygun konsantrasyonu (0.40 U/mL) ön denemelerle seçilmiş olup, enzim çözeltisinden 0.5 mL alınarak, üzerine 0.5 mL fosfat tamponu (20 mM, pH 6.9) eklenmiş, bunu takiben 0.5 mL ekstrakt ya da akarboz çözeltisinin farklı konsantrasyonları (0-10 mg ekstrakt veya 0-10 mg akarboz/mL) eklenerek 5 dakika 25°C'de ön inkübasyona bırakılmıştır. Ön inkübasyondan sonra 0.5 mL 5 mM *p*-nitrofenil-*a*-D-glukapiranozid çözeltisi eklenerek reaksiyon başlatılmış ve 37°C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon 2 mL 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ile sonlandırılarak oluşan renk spektrofotometrede 405 nm'de ölçülmüştür. Nar kabuğu ekstraktının  $\alpha$ -glukozidaz enzimini inhibe etme kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: ekstrakt/akarbozun kullanılmadan enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansı, A<sub>2</sub>: ekstrakt/akarboz kullanıldığında enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansıdır. Ekstraktların inhibisyon kapasitesi enzim aktivitesinin %50'sini inhibe eden konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) olarak belirlenmiştir.

### Antienflamatuar Aktivite

Ekstraktın lipoksigenaz inhibisyonu aktivitesi Alaba ve ark. [46]'na göre yapılmıştır ve kuarsetin pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Lipoksigenaz enzimi 0.1 M pH 8.0 fosfat tamponu içinde 8460 U/mL aktiviteye sahip olacak şekilde, linoleik asit ise 1980  $\mu$ mol/L konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Lipoksigenaz enziminden 50  $\mu$ L, fosfat tamponundan (0.1 M, pH 8.0) 2740  $\mu$ L ve 0-8 mg/mL arasında değişen nar kabuğu ekstraktından (veya 0-1.13 mg/mL kuarsetin) 10  $\mu$ L alınarak hazırlanan karışım 25°C'de 5 dakika ön inkübasyona bırakılmıştır ve süre sonunda 200  $\mu$ L linoleik asit eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyonun absorbansı spektrofotometrede 234 nm'de 5 dakika boyunca 30 saniyelik aralıklarla ölçülmüştür. Enzimin uygun konsantrasyonu yukarıda açıklanan yöntemde ekstrakt/kuarsetin çözeltisinin fosfat tamponu ile ikame edilmesi ile belirlenmiştir. Ekstraktın lipoksigenaz enzimini inhibe etme kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: ekstrakt/kuarsetin kullanılmadan enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansı, A<sub>2</sub>: ekstrakt/kuarsetin kullanıldığında enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansıdır. Ekstraktın inhibisyon kapasitesi enzim aktivitesinin %50'sini inhibe eden konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) olarak belirlenmiştir.

Ekstraktın ksantin oksidazı inhibe etme aktivitesi, Nessa ve ark. [47]'in belirttiği yöntemle göre ve allopurinol pozitif kontrol olarak kullanılmasıyla belirlenmiştir. Konsantrasyon haldeki bitki ekstraktının veya allopurinolun 0-10 mg ekstrakt (allopurinol)/mL arasında değişen konsantrasyonları hazırlanmıştır. Ksantin oksidaz enziminden (0.1 U/mL) 0.1 mL alınmış, 1.9 mL fosfat tamponu (0.1 M, pH 7.5) ile karıştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktı/allopurinolden (0-10 mg/mL) 1 mL bu karışıma ilave edilmiştir ve 25°C'de 5 dakika ön inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 1 mL ksantin (1.52 mg/mL) eklenerek 25°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon 1 mL 1 M HCl ile sonlandırılarak ürik asit oluşumu 295 nm'de ölçülmüştür. Ekstraktın ksantin oksidaz enzimini inhibe etme kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: ekstrakt/allopurinol kullanılmadan enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansı, A<sub>2</sub>: ekstrakt/allopurinol kullanıldığında enzimatik reaksiyon sonucu elde edilen karışımın absorbansıdır. Ekstraktın inhibisyon kapasitesi enzim aktivitesinin %50'sini inhibe eden konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) olarak belirlenmiştir.

### Sitotoksik Aktivite

Ekstraktın sitotoksik aktiviteleri, Betancur-Galvis ve ark. [48] ile Horakova ve ark. [49] tarafından belirtilen yöntemlerin modifiye edilmesi ile meme kanseri (MCF-7) ve kemik kanser (MG-63) hücrelerine karşı belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktından 0.2 g alınıp 1 mL DMSO'da çözülmüş ve 0.22  $\mu$ m'lik filtrelerden geçirilmiştir. Öncelikle MCF-7 ve MG-63 kanser hücreleri, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ve RPMI 1640 (İçeriği L-glutamin, 2g/L NaHCO<sub>3</sub>) besiyerinde, %5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde 37°C'de geliştirilmiş ve buradan pleytteki hücre miktarı  $1 \times 10^4$  hücre/kuyucuk olacak şekilde 100  $\mu$ L ekim yapılmıştır. Pleytler %5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde 37°C'de 24 saat gelişmeleri için inkübe edilmiş, 24 saat sonunda hücrelerin üzerine 100'er  $\mu$ L taze besiyeri eklenmiş, bu işlemi takiben 20  $\mu$ L konsantrasyonu 8.33-266.62  $\mu$ g/mL arasında değişen bitki ekstraktı ilave edilip tekrar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda pleytteki örneklerin üzerine 10  $\mu$ L MTT (3-(4,5-dimetil-tiazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid) eklenmiş 2 saat daha 37°C'de inkübasyona bırakılmış, daha sonra üzerlerine 100  $\mu$ L %1'lik Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) ilave edilerek 10 dakika çalkalanmış (100 rpm) ve oluşan renk mikroyetki okuyucuda (BioTek, Epoch, ABD) 540 nm'de okunmuştur. Doksorubisin ve metotreksat (0.2 g/mL DMSO) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ekstraktın sitotoksik aktiviteleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;



$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2)/A_1] \times 100$$

A<sub>1</sub>: Ekstrakt eklenmeyen pleyttteki kuyucuğun absorbanası (sadece hücre), A<sub>2</sub>: Ekstrakt eklenen pleyttteki kuyucuğun absorbanası. Ekstraktların sitotoksik aktiviteleri; hücrelerin %50 sini inhibe eden konsantrasyonları (IC<sub>50</sub>) olarak belirlenmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Tanımlanması

Literatürde nar kabuğu ekstraksiyon veriminin uygulanan yöntem, süre ve sıcaklık gibi parametrelere ilaveten kullanılan çözücülerinde toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde içerikleri ve verim üzerinde etkisinin önemli olduğu belirtilmiştir [50]. Nar kabuklarından 78°C de, 113 dakika boyunca %33 etanol konsantrasyonu ile fenolik bileşikler içeren ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt evaporatörde konsantre edilerek, suda çözünür madde konsantrasyonu %42.37 olan viskoz bir ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktın toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Nar kabuğu ekstraktının fenolik bileşiklerinin tanımlanması HPLC ile yapılmış ve sonuçlar Tablo 2'de

sunulmuştur. Ekstrakta 14 adet fenolik bileşik tanımlanmış ve en fazla punigalajin içerdiği, bunu kafeik asit, epikateşin ve ferulik asitin izlediği görülmektedir (Tablo 2). Nar kabuğu ile ilgili yapılan bir çalışmada gallik asit (2.69 mg/g), punikalajin (64.98 mg/g), kateşin (12.65 mg/g), klorojenik asit (0.35 mg/g), kafeik asit (0.02 mg/g), epikateşin (0.94 mg/g), rutin (0.36 mg/g) ve elajik asit (2.83 mg/g) tanımlanmıştır [51]. Diğer bir çalışmada gallik asit (71 mg/g), punikalajin (296 mg/g), kuarsetin (40 mg/g), kaempferol (62 mg/g), kafeik asit (11 mg/g), sinapik asit (17 mg/g), kumarik asit (32 mg/g), elajik asit (18 mg/g) ve ferulik asit (28 mg/g) içerdiği bulunmuştur [52].

Bu çalışmada nar kabuğu ekstraktında gallik asit, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, elajik asit, ferulik asit, kuarsetin, kaempferolün yanında pirogallol, şiringik asit, 2,4 hidroksibenzoik asit, vanilik asit, rosmarinik asit ve naringenin tanımlanmış ve literature benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gil ve ark. [53] tarafından yapılan araştırmada, nar kabuğunun yüksek oranda elajik asit, gallik asit ve bu bileşiklerin izomerleri içerdiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada elajik asit 23.53 mg/mg nar kabuğu ekstraktı, gallik asit ise 10.19 mg/mg nar kabuğu ekstraktı olarak bulunmuş ve nar kabuğu ekstraktının sağlık açısından oldukça önemli fenolik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir.

Tablo 1. Nar kabuğu ekstraktının toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitesi

		Nar Kabuğu Ekstraktı
Toplam Fenolik (mg GAE/g ekstrakt)		540.26±0.02
Toplam Flavonoid (mg KE/g ekstrakt)		22.01±0.01
Antioksidan Aktivite (µmol TE/g ekstrakt)	DPPH	4.48±0.02
	TEAC	5.31±0.02
	FRAP	13.36±0.03

\*E:Ekstrakt

Tablo 2. Nar kabuğu ekstraktının HPLC'de tanımlanan fenolik bileşik içerikleri

No	Fenolik Bileşik	Nar Kabuğu (mg/g ekstrakt)
1	Gallik asit	10.19±0.21
2	Kafeik asit	53.28±0.98
3	Ferulik asit	40.63±0.76
4	Kateşin	26.81±0.52
5	2,4 hidroksibenzoik asit	16.84±0.35
6	Klorojenik asit	14.04±0.30
7	Elajik asit	23.53±0.45
8	Vanilik asit	26.25±0.49
9	Kuarsetin	27.60±0.58
10	Epikateşin	51.93±0.98
11	Kaempferol	10.69±0.18
12	Rosmarinik asit	6.83±0.13
13	Naringenin	5.66±0.09
14	Punigalajin	168.01±3.32

## Nar Kabuğu Ekstraktının Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitesi

Antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin yapıları ve özellikleri birbirinden çok farklı olduğundan, tek bir yöntem ile ölçüm yetmemekte, birden fazla ölçüm yöntemi ile antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi gerekmektedir [54]. İncelenen nar kabuğu ekstraktının DPPH, FRAP ve TEAC ile ölçülen antioksidan aktiviteleri sırasıyla 4.48  $\mu\text{mol TE/g}$  ekstrakt, 13.36  $\mu\text{mol TE/g}$  ekstrakt ve 5.31  $\mu\text{mol TE/g}$  ekstrakt olarak bulunmuştur (Tablo 1). Nar kabuğu ile daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde farklı şekillerde kurutulan ekstraktların antioksidan kapasitesinin 351.36-595.71  $\mu\text{mol TE/g}$  (DPPH) ve 871.73-1056.34  $\mu\text{mol TE/g}$  ekstrakt (TEAC) olarak bildirilmiştir [22]. Nar kabuklarının altı farklı solvent ile hazırlanan ekstraktlarında, en yüksek ekstraksiyon verimin etanol ile hazırlanan ekstraktlarda (>%50); radikal süpürme aktivitesinin ise metanol ile hazırlanan ekstraktlarda yüksek (DPPH>%70) olduğu belirtilmiştir [21]. Diğer bir çalışmada ise etanol ile hazırlanan ekstraktlarda antioksidan aktivite 179.85 mM TE/g ekstrakt (TEAC) ve 208.91  $\mu\text{g/mL}$  (DPPH) olarak belirlenirken [55], %80 metanol ekstraksiyonu sonucu 1000  $\mu\text{g/mL}$  olarak hazırlanan nar kabuğu ekstraktlarının DPPH çözeltisinin rengini %71.65-83.56 oranında açtığı tespit edilmiştir. [56]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında ekstraktların antioksidan aktivitelerinin literatürden farklı olmasının nedenleri olarak, ekstraksiyon koşullarının, kullanılan solventin ve en önemlisi ekstraksiyon sonucunda ekstrakta uygulanan kurutma ve konsantrasyon işlemlerinin derecesi ve farklılığı ile antioksidan aktiviteyi ifade etmede kullanılan yöntem farklılığı gibi etmenlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Mikroorganizma gelişmesini durdurmak ve daha sonrasında oluşabilmesi muhtemel ikincil bir enfeksiyonun önüne geçebilmek, bitkisel kökenli antimikrobiyal ajanlarda beklenen özelliklerdir [57]. Bu çalışmada, gıda kaynaklı çeşitli enfeksiyonlara (bakteriler) ve intoksikasyonlara (küfler) neden olan birçok bakteri ve küf arasından en önemli ve en sık karşılaşılan mikroorganizmalar seçilmiş, nar kabuğu ekstraktının disk difüzyon ve MİK yöntemleri ile antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş ve sonuçlar Tablo 3'te sunulmuştur. Mikroorganizmalar arasında, ekstrakt en fazla inhibisyonu *S. aureus*'a karşı göstermiş (21.00 mm), *E. coli*'yi ise en düşük oranda inhibe etmiştir (16.50 mm). *A. flavus* ise, *A. niger*'e göre ekstrakta daha fazla direnç göstermiştir (21.00 mm>17.50 mm). *E. faecalis* için belirlenen inhibisyon zonu ise 18.50 mm'dir (Tablo 3). Ekstraktın MİK değerleri bakterilerden *S. aureus*, küflerden ise *A. niger*'e karşı en düşük değerleri göstermiş ve 1.87 mg ekstrakt/mL olarak ölçülmüştür (Tablo 3). Daha önceki çalışmalarda, nar kabuğu ekstraktının MİK değeri *Listeria monocytogenes* için 1.5 mg/mL, *S. aureus* için 1.5 mg/mL ve *E. coli* için 3 mg/mL bulunmuş ve nar kabuğunun gram(+) bakteriler üzerinde daha etkili olduğu bildirilmiştir [24]. Farklı bir çalışmada *S. aureus* (0.39 mg/mL) üzerinde *E. coli*'ye (0.78 mg/mL) göre daha etkin bulunmuştur [20]. Diğer bir çalışmada ise metanol ile ekstrakte edilmiş nar kabuğu ekstraktının farklı patojen mikroorganizmalar (*Salmonella spp.*, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*) üzerindeki MİK değerleri 20-50 mg/mL arasında değiştiği belirtilmiştir [58]. Sonuçlar bu çalışma bulguları ile paralellik göstermiş olup, nar kabuğu ekstraktlarının, gerek gıdalarda, gerekse gıda dışı uygulamalarda oksidatif değişimleri ve istenmeyen mikrobiyal aktiviteleri kontrol etmek amacıyla kullanımı potansiyeli olabileceğini göstermiştir.

Tablo 3. Nar kabuğu ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi\*

Mikroorganizma	Nar kabuğu ekstraktının inhibisyon zon çapı (mm)	Ampisilin inhibisyon zon çapı (mm)		Nar Kabuğu (mg ekstrakt/mL)	Ampisilin (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	21.00±1.00	26.00	MİK	1.87±0.00	0.48±0.00
			MBK	1.87- Üreme yok	0.48- Üreme yok
<i>E. faecalis</i>	18.50±0.71	24.00	MİK	3.75±0.00	0.48±0.00
			MBK	3.75- Üreme yok	0.48- Üreme yok
<i>E. coli</i>	16.50±0.71	23.50	MİK	3.75±0.00	0.96±0.00
			MBK	3.75- Üreme yok	0.96- Üreme yok
<i>A. niger</i>	21.00±0.00	25.50	MİK	1.87±0.00	0.96±0.00
			MBK	1.87- Üreme yok	0.96- Üreme yok
<i>A. flavus</i>	17.50±0.71	25.00	MİK	3.75±0.00	0.96±0.00
			MBK	3.75- Üreme yok	0.96- Üreme yok

\*: Disk Çapı = 6mm

## Nar Kabuğu Ekstraktının Antidiyabetik Aktivitesi

Diyabet tedavisinde tercih edilen ilaçların bir grubu, metabolizmada karbonhidrat yıkımından sorumlu  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz gibi enzimleri inhibe ederek, karbonhidratların glukoza parçalanmasını kontrol altına almaktadır [59]. Daha önceki yapılan çalışmalarda fenolik bileşiklerin bu enzimleri inhibe edebileceği ve

karbonhidrat emilimini geciktirerek bir antidiyabetik ajandan beklenen yukarıda belirtilen rolü üstlenebileceği belirtilmiştir [60, 61]. Bu çalışmada nar kabuğu ekstraktının antidiyabetik özellikleri; küf (*Aspergillus oryzae*) ve pankreatik kökenli  $\alpha$ -amilaz ile  $\alpha$ -glukozidaz (*Saccharomyces cerevisiae*) enzimlerini inhibe etme kapasitesi ile araştırılmıştır ve ekstraktının IC<sub>50</sub> değeri ile akarboz eşdeğeri (AE) Tablo 4'te sunulmuştur. Nar

kabuğu ekstraktının; küf ve pankreatik  $\alpha$ -amilaz enzimlerinin %50 aktivitesini inhibe eden miktarları sırasıyla 8.72 mg ekstrakt/mL ve 10.11 mg ekstrakt/mL,  $\alpha$ -glukozidaz enziminin %50 aktivitesini inhibe eden değer ise 10.77 mg/mL olarak belirlenmiştir. Küf ve pankreatik  $\alpha$ -amilaz ile  $\alpha$ -glukozidaz enzimlerinin %50'sini inhibe eden, akarboz

konsantrasyonu ise sırasıyla 6.04 mg/mL, 7.11 mg/mL ve 7.66 mg/mL olarak bulunmuştur. Tablo 4'ten de görüleceği üzere nar kabuk ekstraktının akarboza en yakın eşdeğeri küf kökenli  $\alpha$ -amilaz enziminde ölçülürken bunu pankreatik  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukozidaz takip etmiştir.

Tablo 4. Nar kabuğu ekstraktının antidiyabetik aktivitesi

	IC <sub>50</sub> değerleri (mg/mL)		
	$\alpha$ -Amilaz ( <i>A. oryzae</i> )	$\alpha$ -Amilaz (Pankreatik)	$\alpha$ -Glukozidaz ( <i>S. cerevisiae</i> )
Akarboz (mg akarboz/mL)	6.04	7.11	7.66
Nar Kabuğu (mg ekstrakt/mL)	8.72	10.11	10.77
	Akarboz Eşdeğeri (mg AE/mg ekstrakt)		
	$\alpha$ -Amilaz ( <i>A. oryzae</i> )	$\alpha$ -Amilaz (Pankreatik)	$\alpha$ -Glukozidaz ( <i>S. cerevisiae</i> )
Nar Kabuğu (mg akarboz /mg ekstrakt)	0.80±0.16	0.76±0.08	0.81±0.15

AE: Akarboz Eşdeğeri

Daha önce yapılan araştırmalarda, nar kabuklarının  $\alpha$ -glukozidaz enziminin %50'sini inhibe eden değer 5.56 mg/mL olarak belirlenmiş,  $\alpha$ -amilaz enziminin inhibe etme kapasitesinin ise önemsiz olduğu rapor edilmiştir [62]. Farklı bir çalışmada  $\alpha$ -glukozidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzimleri için ölçülen IC<sub>50</sub> aralıkları sırasıyla 0.26-4.57  $\mu$ g/mL ve 23.6-284.3  $\mu$ g/mL şeklinde belirtilmiştir [63]. Nar kabuklarının antihiperlipidemik aktivitesinin ölçüldüğü farklı çalışmalarda,  $\alpha$ -glukozidaz enzim inhibisyonunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir [64, 65]. Bu çalışmada elde edilen ekstraktların  $\alpha$ -glukozidaz enzimini literature göre daha düşük oranda inhibe ettiği belirlenirken, her iki  $\alpha$ -amilazı ise önemli derecede inhibe ettiği gösterilmiştir. Sonuçlar, nar kabuğu ekstraktının akarbozun %76-81 arasında aktiviteye sahip olduğunu ve kan şekeri kontrol etmede kullanılabileceğini desteklemektedir.

### Nar Kabuğu Ekstraktının Antienflamatuar Aktivitesi

Nar kabuklarının antienflamatuar özelliğinin belirlenmesi için; ekstraktların ksantin oksidaz ve lipoksigenaz enzimlerini inhibe etme kapasiteleri incelenmiştir. Lipoksigenazlar birçok enflamasyon kaynaklı hastalıkta önemli rol oynamaktadır [66]. Ksantin oksidazlar ise gut hastalığı sonucu oluşan ürik asitin oluşturduğu doku şişliği ve ağrı ile ilişkilendirilmektedir [67, 68]. Tablo 5'te antienflamatuar aktivitede kullanılan nar kabuğunun IC<sub>50</sub> değerleri ile kuarsetin ve allopurinol eşdeğerleri verilmiştir. Lipoksigenaz enziminin %50'sini inhibe eden kuarsetin konsantrasyonu 1.22 mg ekstrakt/mL olarak hesaplanmıştır. Ksantin oksidazın %50 aktivitesini inhibe eden allopurinol konsantrasyonu ise 4.58 mg ekstrakt/mL olarak bulunmuştur. Nar kabuğu ekstraktının lipoksigenazın %50 aktivitesini inhibe eden miktarı 8.96 mg ekstrakt/mL, ksantin oksidaz için 5.46 mg ekstrakt/mL olarak hesaplanmış, lipoksigenaz için kuarsetin eşdeğeri 0.18 mg kuarsetin/mg ekstrakt, ksantin oksidaz için ise 0.80 mg allopurinol/mg ekstrakt olarak tespit edilmiştir.

Bitkilerin enzimlerini inhibe etme yetenekleri bitkinin türüne, yetiştiği bölgeye, uygulanan ekstraksiyon yöntemine, elde edilen ekstraktların fenolik kompozisyonuna ve miktarına göre değiştiğinden, sonuçların daha önceki çalışmalarla karşılaştırılması kolay değildir. Bununla beraber, bu çalışmada ekstrakta bulunan fenolik bileşiklerin antienflamatuar etkileri, literatürde yapılan çalışmalara benzer bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarda nar kabuğunun yapısında bulunan elajik asit [26], oleanolik asit, ursolik asit, klorojenik asit, epikateşin ve rutin [69] bileşiklerinin antienflamatuar aktivite de önemli görev üstlendikleri belirtilmiştir. Bu çalışmada nar kabuğu ekstraktının elajik asit (23.5 mg/g), klorojenik asit (14.04 mg/g) ve epikateşin (51.93 mg/g) içerdiği belirlenmiş, antienflamatuar aktivitesinde önemli etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Farklı bir çalışmada nar kabuğunun ksantin oksidaz enzimini inhibe etme yeteneği ölçülmüş ve %30-44 arasında değişen inhibisyon oranlarının ürik asit oluşumu üzerinde azaltıcı etkisi olduğu belirtilmiştir [70]. Bu çalışmada ise nar kabuğu ekstraktının, ürik asit oluşumundan sorumlu ksantin oksidaz enzimini daha iyi inhibe ettiği tespit edilmiştir.

### Nar Kabuğu Ekstraktının Sitotoksik Aktivitesi

Kemoterapide sık kullanılan ilaçlar, sitotoksik etki göstererek ilgili kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalmalarını önleyen ve hatta bu hücrelerin ölümüne yol açmakta [71]; ancak hastalarda, istenmeyen yan etkilere de neden olmaktadır. Bu nedenle kanser tedavisi için araştırmalar sürekli devam etmekte, özellikle bitkiler bu konuda çok fazla araştırılmaktadır. Çalışma kapsamında incelenen nar kabuğu ekstraktının; MCF-7 ve MG-63 hücre hatları üzerindeki sitotoksitesisi incelenmiştir. Nar kabuğu ekstraktının MCF-7 ve MG-63 hücrelerinin %50 aktivitesini inhibe eden miktarları sırasıyla 56.88  $\mu$ g ekstrakt/mL ve 57.33  $\mu$ g ekstrakt/mL olarak hesaplanmıştır (Tablo 6). Ekstraktın MCF-7 ve MG-63 için doksorubisin eşdeğerleri sırasıyla 0.86; 0.87  $\mu$ g DE/ $\mu$ g ekstrakt, metotreksat eşdeğerleri ise sırasıyla 0.90; 0.87  $\mu$ g MT/ $\mu$ g ekstrakt olarak tespit edilmiştir.

Tablo 5. Nar kabuğu ekstraktının antienflamatuar aktivitesi

IC <sub>50</sub> değerleri (mg/mL)			
		Lipoksigenaz	Ksantin Oksidaz
Allopurinol (mg allopurinol/mL)		-	4.58
Kuarsetin (mg kuarsetin/mL)		1.22	-
Nar Kabuğu (mg bitki ekstraktı /mL)		8.96	5.46
Lipoksigenaz		Ksantin Oksidaz	
Kuarsetin Eşdeğerleri (mg KE /mg ekstrakt)		Allopurinol Eşdeğerleri (mg AE /mg ekstrakt)	
Nar Kabuğu (mg kuarsetin /mg bitki ekstraktı)	0.18±0.04	Nar Kabuğu (mg allopurinol /mg bitki ekstraktı)	0.80±0.05

KE: Kuarsetin Eşdeğerleri; AE: Allopurinol Eşdeğeri

Tablo 6. Nar kabuğu ekstraktının sitotoksik aktivitesi

IC <sub>50</sub> değerleri (µg/mL)			
		MCF-7	MG-63
Doksorubisin		45.81	44.49
Metotreksat		47.23	44.30
Nar Kabuğu Ekstraktı		56.88	57.33
Doksorubisin Eşdeğerleri µg DE/µg ekstrakt		Metotreksat Eşdeğerleri µg MT/µg ekstrakt	
		MCF-7	MG-63
Nar Kabuğu Ekstraktı	0.86±0.14	0.87±0.17	0.90±0.15

DE: Doksorubisin Eşdeğeri; MT: Metotreksat Eşdeğeri

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, nar kabuğundaki, elajik asit ve gallik asidin meme kanseri hücrelerinin apoptozunda etkili olduğu bulunmuştur [72]. Farklı çalışmalarda, nar kabuğunda bulunan kafeik asidin kanser hücrelerinde metastazı baskıladığı [73], kuarsetinin apoptosis ve anti tümör etkisinin olduğu [74], elajitanenlerin (punikalın ve punikalajin) kolon kanseri üzerinde antiproliferatif etkisi olduğu [26, 27], kaempferolün, kuarsetin ile birlikte sinerjist etki göstererek göğüs kanserinde hücre proliferasyonu üzerinde etkili olduğu [28] bildirilmiştir. Ayrıca epikateşin içeriği yüksek bazı bitkilerin lösemi ve karaciğer kanseri sebebi olan tümör hücrelerini önemli derecede inhibe ettiği rapor edilmiştir [75-77]. Bu çalışmada da nar kabuğu ekstraktında bahsedilen bileşiklerden gallik asit (10.19 mg/g), kafeik asit (53.28 mg/g), kuarsetin (27.60 mg/g), elajik asit (23.53 mg/g), epikateşin (51.93 mg/g) ve kaempferol (10,69 mg/g) tespit edilmiş olup, her iki kanser hücrelerine gösterdiği yüksek sitotoksikite daha önceki çalışmalarla benzer bulunmuştur.

## SONUÇ

Bu çalışmada nar kabuğunun antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri sayesinde gıdalarda oksidatif değişimleri ve istenmeyen mikrobiyal aktiviteleri kontrol etmede etkili olabileceği, karbonhidratların glukozu parçalamasını farklı derecelerde olsa da engelleyebileceğini, bu şekilde glukozun sindirimini, emilimini geciktirebileceğini ve yemek sonrası hiperglisemiye azaltma potansiyelinin olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda nar kabuklarının farklı oranlarda antienflamatuar etkisi saptanmış olup, sitotoksik özellikleri ile kanser tedavisi ve riskini

azaltmada etkin rol oynayabileceği belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçları, yapılacak olan *in-vivo* çalışmalara temel oluşturacaktır ve endüstriyel boyuta taşındığında, nar kabuğunun antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar ve antikanser aktiviteleri ile hem gıda hem de gıda dışı (ilaç endüstrisi gibi) alanlarda kullanım potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından V-056 nolu proje ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları, Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara.
- [2] Jaiswal, V., DerMarderosian, A., Porter, J.R. (2010). Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Food Chemistry*, 118(1), 11-16.
- [3] T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- [4] Samaranayaka, A.G.P., Li-Chan, E.C.Y. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Food*, 3(4), 229-254.

- [5] Yusof, H., Radzi, N.A.S.M., Richard, R.L. (2018). Qualitative phytochemical analysis and antimicrobial activity of piper sarmentosum leaves extract against selected pathogens. *Malaysian Journal of Health Sciences*, 17.1.
- [6] Wanasundara, U.N., Shahidi, F. (1998). Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63(3), 335-342.
- [7] Naczki, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- [8] Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(1): 116-134.
- [9] Sharmila, G., Bhat, F.A., Arunkumar, R., Elumalai, P., Singh, P.R., Senthilkumar, K., Arunakaran, J. (2014). Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in in vivo model. *Clinical Nutrition* 33(4), 718-726.
- [10] Skowrya, M., Falguera, V., Gallego, G., Peiro, S., Almajano, M.P. (2014). Antioxidant properties of aqueous and ethanolic extracts of tara (*Caesalpinia spinosa*) pods *in vitro* and in model food emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 911-918.
- [11] Mai, T.T., Thu N. N., Tien P.G., Van Chuyen, N. (2007). Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53(3), 267-276.
- [12] Tomy M. J., Sharanya C. S., Dileep K. V., Prasanth S., Sabu A., Sadasivan C., Haridas M. (2014). Derivatives form better lipooxygenase inhibitors than piperine: *in vitro* and in silico study. *Chemical Biology and Drug Design*, 85(6), 715-721.
- [13] Kulkarni, S.G., Vijayanand, P. (2010). Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). *Food Science and Technology*, 43(7), 1026-1031.
- [14] Wang, R., Ding, Y., Liu, R., Xiang, L., Du, L. (2010). Pomegranate: Constituents, bioactivities and pharmacokinetics. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 4(2), 77-87.
- [15] Prakash, C.V.S., Prakash, I. (2011). Bioactive chemical constituents from pomegranate (*Punica granatum*) juice, seed and peel-a review. *International Journal of Research in Chemistry and Environment*, 1(1), 1-18.
- [16] Amyrgialaki, E., Makris, D.P., Mauromoustakos, A., Kefalas, P. (2014). Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 59, 216-222.
- [17] Nahar, P.P., Driscoll, M.V., Li, L., Slitt, A.L., Seeram, N.P. (2014). Phenolic mediated anti-inflammatory properties of a maple syrup extract in RAW 264.7 murine macrophages. *Journal of Functional Foods*, 6, 126-136.
- [18] Li, Y., Guo, C., Jijun, Y., Wei, J., Xu, J., Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260.
- [19] Yılmaz, B., Usta, C., (2011). Narın (*Punica granatum*) terapötik etkileri. *Türk Aile Hekimliği Dergisi*, 14(3), 146-153.
- [20] Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Makunga, N.P., Opara, U.L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 143.
- [21] Malviya, S., Jha, A., Hettiarachchy, N. (2014). Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4132-4137.
- [22] Marchi, L.B., Monteiro, A.R., Mikcha, J.M., Santos, A.R., Chinellato, M.M., Marques, D.R., Costa, S.C. (2015). Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of pomegranate peel extract (*Punica granatum* L.) under different drying temperatures. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 121-126.
- [23] Türkyılmaz, M., Tağı, Ş., Özkan, M. (2017). Effects of extraction solvents on polyphenol contents, antioxidant and antibacterial activities of pomegranate parts. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 15(2), 109-118.
- [24] Al-Zoreky, N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244-248.
- [25] Jain, V., Viswanatha, G.L., Manohar, D., Shivaprasad, H.N. (2012). Isolation of antidiabetic principle from fruit rinds of *Punica granatum*. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine*, 147202, 1-11.
- [26] Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y., Sand, D., Heber, D. (2006). Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 980-985.
- [27] Seeram, N.P., Schulman, R.N., Heber, D. (2006). Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine. Taylor and Francis CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- [28] Ackland, M.L., VandeWaarsenburg, S., Jones, R. (2005). Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines. *International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research*, 19, 69-76.
- [29] Horinaka, M., Yoshida, T., Shiraiishi, T., Nakata, S., Wakada, M., Nakanishi, R., Nishino, H., Matsui, H., Sakai, T. (2005). Luteolin induces apoptosis via death receptor 5 upregulation in

- human malignant tumor cells. *Oncogene*, 24(48), 7180-7189.
- [30] Brusselmans, K., Vrolix, R., Verhoeven, G., Swinnen, J.V. (2005). Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(7), 5636–5645.
- [31] Hou, D.X., Ose, T., Lin, S., Harazoro, K., Imamura, I., Kubo, M., Uto, T., Terahara, N., Yoshimoto, M., Fujii, M. (2003). Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: Structure-activity relationship and mechanisms involved. *International Journal of Oncology*, 23(3), 705-712.
- [32] Lansky, E.P., Harrison, G., From, P., Jiang, W. G. (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across matrigel. *Investigational New Drugs*, 23, 121-2.
- [33] Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., Güngör, H. (2019). Nar kabuğundan antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. *Gıda* (kabul edildi, basımda)
- [34] Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H. (2014). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157-2184.
- [35] Maisuthisakul, P., Suttajit, M., Pongsawatmanit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4):1409-1418.
- [36] Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- [37] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.
- [38] Ávila-Reyes, J. A., Almaraz-Abarca, N., Chaidez-Ayala, A. I., Ramírez-Noya, D., Delgado-Alvarado, E. A., Torres-Ricario, R., Alanís-Bañuelos, R.E. (2018). Foliar phenolic compounds of ten wild species of Verbenaceae as antioxidants and specific chemomarkers. *Brazilian Journal of Biology*, 78(1), 98-107.
- [39] Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- [40] Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- [41] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
- [42] Ebrahimabadi, A.H., Bidgoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F.J., Batooli, H. (2010). Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. *Food Control*, 21, 1173-1178.
- [43] Oskay, M., Aktaş, K., Sarı, D., Azeri, C. (2007). *Asphodelus aestivus* (Liliaceae)'un antimikrobiyal etkisinin çukur ve disk diffüzyon yöntemiyle karşılaştırmalı olarak belirlenmesi. *Ekoloji Dergisi*, 16, 62-65.
- [44] Worthington, V. (1993) Alpha amylase. In: Worthington V, ed. *Worthington Enzyme Manual; enzymes and related biochemicals*. Lakewood, NJ: Worthington Biochemical Company, 36-41.
- [45] Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- [46] Alaba, C.S.M., Chichioco-Hernandez, C.L. (2014). 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4 (3), 184-188.
- [47] Nessa, F., Ismail, Z., Mohamed, N. (2010). Xanthine oxidase inhibitory activities of extracts and flavonoids of the leaves of *Blumea balsamifera*. *Pharmaceutical Biology*, 48(12), 1405-1412.
- [48] Betancur-Galvis, L.A., Morales, G.E., Forero, J.E., Roldan, J. (2002). Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the Euphorbia genus. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(4), 541-546.
- [49] Horakova, K., Sovcikova, A., Seemannova, Z., Syrova, D., Busanyova, K., Drobna, Z., Ferencik, M. (2001). Detection of drug-induced, superoxide-mediated cell damage and its prevention by antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(6), 650-664.
- [50] Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., Nunez, M. J., Nicoli, M.C. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food Chemistry*, 92(1), 109-117.
- [51] Singh, R.P., Chidambara-Murthy, K.N., Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (1), 81-86.
- [52] Ibrahim, M.I. (2010). Efficiency of pomegranate peel extract as antimicrobial, antioxidant and protective agents. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6 (4), 338-344.
- [53] Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4581-4589.
- [54] MacDonald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046-2056.

- [55] Mushtaq, M., Sultana, B., Anwar, F., Adnan, A., Rizvi, S.S. (2015). Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel. *The Journal of Supercritical Fluids*, 104, 122-131.
- [56] Fawole, O.A., Makunga, N.P., Opara, U.L. (2012). Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 200.
- [57] Farag, M.A., Al-Mahdy, D.A., Salah El Dine, R., Fahmy, S., Yassin, A., Porzel, A., Brandt, W. (2015). Structure activity relationships of antimicrobial gallic acid derivatives from pomegranate and acacia fruit extracts against potato bacterial wilt pathogen. *Chemistry & Biodiversity*, 12(6), 955-962.
- [58] Gullon, B., Pintado, M.E., Pérez-Álvarez, J.A., Viuda-Martos, M. (2016). Assessment of polyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction. *Food Control*, 59, 94-98.
- [59] Dik, B. (2013). Metabolik sendromun tedavisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 259-269.
- [60] Jung, M., Park, M., Lee, H.C., Kang, Y.H., Kang, E.S., Kim, S.K. (2006). Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current Medicinal Chemistry*, 13 (10), 1203-1218.
- [61] Longo, R. (2010). Diabetes under control: Understanding oral antidiabetic agents. *The American Journal of Nursing*, 110(2), 49-52.
- [62] Çam, M., İçyer, N.C. (2015). Phenolics of pomegranate peels: extraction optimization by central composite design and alpha glucosidase inhibition potentials. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1489-1497.
- [63] Šavikin, K., Živković, J., Alimpić, A., Zdunić, G., Janković, T., Duletić-Laušević, S., Menković, N. (2018). Activity guided fractionation of pomegranate extract and its antioxidant, antidiabetic and antineurodegenerative properties. *Industrial Crops and Products*, 113, 142-149.
- [64] Kam, A., Li, K.M., Razmovski-Naumovski, V., Nammi, S., Shi, J., Chan, K., Li, G.Q. (2013). A Comparative Study on the Inhibitory Effects of Pomegranate on  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase. *Phytotherapy Research*, 27(11), 1614-1620.
- [65] Hasenah, P., Houghton, J., Soumyanath, A. (2006).  $\alpha$ -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology* 10(3), 449-455.
- [66] Trouillas, P., Calliste, C.A., Allais, D.P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., Duroux, J.L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry*, 80(3), 399-407.
- [67] Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y. (2006). İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, 21-37s, Ankara.
- [68] Nishino, T., Okamoto, K., Eger, B.T., Pai, E.F., Nishino, T. (2008). Mammalian xanthine oxidoreductase—mechanism of transition from xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *The FEBS Journal*, 275(13), 3278-3289.
- [69] Çam, M., İçyer, N.C., Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 117-123.
- [70] Akhtar, S., Ismail, P., Riaz, M., Ismail, A., Labbe, R.G. (2016). Antioxidant, antimicrobial and urease inhibitory activities of phenolics-rich pomegranate peel hydro-alcoholic extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 40(4), 550-558.
- [71] Tew, K.D., Gate, L. (2001). Glutathione S-transferases as emerging therapeutic targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 5(4), 477.
- [72] Çağlar, H.O., Süslüer, S.Y., Kavaklı, Ş., Gündüz, C., Ertürk, B., Özkınay, F., Haydaroğlu, A. (2017). Meme kanseri kök hücrelerinde elajik asit ile indüklenmiş mRNA'ların ifadesi ve elajik asidin apoptoz üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi*, 56(4), 183-192.
- [73] Hwang, H.J., Park, H.J., Chung, H.J., Min, H.Y., Park, E.J., Hong, J.Y., Lee, S.K. (2005). Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(5), 356-362.
- [74] Yang, J.H.H., Hsia, T.C., Kuo, H.M., Chao, P.D., Chou, C.C., Wei, Y.H., Hchung, J.G. (2006). Inhibition of lung cancer cell growth by quercetin glucuronides via G2/M arrest and induction of apoptosis. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 34(1), 296-304.
- [75] Lea, M.A., Xiao, Q., Sadhukhan, A.K., Cottle, S., Wang, Z.Y., Yang, C.S. (1993). Inhibitory effects of tea extracts and (-)-epigallocatechin gallate on DNA synthesis and proliferation of hepatoma and erythroleukemia cells. *Cancer letters*, 68(2), 231-236.
- [76] Sakarkar, D.M., Deshmukh, V.N. (2011). Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants for anticancer activity. *International Journal of PharmTech Research*, 3(1), 298-308.
- [77] Moradzadeh, M., Roustazadeh, A., Tabarraei, A., Erfanian, S., Sahebkar, A. (2017). Epigallocatechin-3-gallate enhances differentiation of acute promyelocytic leukemia cells via inhibition of PML-RAR $\alpha$  and HDAC1. *Phytotherapy Research*, 3, 1-9.

## Süt Yağının Toza Dönüştürülmesi ve Krema Tozu

Ahsen Burçin Himmetağaoğlu<sup>1</sup>, Zafer Erbay<sup>2</sup>, Mustafa Çam<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanoteknoloji ve Mühendislik Bilimleri Anabilim Dalı, Seyhan, Adana

<sup>2</sup> Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Seyhan, Adana

<sup>3</sup> Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Melikgazi, Kayseri

*Geliş Tarihi (Received): 28.07.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 18.12.2017*

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [ahsenburcin@yandex.com](mailto:ahsenburcin@yandex.com) (A.B. Himmetağaoğlu)*

☎ 0 322 455 00 00 📠 0 322 455 00 09

### ÖZ

Süt yağı, tereyağı ve krema gibi bazı süt ürünlerinin ana maddesi olmasının yanı sıra, çeşitli süt ürünlerinde de kalite artırıcı bir bileşendir. Dünya çapında artan süt üretimi ve tüketicilerin beslenme alışkanlıklarının değişmesiyle yağ içeriği düşük ürünlere artan eğilim, süt yağı ve tereyağında üretim fazlasının oluşmasına neden olmuştur. Süt yağının raf ömrü kısadır ve oksidasyona karşı dayanıksızdır. Oda koşullarında tereyağı olarak depolandığında yaklaşık 4 hafta, buzdolabı koşullarında ise yaklaşık 6 ay bozulmadan saklanabilmektedir. Ancak soğukta depolama seçeneği çok maliyetlidir ve süt yağının kurutulması önemli bir dayandırma alternatifi olarak öne çıkmaktadır. Süt yağı püskürtmeli kurutma yöntemi ile toz forma dönüştürülebilmektedir. Ancak kurutulmuş halde dahi süt ve ürünlerinin tozlarında yağ oksidasyonu ve Maillard reaksiyonu gibi olumsuz değişiklikler gözlenebilmektedir. Mikroenkapsülasyon yöntemiyle, kolayca bozulabilen gıdaların korunması, çevresel faktörlere daha dayanıklı, daha kararlı ürünlerin elde edilmesi mümkündür. Bu çalışmada, süt yağının toza dönüştürülmesinin önemi ile krema tozu ve üretimi açıklanmış, süt yağının toza dönüştürülmesi alanında yapılmış bilimsel çalışmalar özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Süt yağı, Krema tozu, Mikroenkapsülasyon, Püskürtmeli kurutma

### Converting Milk Fat into Powder and Cream Powder

#### ABSTRACT

Milk fat is the main component and a quality-enhancing ingredient for dairy products such as cream and butter. The increase in worldwide milk production and demand of reduced fat products due to changing of dietary habits, create a surplus of butter and milk fat supply. Milk fat is highly perishable with a short shelf life. Butter is stable at room temperature for about 4 weeks and about 6 months at low refrigeration temperature. However, cold storage is expensive compared to drying and drying becomes a low-cost alternative. Milk fat can be transformed into powder form by spray drying. However, even in dried form, some undesired changes such as fat oxidation and Maillard reaction may occur in dairy powders. Through the microencapsulation technique, stable and durable products can be obtained. In this study, the importance of converting milk fat into powder form and cream powder production are explained, and scientific studies on in the field of conversion of milk fat into powder are summarized.

**Keywords:** Milk fat, Cream powder, Microencapsulation, Spray drying



## GİRİŞ

Süt ve ürünlerinin endüstriyel üretiminin tarihi yaklaşık 150 yıldır ve günümüzde gıda tedarik zincirinin en büyük ve önemli parçasını oluşturur [1]. Bu sektördeki ürün yelpazesinde, içme sütü, peynir, tereyağı, krema, yoğurt başta olmak üzere fermente sütler, dondurma, koyulaştırılmış süt ve toz ürünler gibi çok çeşitli süt ürünleri bulunmaktadır [2]. Sektördeki büyüme sürmektedir ve 2011 yılında dünyadaki süt üretiminin %83'ünü oluşturan inek sütünün üretimi bir önceki yıla göre %2.4 oranında artmıştır. 2011 yılında hemen hemen tüm süt ürünlerinin üretimlerinde dünya çapında artış olmakla birlikte, en büyük yükseliş süt tozları ve tereyağında görülmüştür [3].

Süt ürünleri içerisinde, dünyadaki üretimdeki ve kullanımındaki artış dolayısıyla en dikkat çekici ürün grubu, süt ürünlerinden elde edilen tozlardır. Dünyada günümüzde üretilen toplam sütün yaklaşık %15'i püskürtmeli kurutma ile toz haline getirilmektedir [4]. OECD-FAO'nun 2021 yılına dair öngörülerinde yıllık %2.6'lık büyüme ile üretiminin en hızlı artması beklenen ürünlerin tam yağlı süt tozu ve tereyağı olması, süt ürünlerinden elde edilen tozların ve süt yağının endüstriyel üretim açısından önemini göstermektedir [3]. Toz ürünler, mikrobiyal ve kimyasal olarak dayanıklı olmalarından, düşük hacimleri sayesinde depolanma ve taşınma kolaylıkları sağlamalarından, acil durumlarda kullanılabilir bir besin stoğu olmalarından, başta ürün tasarımı ve geliştirilmesi olmak üzere, endüstriyel üretimde katkı olarak kullanıma olanakları yaratmalarından dolayı önemlidirler [5-7].

Süt ve ürünlerinden üretilen çeşitli tozlar bulunmaktadır. Bu çeşitler arasında, hiç kuşkusuz en önemlisi yağlı ve yağsız süt tozlarıdır. Süt tozları dışında ise kazein, laktoz, peynir suyu tozu, yoğurt tozu, peynir tozu, enzim modifiye peynir tozu ve krema tozu üretilmektedir [7-10]. Bu tozlar çok çeşitli ürünlerin üretiminde endüstriyel olarak kullanılmaktadır ve son yıllarda kullanımı ile üretimi artmıştır. Bu tozlar gıda endüstrisinde; fırıncılık, tatlı ve pastacılık ürünleri, kek karışımları, şekerlemeler, çikolatalar, çorbalar, soslar, hazır yemekler, çerez çeşnileri ve kaplamaları, kahve beyazlatıcıları, süt bazlı içecekler, dondurma karışımları, eritme peyniri ve bebek maması formülasyonları gibi alanlarda yaygın bir biçimde kullanılmaktadır [11].

## SÜT VE ÜRÜNLERİNDEN ELDE EDİLEN YAĞLI TOZLAR

Süt içerisindeki bileşenlerden önemli birisi süt yağıdır. Süt yağı, kendisine özgü lezzeti ile tereyağı ve krema gibi süt ürünlerinin ana maddesi olmakla beraber, çok farklı süt ürünlerinde de temel ve kritik bir bileşendir [12]. Ancak tüketicilerin zamanla değişen beslenme alışkanlıkları ve sağlık gerekçeleri ile az yağlı veya yağsız ürünlere olan talep artmıştır. Bu duruma dünyadaki süt üretimindeki artışın da eklenmesi, süt yağında üretim fazlasını olarak kendini göstermiştir [13-15]. Bu üretim fazlasının depolanması, var olan süt yağı temelli ürünlerin fonksiyonelliklerinin artırılması ve süt

yağının endüstriyel olarak değerlendirilmesinde yeni alanların geliştirilmesi önem kazanmıştır.

Süt yağındaki üretim fazlasının depolanması bir ihtiyaç haline gelmişken, dayanımı yüksek olmayan süt yağının önemli bir kısmı tereyağına işlenmektedir. Tereyağı, oda sıcaklığında yaklaşık 4 hafta, buzdolabı koşullarında 6 ay stabil olarak depolanabilmektedir. Buna karşın soğukta depolama oldukça maliyetli bir işlemdir. Aynı zamanda, endüstriyel bir katkı olarak tereyağının kullanılması mümkün değildir. Üretim fazlası olan süt yağının toz hale dönüştürülmesi önemli avantajlar sağlamaktadır. Süt yağının toz haline getirilerek, oda koşullarında, çok daha az depolama alanında 2 yıla kadar dayandırılabilmesi mümkündür ve maliyet açısından da çok uygundur [14, 16, 17].

Buna karşın, yağlı toz ürünlerin depolama süreçlerinde de istenmeyen değişiklikler gerçekleşebilmektedir. Bunlar içerisinde en dikkat çekici olanlar enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile oksidasyondur [11]. Süt yağından üretililecek tozların gıda ve gıda dışı sektörlerde endüstriyel olarak değerlendirilebilmesi mümkün ve bu şekilde süt yağının tüketiminde yeni alanların yaratılması olanaklıyken, bu faydanın sağlanabilmesi için üretilen tozların kalitesinin, özellikle de fiziksel özelliklerinin gelişkin olması gereklidir [13, 18, 19].

Kaliteli bir toz ürün için hammaddenin fonksiyonel özellikleri korunurken, püskürtmeli kurutmada yapışma sorununun; son üründe topaklanma, kötü rekonstitüsyon, istenmeyen lezzet, yanma ve renk bozulmaları gibi kalite kusurlarının; depolama sürecinde ise yağ oksidasyonu ve lezzet bozulmalarının önlenmesi gerekmektedir. Süt ve ürünlerinden üretilen yağlı tozların kalite özellikleri, fiziksel, fonksiyonel, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duysal olarak 5 sınıfta toplanabilir. Son ürün kalitesinde oldukça büyük bir yere sahip olan bu özellikler arasında önemli bir ilişki vardır. Farklı gıdaların üretilmesinde katkı olarak toz ürünün kullanıldığı durumlarda ise tozun fiziksel ve fonksiyonel özelliklerinin gelişkin olması gerekmektedir. Bu anlamda, endüstriyel olarak kullanılabilirlik açısından yağlı toz ürünlerin ıslanabilirlik, dağılılırılık, çözünürlük, toz partikül yapısı ve boyutu, serbest yağ içeriği ve akışkanlık dikkat edilmesi gereken temel özellikleridir [20].

Süt tozları, içerdiği yağ miktarına göre yağsız (süt yağı<%1.5), yarım yağlı (%1.5<süt yağı<%26), tam yağlı (%26<süt yağı<%42) olarak sınıflandırılmaktadır. Bunların dışında süt ve ürünlerinden çeşitli tozlar elde edilirken, bunlar içerisinde tam yağlı süt tozu, krema tozu, peynir tozu ve enzim modifiye peynir tozu yağlı toz ürünler arasında sayılabilmektedir. Toz süt ürünleri içerisinde süt yağı açısından en zengin olanı krema tozlarıdır [21].

## KREMA TOZU

Krema tozları; kremadan suyun kısmi olarak uzaklaştırılması ile elde edilen ve yağlı süt tozundan daha yüksek oranda süt yağı barındıran tozlara verilen

genel bir isimdir [9, 22, 23]. Mevzuata göre, krema tozu bileşimindeki minimum süt yağı oranı %42, maksimum su oranı %5 ve yağsız süt kuru maddesindeki minimum süt proteini oranı ise %34 olmalıdır [22, 23]. Krema tozlarının üretiminde renklendirici kullanımına mevzuatta izin verilmemektedir [23]. Genel olarak tatlandırıcı kullanılmazken, antioksidan ilavesine ihtiyaç duyulmaktadır [24, 25]. Antioksidan maddelerin dışında, stabilizör, emülgatör, sertleştirici, topaklanmayı önleyici ve asitliği düzenleyici maddelerin de kullanımı mümkündür ve kullanılacak maddeler ile limitleri mevzuatta tanımlanmıştır [22, 23].

Krema tozlarının dünyadaki ilk üretimi 1960'lı yıllara kadar uzanmaktadır. Ancak, 1980 sonrasında kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır [9]. Krema tozu, kahve beyazlatıcılarında, soslarda, çerez çeşnilerinde ve kaplamalarında, çorbalarda, hazır yemeklerde, dondurma karışımlarında, eritme peynir üretimlerinde, bebek maması formülasyonlarında, kek karışımlarında, çikolata ve şekerleme sanayinde, tatlılarda, fırın ve pastacılık sektöründe kullanılmaktadır [9, 26-29]. Krema tozunun piyasada yer bulabilmesinin temel nedenleri: süt yağının bastırılmış fiyatları, sanayi üretiminde toz ürün kullanımının avantajları ile yeni teknolojik gelişmeler doğrultusunda değişen tüketim alışkanlıkları ve gelişen hazır yemek sektörüdür. Aynı zamanda, uluslararası ticaretin gelişimi de ürünlerin dayanıklı hale getirilmesini önemli kılmıştır [9].

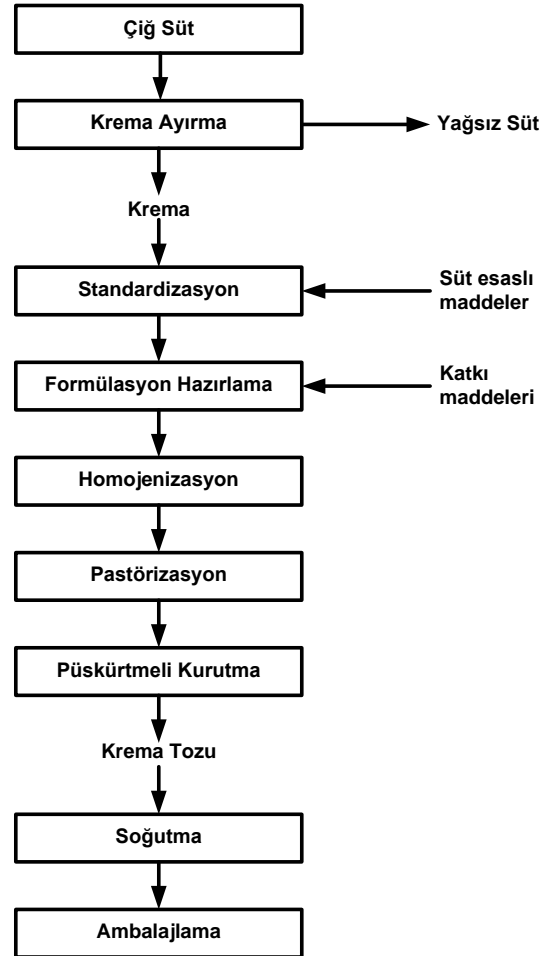
Süt yağı, buzdolabı koşullarında bile çok uzun ömürlü olmayan bir gıda maddesidir. Dondurma işlemi ile dayandırmak ise çok büyük bir maliyet getirmektedir. Bundan dolayı, süt yağının toz haline getirilerek dayandırılması iyi bir alternatif yaratmıştır. Ancak, etkin bir üretim ve kaliteli bir krema tozu için süt yağının fonksiyonel özellikleri korunurken, üretimde yapışma sorununun; son üründe topaklanma-akmama, kötü rekonstitüsyon özellikleri, istenmeyen lezzet, yanma ve renk bozulmaları gibi kalite kusurlarının; depolamada ise yağ oksidasyonu ve lezzet bozulmalarının önlenmesi gerekmektedir. Bu anlamda, işlem basamaklarının etkin şekilde optimize edilmesi ve son ürün kalitesini arttırmaya dönük enkapsülasyon gibi çeşitli tekniklerin kullanılması gerekmektedir [15].

Krema tozu üretimindeki işlem basamakları Şekil 1'de özetlenmiştir [9, 30]. Buna göre, krema tozu üretiminde homojenizasyon ve ısı işlem uygulaması bulunmakta ve bu işlemler son ürün kalitesi üzerinde etkili olmaktadır. Ancak, hem ürün kalitesi açısından, hem de üretim tekniği açısından en önemli işlem basamağı püskürtmeli kurutmadır. Toz ürünün akıcılık özelliklerinin geliştirilmesi, topaklanma ile depolamada oksidasyonun önlenmesi için yapılan mikroenkapsülasyon işlemi de esasen hazırlanmış olan emülsiyonun püskürtmeli kurutucuda kurutulmasına dayanmaktadır.

## MİKROENKAPSÜLASYON TEKNOLOJİSİ

Enkapsülasyon, duyarlı veya biyoaktif bir katı/sıvı/gaz bileşenin, damlacıklar veya parçacıklar halinde, bir kaplama materyalinin oluşturduğu sürekli bir filmle hapsedilerek, sıcaklık, nem, pH ve diğer bileşenlerle

etkileşimi gibi etkenlerden korunması işlemi olarak tanımlanmaktadır [13, 18, 31, 32]. Enkapsülasyon tekniklerinin gıda sanayinde kullanılmasının nedenleri; i. Kaplanacak olan materyalin ortam koşulları ile ilişkisinin kesilerek reaktivitesinin düşürülmesi, ii. Evaporasyon veya kütle transferi ile ortama kaybının azaltılması, iii. Sıvı haldeki maddenin, kaplanan maddeye zarar vermeden katı forma dönüştürülmesi, iv. Son ürünün işlenebilirliğinin artırılması (topaklanmasının önlenmesi, akıcılığının geliştirilmesi ve başka toz maddelerle karıştırılabilirliğinin sağlanması), v. Kaplanan maddenin kontrollü salınımının sağlanması, vi. Lezzet maskelenmesidir [32-34]. Bu özellikleriyle yeni ürün geliştirme ve ürünlerin fonksiyonelliklerinin artırılmasında sıklıkla kullanılan bir tekniktir [32]. Yağ enkapsülasyonu ile yağlı tozların akıcılığının artırılması ve topaklanma sorununun giderilmesi sağlanabilmekte, bu şekilde yağlı tozların endüstriyel olarak işlenebilirliği kolaylaşmakta ve bu tozlar gıda katkısı olarak kullanılabilirler [18, 35, 36]. Aynı zamanda, yağlı tozlarda karşılaşılan en büyük sorunlardan birisi, depolanma sürecindeki oksidasyondur ve enkapsülasyon ile oksidasyon geciktirebilmektedir [13, 32, 34, 35, 37,3 8]. Bunun yanı sıra, yağda çözünen bileşenlerin korunması ve kontrollü salınımı ile yağda çözünen acılık maddelerinin maskelenmesi sağlanabilmektedir [35, 39].



Şekil 1. Krema tozu üretiminde işlem basamakları [9, 30].

Enkapsülasyon işleminde enkapsülasyon matrisinin, bir başka deyişle enkapsülasyon kaplama materyallerinin yapısı çok önemlidir. Enkapsüle edilecek materyale ve enkapsüle edilmiş son üründe hedeflenen özelliklere göre farklı enkapsülasyon kaplama materyalleri kullanılmaktadır. Etkin bir enkapsülasyon için kaplama materyallerinin çeşitli özellikleri ön plana çıkar. Film oluşturma ve emülsifiye etme özellikleri, reolojik davranışları, dağılılabirliği, çözünme yeteneği, enkapsülasyon çekirdeği ve/veya enkapsülasyondaki aktif madde ile reaksiyon vermemesi, maliyetleri, gıda üretiminde kullanılabilir olması gibi özellikler bunların başında gelir [33, 40-43]. Bu özelliklerin tamamını barındıran tek bir madde olmadığından, sıklıkla bu maddelerin karışımları/kombinasyonları kullanılır. Enkapsüle edilecek her ürünün özelliklerine göre kaplama materyallerinden istenilen özellikler değiştiğinden, enkapsülasyon çalışmalarının önemli bir bölümü kaplama materyallerinin saptanmasına ayrılmıştır. Karbonhidratlar, selüloz ve türevleri, yağlar ve proteinler farklı ürünlerde kaplama materyali olarak kullanılırlar. Yağ enkapsülasyonunda ise genellikle karbonhidratlar veya karbonhidrat türevleri ile proteinler birlikte kullanılmaktadır. Literatür incelendiğinde yağ enkapsülasyonunda en çok kullanılan ve araştırılan karbonhidrat türevleri maltodekstrinler ve modifiye nişastalardır.

Maltodekstrin, dekstroz eşdeğeri (DE) 20 ve altında olan, nişastanın hidroliz ürünlerine verilen isimdir. Yenilebilir hidrokoloidler içerisinde düşük maliyeti, çözümlerindeki hafif lezzeti ve ağızda bıraktığı yumuşak his ile gıda endüstrisinde kullanıma çok uygundur. Maltodekstrinlerin, jel oluşturma ve su tutma yetenekleri de yüksektir. Bu özellikleriyle gıda endüstrisinde jelleştirici, su tutucu, yağ ikamesi, hacim artırıcı, topaklanmayı önleyici, doku ve yoğunluk artırıcı, film oluşturuca, lezzet ve yağ bağlayıcı, yüzey parlaklığını artırıcı, dağılılabirliği ve çözünebilirliği destekleyici, donma noktasını kontrol edici, kristalizasyonu önleyici, oksijen bariyeri olma gibi pek çok amaçla kullanılan önemli bir dolgu maddesidir ve enkapsülasyonda da yaygın kullanılmaktadır [33, 44]. Nişasta ise hidrofilik özellikte gruplar içeren ve emülsifiye edici özelliği olmayan bir maddedir. Ancak, nişastaya bir dizi lipofilik grubun eklenmesi ile elde edilen modifiye nişastanın emülsifiye edici özelliği yüksektir. Aynı zamanda, modifiye nişastanın mükemmel bir aroma tutucu olduğuna ve püskürtmeli kurutma işlemi ile gerçekleştirilen enkapsülasyon üretimlerinde çok başarılı sonuçlar alındığına dair literatürde bilgi bulunmaktadır. Bu karbonhidrat türevlerinin yanı sıra yağ enkapsülasyonunda disakkarit kullanımı da sıklıkla denenmiştir. Bunlar içerisinde, yüksek çözünürlüğü, ısıl direnci, higroskopik olmayan yapısı ve düşük maliyeti ile sukroz en yaygın kullanılanıdır. Süt ve ürünleri ile ilgili çalışmalarda ise, süt esaslı bir şeker olmasından ötürü laktöz da denenmektedir [33].

Kaplama materyali olarak proteinlerin kullanımındaysa, özellikle süt temelli proteinler öne çıkmaktadır. Bu proteinler sıklıkla karbonhidratlarla beraber uygulanmaktadır. Bu kapsamda, etkin bir emülsiyon oluşumu ve kararlılığını sağlayan sodyum kazeinat ile

peynir suyu proteinleri literatürde kullanılmışlardır. Özellikle peynir suyu proteinleri, yüksek çözünürlüğü, jelleşme yeteneği ve emülsifikasyon uygulamalarına uygunluğu ile dikkat çekmektedir [41, 45-48].

## SÜT YAĞININ TOZ HALE GETİRİLMESİ ALANINDAKİ BİLİMSEL ÇALIŞMALAR

### Süt Yağının Enkapsülasyonu

Süt yağının toz hale getirilmesine dönük bilimsel çalışmalar, büyük oranda süt yağının enkapsülasyonuna odaklanmış ve çalışmalarda hammadde olarak susuz süt yağı ya da sade yağ kullanılmıştır. Onwulata ve ark. [45] yaptıkları çalışmada, süt yağından toz üretiminde enkapsülasyon materyallerinin kullanımının son ürün üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmada, enkapsülasyon kaplama materyali olarak sukroz, modifiye nişasta ve un kullanılmış, üç farklı süt yağı oranında (%40, 50 ve 60) emülsiyonlar hazırlanarak püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş ve elde edilen tozların fiziksel özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, kaplama materyali olarak sukroz kullanımının olumlu sonuçlar verdiği saptanmış, ancak sukrozun toz lezzetindeki tatlılığı da arttırdığı belirtilmiştir [45]. Onwulata ve Holsinger [37] bir önceki çalışmalarının devamı niteliğindeki bir diğer çalışmalarda ise enkapsülasyon materyalinin toz ürünün ısı özellikleri ile nem alma davranışları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Farklı yağ oranlarındaki tozlar ve enkapsülasyon bileşimleri benzer karakterde termogramlar vermiştir. Buna karşın, kaplama maddesi tipine bağlı olarak tozların erime sıcaklıklarında bazı farklılıklar da saptanmıştır. Tozlar bu farklılıklara dayanarak, fırıncılık ürünleri üretiminde kullanıma uygunluğa göre değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, enkapsülasyondaki kaplama materyali olarak sukroz kullanımının, üretilecek tozun fırıncılık ürünlerinin üretiminde kullanıma daha uygun olduğu belirlenmiştir [37]. Onwulata ve ark. (1996) bir diğer çalışmalarında ise enkapsülasyon materyalinin partikül yapısı üzerine etkisini "Scanning Electron Microscope" (SEM) ile incelemişler ve bir önceki çalışmaları ile uyumlu sonuçlar elde etmişlerdir [14]. Enkapsülasyonda kaplama materyali olarak sukroz ve un kullanımının, toz ürünün akıcılık ve yığın özellikleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada ise, un kullanımı ile üretilen enkapsüle tozların yığın özelliklerinin uygun olmadığı saptanmış ve genel olarak tüm tozlarda topaklanma sorununun varlığı vurgulanmıştır [18]. Onwulata ve ark. [49], yüksek erime noktalı yağ fraksiyonlarından toz üretiminde, farklı enkapsülasyon materyallerinin kullanımını denemişlerdir. Formülasyonda sukroz, laktoz veya maltöz kullanımının kıyaslandığı çalışma sonucunda, sukroz kullanımı ile daha iyi fiziksel özelliklere sahip toz ürünün elde edildiği tespit edilmiş, laktoz kullanıldığında esmerleşmeye daha uygun ve düşük tatlılığa sahip toz üretiminin sağlanabildiği belirlenmiştir [49]. Moreau ve Rosenberg [13] yaptıkları çalışmada, mikroenkapsülasyonda peynir suyu proteinlerinin kullanımını denemişler ve ürettikleri tozların depolanma özelliklerini, oksidasyona duyarlılıklarını saptayarak belirlemişlerdir. Mikroenkapsülasyon işlemi ile tozların oksidasyona

dayanıklılığının belirgin şekilde arttığı saptanmıştır [13]. Shivakumar ve ark. [50] yağlı toz üretiminde farklı formülasyonların, toz fiziksel özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre formülasyonda kazein ve şeker kullanımının son ürün kalitesini olumlu etkilediği saptanmıştır [50]. Danviriyakul ve ark. [15], süt yağından toz üretiminde, enkapsülasyon formülasyonunda kullanılan emülgatör ile kaplama materyalinin çeşit ve konsantrasyonlarının, son ürün kalite özellikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Emülgatör olarak lesitin kullanımının ve enkapsülasyon kaplama materyali olarak yüksek dekstroz eşdeğeri (DE) düşük molekül ağırlıklı şekerlerin kullanımının, kararlı emülsiyonların elde edilmesine imkan sağladığı ve tozun fiziksel özelliklerini geliştirdiği belirlenmiştir [15].

### **Krema Tozunun Depolanması**

Andersson ve Lingnert [51-53] yaptıkları çalışmalarda, ambalajlanmış krema tozunun depolanma sürecindeki oksidasyonuna, ışığın ve ambalajdaki oksijen konsantrasyonunun etkisini incelemişlerdir. 30°C'de tutulan örneklerin düşük oksijen konsantrasyonlarında bile oksidasyona uğradığı [51], çok düşük oksijen konsantrasyonlarında bile oksidasyonun gelişiminin duysal olarak saptanabildiği [52], ışığın oksidasyon üzerinde çok önemli etkiye sahip bir pro-oksidan olduğu ve bu etkinin yüksek oksijen konsantrasyonlarında çok daha belirleyici olduğu [53] saptanmıştır.

### **Süt Yağından Üretilmiş Tozların Gıda Üretiminde Kullanımı**

Enkapsülasyonda sukroz ve un kullanımı ile üretilen yağlı tozların depolanma özellikleri ve bu tozlarla üretilen keklerin kalite özellikleri Strange ve ark. [16] tarafından incelenmiştir. Sukroz kullanımı ile üretilmiş tozların, düşük serbest yağ içeriğine sahip olmasına karşın, oksidasyona daha duyarlı oldukları görülmüştür. Bu durum, sukroz kullanılarak üretilen tozların nem çekme eğilimlerinin yüksek olmasına bağlanmıştır [16]. Wehrle ve ark. [38] fırıncılık ürünlerinden bisküvi üretiminde margarin ve/veya tereyağı yerine süt yağından üretilmiş tozların kullanımını denemişlerdir. Üretimde kullanılan şeker, protein tip ve konsantrasyonları ile homojenizasyon basıncını değiştirmişler ve son ürün üzerindeki etkileri saptamaya çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, bisküvi üretiminde yağlı tozların kullanımının mümkün olduğu, ancak üretim koşullarının optimize edilmesi gerektiği belirlenmiştir [38]. Süt yağlı tozların ekme üretiminde kullanımı O'Brien ve ark. [54] tarafından yapılan bir çalışmada [54], glutensiz bisküvi üretiminde palm yağı yerine kullanımı ise Schrober ve ark. [55] tarafından yapılan bir çalışmada incelenmiştir.

### **Süt Yağının Toza Dönüştürülmesinde Maliyetler**

Holsinger ve ark. [17], süt yağının püskürtmeli kurutulması ile üretilen tozların maliyetlere etkisini belirlemek için parametrik bir maliyet analizi çalışması yapmışlardır. Çalışmada, günlük 57 ton kapasite ile toz üreten bir işletme kurgulanmış, işletmenin işçi, hammadde, yardımcı ve diğer hizmet masrafları dikkate

alınarak maliyetleri hesaplanmıştır. Buna göre, dondurulmuş tereyağının depolanmasından daha düşük maliyetle süt yağının toz halde üretiminin mümkün olduğu gösterilmiş, dağıtım maliyetleri de eklendiğinde farkın daha da artacağı vurgulanmıştır. Aynı zamanda, kremadan doğrudan toz üretiminin maliyetinin, sade yağdan üretimden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmada toz üretiminde protein kaynağı olarak yağsız süt tozu kullanılmış ve aynı işletmede yağsız süt tozu üretiminin de yapılması durumunda, belirlenen maliyetlerin daha da düşebileceği belirtilmiştir [17].

Süt yağının toz hale getirilmesinde hammadde olarak krema kullanımı, hali hazırda üretim yapan süt işletmelerine daha kolay adapte edilebilir bir üretim hattı gerektirmesi ve sadeyağdan üretime göre maliyetinin daha düşük olması dolayısıyla, diğer süt yağı kaynaklarına göre avantajlıdır. Bununla birlikte, kremadan toz üretime ve üretimde işlem koşullarının etkisinin belirlenmesine dair bilimsel literatürde az çalışma bulunmakta, üretim optimizasyonu konusunda ise herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır.

### **Yağlı Toz Ürünlerde Serbest Yağ Asidi Bileşimi**

Yağlı toz ürünlerde serbest yağ asidi bileşimi ve miktarı lezzet açısından önemlidir. İnek sütünün yağında 437 farklı asit tespit edilmiştir. Bunlar içerisinde; bütanoik (C4:0), hegzanoik (C6:0), oktanoik (C8:0), dekanıik (C10:0), dodekanoik (C12:0), tetradekanoik (C14:0), hegzadekanoik (C16:0), oktadekanoik (C18:0), cis-9-oktadekanoik (C18:1), cis,cis-9,12-oktadekadienoik (C18:2) ve 9,12,15-oktadekatrienoik (C18:3) temel yağ asitleridir. Toplam yağın ise %25-27 civarını C16:0 ile C18:0 oluşturur [56]. Süt yağı, süt ürünlerinde hedeflenen lezzetinin oluşumunda önemlidir. Gıdalarda yağın parçalanma reaksiyonları oksidasyon veya hidrolizdir. Süt yağının oksidasyonu doymamış yağ asitlerinden ileri gelir ve oksidasyon sonucunda lezzet üzerinde güçlü ve çoğu zaman istenmeyen etkilere neden olan çeşitli doymamış aldehitler oluşur, bu durum oksidatif ransidite olarak tanımlanır.

Süt ürünlerinden elde edilen tozlarda serbest yağ asidi miktarı ve bileşimi ürün kalitesi açısından değerlendirilmekte ve artış olması istenmemektedir. Serbest yağ asidi bileşimi ve miktarı en çok hammaddeden etkilenmekle beraber, hem kurutma öncesi işlemlerden, hem püskürtmeli kurutmadan, hem de depolamadan etkilenebilir [57]. Evers ve ark. [58] bir süt işletmesinin 6 ayrı noktasından aldıkları örnekleri toplam serbest yağ asidi miktarı açısından incelemişlerdir. Püskürtmeli kurutma öncesi ısı işlem ile püskürtmeli kurutma sırasında serbest yağ asidi miktarında azalmalar verilerinde gözlemlenmektedir [58]. Kim ve ark. [59] yaptıkları çalışmada püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma ile elde edilen tam yağlı süt tozlarının rekonstitüe halleri ile sütü analiz etmişler ve serbest yağ asidi miktarlarını belirlemişler. Analizde sadece kısa zincirli serbest yağ asitleri belirlenmiş ve püskürtmeli kurutma ile üretilmiş tozda serbest yağ asidi miktarının arttığı saptanmıştır [59]. Püskürtmeli kurutma işlem koşullarının etkisi üzerine literatürde kesin veriler sunan bir çalışma olmamakla beraber, giriş sıcaklığının

ve/veya çıkış sıcaklığının artırılması ile uçucu bileşenlerin miktarının arttığına dair veriler vardır [60]. Paez ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada farklı mevsim sütlerinden üretilen tam yağlı süt tozları 2 farklı depolama sıcaklığında (21 ve 40°C), inert atmosferde depolanmış ve serbest yağ asidi konsantrasyonlarındaki değişimler analiz edilmiştir [57]. Mevsimsel değişimlerin tozların serbest yağ asidi konsantrasyonu üzerinde belirleyici etkisi olduğu belirlenmiş, depolamada ise önemli dalgalanmalar görülmüştür [57]. Krema tozunun serbest yağ asidi bileşimine dair yaptığımız literatür taramasında saptayabildiğimiz tek çalışma Kim ve ark., (2005) tarafından gerçekleştirilmiştir ve bu çalışmadaki amaç da üretim ve/veya depolamadaki değişimin saptanması değildir [61]. Yağlı toz ürünlerin yapısında farklı formlarda bulunan yağdaki serbest yağ asidi bileşiminin dağılımının belirlenmesi amacıyla, endüstriyel olarak üretilmiş tam yağlı süt tozu ve krema tozunu analiz edilmiştir. Tozun farklı bölümlerindeki ve formlarındaki yağlarda bulunan serbest yağ asidi bileşimlerinde önemli farklılıklar belirlenmemiş, ancak serbest yağda ve yüzey yağında yüksek erime sıcaklığına sahip serbest yağ asitlerinin biraz daha fazla bulunduğu saptanmıştır [61].

Süt ürünlerinin tozları ile yapılan serbest yağ asidi çalışmaları sınırlıdır. Özellikle püskürtmeli kurutma işleminin serbest yağ asidi miktarını arttırdığına dair veriler olmakla beraber, bu artışın hangi işlem koşullarına bağlı gerçekleştiğine dair veriler oldukça sınırlıdır. Krema tozu üretiminde serbest yağ asidi bileşimindeki değişime dair ise herhangi bir veriye rastlanmamaktadır.

### **Süt Yağının Toza Dönüştürülmesinde Püskürtmeli Kurutma İşleminin Etkileri**

Krema tozu üretiminde hem ürün kalitesi açısından, hem de üretim tekniği açısından en önemli işlem basamağı püskürtmeli kurutmadır. Süt yağından toz ürün elde edilmesinde çeşitli enkapsülasyon maddelerinin kullanımına dair bir dizi çalışma yapılmış olmasına karşın, üretimdeki en önemli işlem basamağı olan püskürtmeli kurutma işleminin, toz ürün kalitesi üzerine etkilerine dair literatürde çok az veri bulunmaktadır. Kelly ve ark. [62] yağlı toz üretiminde işlem koşullarının ürün kalite özelliklerine etkisini saptamak için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada işlem koşulları ile kalite özellikleri arasındaki ilişki modellenmeye çalışılmıştır. Ancak, çok fazla işlem değişkeninin eş zamanlı değerlendirilmeye çalışıldığı çalışmada, kullanılan işlem değişkenleri ile ürün kalite özellikleri arasında, süt yağı temelli tozlarda, birinci dereceden bir ilişki saptanamamıştır [62].

Sadece süt yağından toz üretimi konusunda değil, genel olarak süt ürünlerinden üretilen tozların (özellikle tam yağlı süt tozlarının) üretiminde, püskürtmeli kurutma işlem koşullarının toz kalite özellikleri üzerine etkisine dair literatürde çelişkili bilgiler bulunmaktadır [60]. Örneğin, püskürtmeli kurutma giriş sıcaklığının artırılmasının toz üründeki serbest yağ arttırdığının belirtildiği çalışmalar olduğu gibi [31,63-65], tersine dair veriler de literatürde mevcuttur [62]. Yine püskürtmeli

kurutma çıkış sıcaklığının artışının, serbest yağ arttırdığına [31,66], azalttığına [63,67] ve etkilemediğine [15] dair veriler sunan çalışmalar mevcuttur. Ancak, bu çalışmalarda en belirgin eksiklik, çalışmaların genel olarak püskürtmeli kurutma işlem koşullarının etkisine odaklanmamış, başka bazı konuları araştırırken koşulların etkisine de bakılmış çalışmalar olmasıdır. Yağlı tozların kurutulmasında, püskürtmeli kurutma işlem koşullarının toz ürün kalite özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesine odaklı çalışmalara bilimsel literatürde ihtiyaç bulunmaktadır.

### **SONUÇLAR**

Bilimsel literatür incelendiğinde, hammadde olarak kremanın kullanılması ile süt yağından toz ürün üretiminde, püskürtmeli kurutma işlem koşullarının etkisi ve üretimin optimizasyonu çalışılmamıştır. Yine literatürde, krema tozu üretiminde serbest yağ asidi bileşimindeki değişime dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Literatürde yağlı süt tozlarının üretimine dair ülkemizde yapılan çalışma sayısının oldukça az olduğu görülmektedir. Zaten bu durum, ülkemizde bulunan süt işletmelerimizdeki toz ürün üretim çeşitliliğinde de kendisini göstermekte ve dünyada üretimi gerçekleştirilen pek çok toz süt ürününün üretimi ya yapılamamakta, ya da kalite açısından ciddi sıkıntılarla karşılaşmaktadır. Bu sorunların aşılabilmesi için süt yağının toza dönüştürülmesi konusundaki çalışmaların artırılması gerekmektedir.

### **TEŞEKKÜR**

Yazarlar, "Mikroenkapsüle krema tozu üretimi ve üretim optimizasyonu" başlıklı 2150948 numaralı projeye mali desteğinden ve ilgisinden dolayı TÜBİTAK'a (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) teşekkür etmektedir.

### **KAYNAKLAR**

- [1] Fox, P.F., McGuffey, R.K., Shirley, J.E., Cogan, T.M. (2011). History of Dairy Science and Technology. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [2] Britz, T.J., Robinson, R.K. (2008). Advanced Dairy Science and Technology. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- [3] IDF (International Dairy Federation). (2012). The World Dairy Situation 2012. Bulletin of the International Dairy Federation, 458/2012. Brussels, Belgium: IDF.
- [4] Fox, P.F. (2011). History of Dairy Products and Processes. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [5] Sokhansanj, S., Jayas, D.S. (2006). Drying of Foodstuffs. Handbook of Industrial Drying (3. Edition), Edited by S.Mujumdar, A.S. Boca Raton, FL: CRC Press.

- [6] Skanderby, M., Westergaard, V., Partridge, A., Muir, D.D. (2009). Dried Milk Products. Dairy Powders and Concentrated Products, Edited by Tamime, A.Y. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- [7] Schuck, P. (2011). Milk Powder: Types and Manufacture. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [8] Kumar, P., Mishra, H.N. (2004). Yoghurt powder: A review of process technology, storage and utilization. *Trans IChemE, Part C, Food and Bioproducts Processing*, 82(C2), 133-142.
- [9] Havea, P., Baldwin, A.J., Carr, A.J. (2009). Specialised and Novel Powders. Dairy Powders and Concentrated Products, Edited by Tamime, A.Y. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- [10] Harper, W.H. (2011). Dairy Ingredients in Non-Dairy Foods. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [11] Chudy, S., Pikul, J., Rudzińska, M. (2015). Effects of storage on lipid oxidation in milk and egg mixed powder. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54(1), 31-40
- [12] Early, R. (1990). The use of high-fat and specialized milk powders. *International Journal of Dairy Technology*, 43(2), 53-56.
- [13] Moreau, D.L., Rosenberg, M. (1996). Oxidative stability of anhydrous milkfat microencapsulated in whey proteins. *Journal of Food Science* 61(1): 39-43.
- [14] Onwulata, C.I., Smith, P.W., Cooke, P.H., Holsinger, V.H. (1996). Particle structures of encapsulated milkfat powders. *LWT - Food Science and Technology*, 29(1-2), 163-172.
- [15] Danviriyakul, S., McClements, D.J., Nawar, W.W., Chinachoti, P. (2002). Physical stability of spray-dried milk fat emulsion as affected by emulsifiers and processing conditions. *Journal of Food Science*, 67(6), 2183-9.
- [16] Strange, E.D., Konstance, R.P., Lu, D., Smith, P.W., Onwulata, C.I., Holsinger, V.H. (1997). Oxidative and functional stability during storage of butter oil encapsulated with sucrose or flour. *Journal of Food Lipids*, 4(4), 245-260.
- [17] Holsinger, V.H., McAloon, A.J., Onwulata, C.I., Smith, P.W. (2000). A cost analysis of encapsulated spray-dried milk fat. *Journal of Dairy Science*, 83(10), 2361-5.
- [18] Konstance, R.P., Onwulata, C.I., Holsinger, V.H. (1995). Flow properties of spray-dried encapsulated butteroil. *Journal of Food Science*, 60(4), 841-4.
- [19] Onwulata, C.I. (2005). Single- and double-encapsulated butter oil powders. Encapsulated and Powdered Foods, Edited by Onwulata, C. Boca Raton, FL: CRC Press.
- [20] Schuck, P. (2009). Understanding the Factors Affecting Spray-dried Dairy Powder Properties and Behavior. In Dairy-derived Ingredients Food and Nutraceutical Uses Edited by Milena Corredig, Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Granta Park, Great Abington, Cambridge CB21 6AH, UK
- [21] Oldfield, D., Singh, H. (2005). Functional Properties of Milk Powders. In Encapsulated and Powdered Foods, Edited by Onwulata C., Taylor and Francis Inc., 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742.
- [22] Codex Alimentarius. (2011). Codex Standard for Milk Powders and Cream Powder. Milk and Milk Products (2. Edition), Rome, Italy: FAO / WHO.
- [23] Türk Gıda Kodeksi. (2013). Gıda Kaktı Maddeleri Yönetmeliği. Resmi Gazete, Sayı: 28693. 30 Haziran 2013.
- [24] Herr, B., 2011. Types and Functions of Additives in Dairy Products. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [25] Hoffmann, W. (2011). Cream Products. Encyclopedia of Dairy Sciences (2. Edition), Edited by Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. London, UK: Elsevier Academic Press.
- [26] Spreer, E. (1998). Milk and Dairy Product Technology. New York, USA: Marcel Dekker, Inc.
- [27] Smiddy, M.A., Kelly, A.L., Huppertz, T. (2009). Cream and Related Products. Advanced Dairy Chemistry, Dairy Fats and Related Products, Edited by Tamime, A.Y. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- [28] Rowe, M., Donaghy, J. (2011). Microbiological Aspects of Dairy Ingredients. Dairy Ingredients of Food Processing, Edited by Chandan, R.C., Kilara, A. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- [29] Chandan, R.C. (2011). Dairy Ingredients in Bakery, Snacks, Sauces, Dressings, Processed Meats, and Functional Foods. Dairy Ingredients of Food Processing, Edited by Chandan, R.C., Kilara, A. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- [30] Augustin, M.A., Clarke, P.T. (2008). Dry Milk Products. Dairy Processing and Quality Assurance, Edited by Chandan, R.C., Kilara, A., Shah, N.P. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- [31] Keogh, M.K. (2005). Spray-dried microencapsulated fat powders. Encapsulated and Powdered Foods, Edited by Onwulata, C. Boca Raton, FL: CRC Press.
- [32] da Silva, P.T., Fries, L.L.M., de Menezes, C.R., Holkem, A.T., Schwan, C.L., Wigmann, E.F., Bastos, J.O., da Silva, C.B. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciencia Rural*, 44(7), 1304-1311.
- [33] Shahidi, F., Han, X.Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- [34] Drusch, S., Mannino, S. (2009). Patent-based review on industrial approaches for the microencapsulation of oils rich in polyunsaturated fatty acids, *Trends in Food Science and Technology*, 20(6), 237-244.
- [35] Matsuno, R., Adachi, S. (1993). Lipid encapsulation technology—techniques and application to food. *Trends in Food Science and Technology*, 4(8), 256-261.

- [36] Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Assadpoor, E. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: A review. *Drying Technology*, 32(5), 509-518.
- [37] Onwulata, C.I., Holsinger, V.H. (1995). Thermal properties and moisture sorption isotherms of spray-dried encapsulated milkfat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 19(1), 33-51.
- [38] Wehrle, K., Gallagher, E., Neville, D.P., Keogh, M.K., Arendt, E.K. (1999). Microencapsulated high-fat powders in biscuit production. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung / A Food Research and Technology*, 208(5), 388-393.
- [39] Estevinho, B.N., Rocha, F., Santos, L., Alves, A. (2013). Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 31(2), 138-155.
- [40] Desai, K.G.H., Park, H.J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7), 1361-1394.
- [41] Koç, M., Sakin, M., Kaymak-Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 77-86.
- [42] Kuang, S.S., Oliveira, J.C., Crean, A.M., 2010. Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50(10): 951-968.
- [43] Peker, H., Arslan, S. (2011). Mikroenkapsülasyon ve süt teknolojisinde kullanım alanları. *Akademik Gıda*, 9(6), 70-80.
- [44] Chronakis, I.S. (1998). On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(7), 599-637.
- [45] Onwulata, C.I., Smith, P.W., Craig Jr, J.C., Holsinger, V.H., 1994. Physical properties of encapsulated spray-dried milkfat. *Journal of Food Science* 59(2): 316-320.
- [46] Foegeding, E.A., Davis, J.P., Doucet, D., McGuffey, M.K. (2002). Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 13(5), 151-159.
- [47] Kilara, A. (2008). Whey and whey products. Dairy Processing and Quality Assurance, Edited by Chandan, R.C., Kilara, A., Shah, N.P. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- [48] Huffman, M.L., Ferreira, L.B. (2011). Whey-based ingredients. Dairy Ingredients for Food Processing, Edited by Chandan, R.C., Kilara, A. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- [49] Onwulata, C.I., Smith, P.W., Holsinger, V.H. (1995). Flow and compaction of spray-dried powders of anhydrous butteroil and high melting milkfat encapsulated in disaccharides. *Journal of Food Science*, 60(4), 836-840.
- [50] Shivakumar, K.M., Chetana, R., Yella Reddy, S. (2012). Preparation and properties of encapsulated fat powders containing speciality fat and  $\omega$ /PUFA-rich oils. *International Journal of Food Properties*, 15(2), 412-425.
- [51] Andersson, K., Lingnert, H. (1997). Influence of oxygen concentration on the storage stability of cream powder. *LWT-Food Science and Technology*, 30(2), 147-154.
- [52] Andersson, K., Lingnert, H. (1998). Influence of oxygen concentration on the flavour and chemical stability of cream powder. *LWT-Food Science and Technology*, 31(3), 245-251.
- [53] Andersson, K., Lingnert, H. (1998). Influence of oxygen concentration and light on the oxidative stability of cream powder. *LWT-Food Science and Technology*, 31(2), 169-176.
- [54] O'Brien, C.M., Grau, H., Neville, D.P., Keogh, M.K., Arendt, E.K. (2000). Functionality of microencapsulated high-fat powders in wheat bread. *European Food Research and Technology*, 212(1), 64-9.
- [55] Schrober, T.J., O'Brien, C.M., McCarthy, D., Darnedde, A., Arendt, E.K. (2003). Influence of gluten-free flour mixes and fat powders on the quality of gluten-free biscuits. *European Food Research and Technology*, 216(5), 369-376.
- [56] Collins, Y., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge, *International Dairy Journal*, 13, 841-866.
- [57] Paez, R., Pensel, N., Sabbag, N., Taverna, M., Cuatrin, A., Zalazar, C. (2006). Changes in free fatty acid composition during storage of whole milk powder. *International Journal of Dairy Technology*, 59(4), 236-241.
- [58] Evers, J.M., Morris, A., Conaghan, E.F., Palfreyman, K.R. (2000). The BDI method – Part II: The effect of the whole milk powder manufacturing process on free fatty acid levels. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 55(1), 37-39.
- [59] Kim, S.H., Chang, Y.H., Kwak, H.S. (2010). Physicochemical properties of reconstituted milk made from freeze-dried milk powder or spray-dried milk powder. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 30(1), 28-35.
- [60] Vignolles, M.L., Jeantet, R., Lopez, C., Schuck, P. (2007). Free fat, surface fat and dairy powders: Interactions between process and product. *Lait*, 87(3), 187-236.
- [61] Kim, E.H.J., Chen, X.D., Pearce, D. (2005). Melting characteristics of fat present on the surface of industrial spray-dried dairy powders. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 42, 1-8.
- [62] Kelly, J., Kelly, P.M., Harrington, D. (2002). Influence of processing variables on the physicochemical properties of spray dried fat-based milk powders. *Lait*, 82(4), 401-412.
- [63] Keogh, K., Murray, C., Kelly, J., O'Kennedy, B. (2004). Effect of the particle size of spray-dried milk powder on some properties of chocolate. *Lait*, 84(4), 375-384.
- [64] Farkye, N. (2006). Significance of milk fat in milk powder. Advanced Dairy Chemistry, Volume-2, Lipids (3. Edition), Edited by Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. New York, NY, USA: Springer.




[65] Erbay, Z., Koca, N., Kaymak-Ertekin, F., Ucuncu, M. (2015). Optimization of spray drying process in cheese powder production. *Food and Bioprocess Processing*, 93, 156-165.

[66] Kim, E.H.J., Chen, X.D., Pearce, D. (2009). Surface composition of industrial spray-dried milk powders. 2. Effects of spray drying conditions on the surface composition. *Journal of Food Engineering*, 94, 169-181.

---



## Meyve ve Sebzelerin Patlatmalı Puf Kurutma Yöntemi İle Kurutulması

Özgün Köprüalan , Anıl Bodruk , Figen Ertekin 

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 23.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 14.02.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [figen.ertekin@ege.edu.tr](mailto:figen.ertekin@ege.edu.tr) (F. Ertekin)

☎ 0 232 388 23 95 📠 0 232 342 75 92

### ÖZ

Patlatmalı puf kurutma yöntemi, ekstrüzyon teknolojisinde olduğu gibi ürüne dokusal ve duyuşsal kazanım sağlayan ve aynı zamanda ürünün raf ömrünü arttıran alternatif bir kurutma yöntemidir. 1960'lı yıllarda patlatmalı puf kurutma temelinde geliştirilen sürekli patlatmalı puf sistemi hali hazırda kullanılan patlatmalı puf sisteminin temelini oluşturmaktadır. Günümüzde bu işlem öncelikle farklı ön kurutma yöntemleriyle ürün neminin %20 civarına getirilip, sonrasında yüksek sıcaklık ve basınç etkisiyle kısa sürede puf edilmesi ve sonraki süreçte vakum altında kurutulması şeklinde sürekli bir sistem haline dönüştürülmüştür. Bu derlemede, patlatmalı puf kurutma ve meyve ve sebzelerde güncel patlatmalı puf kurutma uygulamaları hakkında bilgi sunulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Patlatmalı puf kurutma, Atıştırmalık, Dondurarak kurutma, Sıcak hava ile kurutma, Ekstrüzyon

### Explosion Puff Drying of Fruits and Vegetables

#### ABSTRACT

Explosion puff drying is an alternative drying method that provides textural and sensorial benefits to the product, like in the extrusion technology, and at the same time increases the shelf life of the product. The continuous explosive puff drying system currently in use was developed based on the puff drying system in the 1960's. Nowadays, this process is transformed into a continuous system in which the moisture content of a product is brought to about 20% by different pre-drying methods, and then puffed in a short time under the effect of high temperature and pressure and dried under vacuum in the next period. In this review, explosive puff drying and the current applications of explosive puff drying on fruits and vegetables are presented.

**Keywords:** Explosive puff drying, Snacks, Freeze-drying, Hot air-drying, Extrusion

#### GİRİŞ

Günümüzde hızlı yaşam şartları ve yoğun iş temposuna bağlı olarak gün içerisinde ana öğünler yerine atıştırmalık ürünler yaygın olarak tüketilmektedir. Bununla birlikte teknolojideki gelişmelere paralel olarak tüketime hazır gıdaların çeşitliliği de artmaktadır. Günümüz tüketici tercihlerinin sağlıklı gıdalara yönelmesi sonucunda tüketicilerin yağ ve karbonhidrat içeriği yüksek atıştırmalıklara alternatif olarak, besleyici özellik açısından daha nitelikli dağılım gösteren

atıştırmalıkları tercih etmeye başlaması; bu alanda faaliyet gösteren gıda sektörünü ve bu sektöre alt yapı oluşturacak bilimsel çalışmaları hareketlendirmiştir.

Atıştırmalıklar, öğünler arasında tüketilen gıdalar olarak tanımlanmakla birlikte, hızlı ve kolay ulaşılır olmaları ve her yerel bölgede uygun bir atıştırmalık türevine sahip olunması sebebiyle popüler olmuşlardır. Bilinenin aksine, atıştırmalıklar sadece çipsler, bisküviler, kuruyemişler, krakerler vb. gibi ürünleri değil, çok daha farklı ve yerel ürün gruplarını da kapsamaktadır [1].

Atıştırmalık ürünlerin çoğu yüksek yağ ve şeker içerikli ve besleyici yönü düşük ürünler olarak; bir kısmı kızartılmış, bir kısmıysa hububat kökenli, karbohidrat kaynaklı ve yağ içeren ürünler olarak piyasaya sürülmektedir [2]. Bu tip atıştırmalık ürünler genellikle ekstrüzyon ve çeşitli kurutma teknolojileri kullanılarak elde edilmektedir.

Ekstrüzyon teknolojisi günümüzde giderek popülerleşen gıda üretim yöntemlerinden biridir. Makarna, cips, kahvaltılık gevrek gibi ürünlerin üretilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda veya çok farklı formlardaki materyallere uygulanan bu yöntemde, hammaddeye bir vida veya döner bir yapıyla mekanik enerji ve/veya ısı enerjisi aktarılmaktadır. Bu durumda ilgili materyalde fiziksel ve kimyasal değişiklikler gerçekleşmektedir. Ekstrüzyon teknolojisi iki farklı yöntemle gerçekleştirilebilmektedir. İlk işleme tipi; ısıtma özelliği buldurmaya daha çok gıdaya dokusal özellik kazandırma amaçlı vida veya döner yapı içerisinde mekanik etkiyle ürünün şekil alması prensibini temel almaktadır. Bu yöntem daha çok hamur karışımları, kurabiye ve makarna formülasyonları üretiminde kullanılan bir basamaktır. İkinci işleme tipinde ise; bazı ham ürün formülasyonlarının ısıtılma ve basınç etkisiyle ürüne dönüştürülmesi gerçekleştirilmektedir. Yalnız bu işlemin bir gıda ürünü üzerinde uygulamasına rastlanmamıştır. İlk işlem sonucu ise çoğu gıda ürününün genelde ikincil bir işleme (kurutma, kızartma gibi) son ürüne dönüştürülmesi söz konusudur. Ekstrüzyon ile gıda işleme sırasında protein denatürasyonu, nişasta jelatinizasyonu, protein, yağ ve nişasta komplekslerinin gıdalarda oluşumu gibi kimyasal kökenli değişimler görülmektedir [3,4]. Ekstrüzyon yönteminde genellikle buğday ve mısır gibi karbohidrat içeren hammaddeler kullanılarak hamur kıvamında ürün işlenirken, kurutma yöntemlerinde ürünün direk hammadde olarak kullanımı sağlanabilmektedir. Atıştırmalık ürün üretiminde güneşte kurutma, sıcak hava ile kurutma ve dondurarak kurutma yaygın kurutma yöntemleri olarak kullanılmaktadır.

Sıcak havayla kurutma çok eski bir yöntem olarak günümüzde de yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Gıdadan nemin, sürekli bir sıcak hava akışı altında uzaklaştırılmasını temel alan bir prosestir. Burada, gıdada çözünen su ve gıdanın bileşimi, ortamın bağıl nemi, havanın hızı ve sıcaklığı, kurutma işleminin temel kritik parametrelerini oluşturmaktadır [5]. Geleneksel olarak güneşte kurutma işlemi ucuz olması nedeniyle çok tercih edilmesine karşın, mikrobiyal güvenilirlik açısından ve renk aroma gibi kalite kayıpları nedeniyle dezavantajlı bir yöntemdir [6]. Sıcak havanın kullanımını temel alan farklı kurutucu tipleri (tepsili kurutucu, tünel kurutucu, akışkan yatak kurutucu) de bulunmaktadır. Sıcak havayla kurutma, geleneksel (güneşte) kurutmaya alternatif olarak üretilmiş olup, mikrobiyal kontaminasyonun engellenmesi, bileşen korunumu ve kurutma süresi açısından geleneksel kurutmaya göre daha avantajlıdır. Özellikle meyve ve sebzelerin raf ömrünü arttırarak yeni ürün üretilmesi çalışmalarında da kullanılan bir yöntemdir. İşletme, yatırım ve enerji maliyetleri düşük olan ilgili yöntemin günümüz kurutma teknolojilerine kıyasla, ürün kalite

kayıpları ve uzun kurutma süresi gibi çeşitli dezavantajları bulunmaktadır [7,8]. Dondurarak kurutma ise ısıya duyarlı gıdaların kurutulmasında kullanılan etkili bir yöntemdir. Yöntem gıdanın içinde bulunan suyun dondurulması ve ortamdaki basıncın düşürülerek oluşan buzun doğrudan süblimleşmesinin sağlanması olarak iki aşamada gerçekleştirilmektedir. Dondurarak kurutma işleminin havasız ortamda düşük sıcaklıkta gerçekleşmesi ile gıdada meydana gelecek bozulmaların önüne geçilerek raf ömrünün artması sağlanmaktadır [9]. Özellikle ısı zararının görüldüğü birçok bileşenin nitelikli bir şekilde kurutulması veya gıda içerisinde en az zarara uğraması açısından, dondurarak kurutma işlevsel bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Ortamdaki suyun donmuş olması ve işlemin süblimasyon nedeniyle düşük sıcaklıklar gerektirmesi sebebiyle dondurarak kurutma yöntemi kalite korunumu açısından oldukça verimli, ancak gerek maliyeti gerekse işlemin çok uzun sürmesi yönünden dezavantajları bulunan bir kurutma yöntemidir [5,10]. Ekstrüzyon ve dondurarak kurutma teknolojilerinin dokusal ve duyuşsal kazanımlarını sağlayan, sıcak hava ve dondurarak kurutma yöntemlerinde olduğu gibi örneğin direkt kullanım avantajını da bir arada içeren alternatif bir kurutma yöntemi ise **patlatmalı puf kurutmadır**. Kozempel ve ark [11] tarafından geliştirilen bu yöntemde, sıcak havayla kurutmada büzüşen ürünün daha hızlı ve nitelikli kuruması için bal peteğine benzer puf bir yapı kazandırılması gerektiği belirtilmiştir. Bu temelde yapılan denemelerde, dondurularak kurutulmuş nitelikte ürün özellikleri gözlenirken, rehidrasyon yeteneğinin ise dondurarak kurutmadan daha fazla olduğu belirtilmiştir [12].

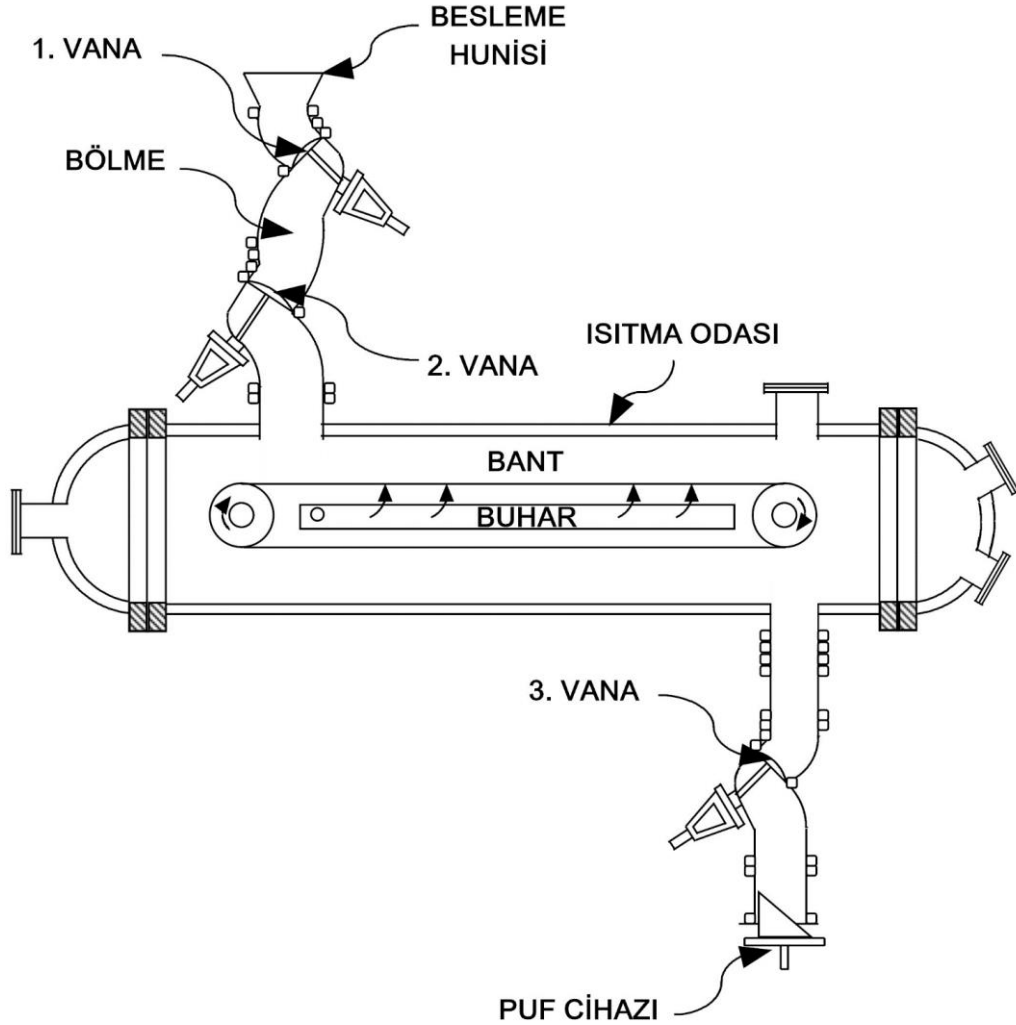
Bu derlemede, patlatmalı puf kurutma yöntemi ve bu yöntem uygulanarak elde edilmiş çeşitli meyve ve sebze atıştırmalıklarının üretim koşulları ve kalite özellikleri hakkında bilgi sunulmaktadır.

## PATLAMALI PUF KURUTMA

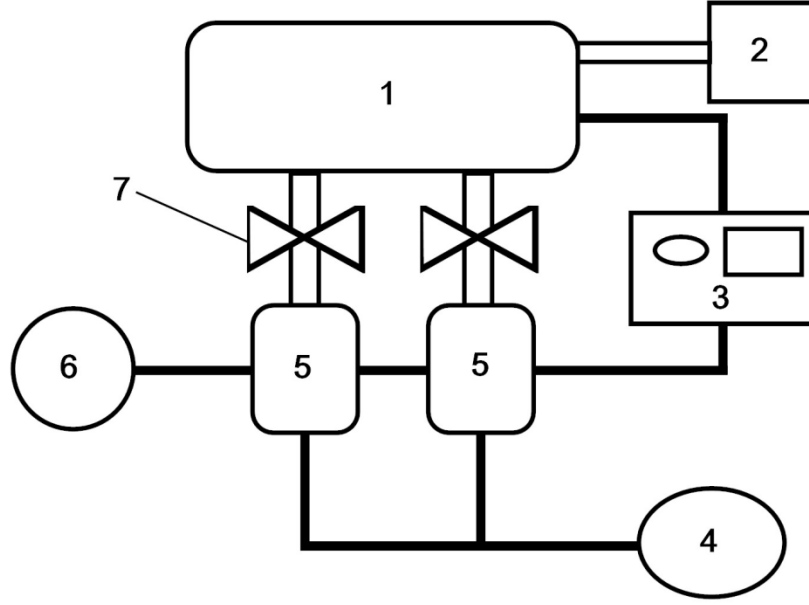
Ekstrüzyon teknolojisinin yaygınlaşmasıyla birlikte, gıdaların hem tekstürize edilmesi hem de yeni bir ürün geliştirilmesi açısından üründen nemin uzaklaştırılarak raf ömrü uzun atıştırmalık gıdaların üretimi her geçen gün artmaktadır. İlgili yöntemle özellikle gıdaların tekstürize edilmesi açısından alternatif görülen ve kullanımı günümüzde yeni yeni ilgi görmeye başlayan bir başka yöntemse Patlamalı Puf kurutmadır [11]. Patlamalı puf kurutma 20.yüzyılın ikinci yarısından sonra ilk kez uygulanmaya başlanmıştır. Patlatmalı puf kurutma sisteminin temel prensibi, yüksek basınç ve doygun veya kızgın buharın etkisiyle ürün dokusunun gevşetilmesi ve üründen nemin atmosferik basınçtan daha düşük basınç altında (vakum altında), olabildiğince fazla ve hızlı bir şekilde uzaklaştırılarak, aynı zamanda bal peteğine benzer gözenekli bir yapı elde edilmesidir. Puf işleminin ardından genellikle vakum kurutma yöntemiyle ürünün nem içeriği %3 veya altındaki nem değerlerine kadar düşürülebilmektedir [11,13]. 1960'lı yıllarda puf kurutma temeline dönemin popüler atıştırmalık hammaddesi olan; patates üzerine başlayan alternatif cips ve türevi atıştırmalık ürün üretimi çalışmaları, 1970'li yıllarda bu ürünün oksidasyonunu ve

enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarını engelleyebilecek düzeye getirilmiştir [11]. Bu süreçte özellikle ABD'deki Doğu Bölgesi Araştırma Merkezinde araştırmacıların geliştirmiş olduğu sürekli sistem patlatmalı puf sistemi bugün hali hazırda kullanımı bulunan patlamalı puf kurutucuların da temelini oluşturmaktadır (Şekil 1). Sürekli patlatmalı puf sisteminde (CEPS) öncelikle sıcak hava kurutma işlemiyle bir ön kurutma yapıp (%15-20-35 (yaş bazda) nem değerlerine kadar) sonrasında yüksek sıcaklık ve basınç (yaklaşık 100°C ve ortalama 0.4 MPa) uygulaması ve ardından tekrar sıcak hava ile kurutma işleminin gerçekleşmesi ile ürünün %6-7 nem değerine indirilmesi gerçekleştirilmiştir [13]. CEPS sistemi ile başlangıçta patates cipsi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada, dilimlenen patateslerin nem içeriğinin %20-35 aralığına indirilmesi tepsili kurutucu veya bantlı kurutucu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonraki yıllarda patlamalı puf kurutma, patatesten sonra havuç ve elmanın tekstürize edilip, atıştırmalık formuna getirilmesi için kullanılmaya başlamıştır. Günümüzde bu işlem öncelikle farklı ön kurutma yöntemleriyle ürün neminin %20 civarına getirilip, sonrasında yüksek sıcaklık ve basınç etkisiyle kısa sürede puf edilmesi ve sonraki süreçte vakum altında kurutulması şeklinde

sürekli bir sistem haline dönüştürülmüştür (Şekil 2). Patlatmalı puf kurutmanın, yapılan çalışmalar sonucunda önemli avantajları olduğu bildirilmektedir. Bunlar: tüketici talebini etkileyecek olan rengin ve aromanın çok iyi korunabilmesi, ortam sıcaklığında depolama stabilitesinin yüksek olması ve taşınma sürecindeki masrafların düşük olmasıdır [14]. Patlamalı puf kurutmanın genellikle tek başına bir kullanımı değil de, kombine bir kurutma ve tekstürize etme işlemi kapsamı, geçmiş çalışmalarda patlatmalı puf kurutma mekanizmasında çeşitli ürünlerin işlenmesi sırasında görülen kalite kayıplarından kaynaklanmaktadır. Yeni sistemlerde bu kalite kayıpları uygun kombine kurutma yöntemleriyle en aza indirilmektedir. Yeni sistemlerdeki çalışmalarda; öncelikle belli bir nem içeriğine kadar farklı yöntemlerle kurutulan ve sonrasında puf edilen ürün için temel puf nokta, ani sıcaklık yükselmesi ve basınç düşüşü etkenleriyle ürünün en az zarar görerek tekstürize edilmesidir. Bu sebeple suyun ani buharlaşması ve gözenekli yapının oluşturulmasıyla ürüne hacim kazandırılması prensibinde geliştirilen yeni sistemler, son yıllarda puf kurutulmuş ürünlerin popülerleşmesine de katkı sağlamaktadır [15,16,17].



Şekil 1. CEPS (sürekli patlatmalı puf sistemi) [13]



Şekil 2. Patlatmalı puf kurutucu (1. Vakum odası 2. Vakum pompası 3. Kontrol paneli 4. Hava kompresörü 5. Puf odası 6. Buhar jeneratörü 7. Vakum vanası) [16]

## PATLAMALI PUF KURUTMA ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Literatürde çeşitli yöresel ve evrensel nitelik kazanmış hammadde olarak kullanılan meyve ve sebzelerin patlatmalı puf kurutmaya atıştırmalık ürün formuna dönüştürülmesi ve bu süreçteki kalite parametreleri üzerine çalışmalar mevcuttur. 1977 yılında Sullivan ve ark. [13] tarafından dönemin popüler yiyeceği olan patates cipsi üretimi üzerine geliştirilen sürekli patlatmalı puf sistemi (CEPS) ile çalışmalar başlamış (Şekil 1)

ardından da havuç, elma ve yaban mersini cipsi gibi ürünler içinde bu sistem kullanılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalarda CEPS sistemi ile sadece puf işlemi gerçekleştirilebilmekte, sistemde kurutma gerçekleştirilememektedir. Bu nedenle puf işleminden sonra genellikle sıcak hava kurutma (tepsili kurutucu veya bantlı kurutucu) kullanılarak, ürünün nem içeriği %3-5 aralığına indirilmektedir. Bu alanda yapılan çalışmaların işlem koşulları ve kullanıldıkları ürünler Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Patlamalı puf kurutma yöntemi ile meyve ve sebzeler üzerine gerçekleştirilen çalışmalar

Ürün	Ön işlem ve koşulları	Puf Kurutma koşulları	Referans
Patates	Sıcak hava ile kurutma (%20-35 nem içeriğine kadar)	163°C'de 4 farklı basınç değerinde (277, 345, 414 ve 448 kPa) 10 dakika puf işlemi ve ardından 66°C'de sıcak hava ile kurutma	[13]
Yaban mersini	93.3°C sıcak buharda haşlama, 4-8 s 24°C'de hafif yıkama Buhar uygulaması Sürekli bantlı kurutucuda sıcak hava ile kurutma (82°C'de, bant hızı 0.004 m/s, hava hızı 2.4 ve 3 m/s)	149-188°C ve 0.1-0.172 MPa aralıklarında puf kurutma ve sıcak hava ile kurutma	[14]
Elma	Sıcak hava ile kurutma (82°C ve 3 m/s hava hızı)	0.06-0.124 MPa ve 155-190°C aralıklarında puf kurutma ve ardından 73.8°C'de 3 m/s hava hızında sıcak hava ile kurutma	[18]
Havuç	Sıcak hava ile kurutma (82.2°C'de)	138-242 kPa ve 150-190°C aralıklarında puf işlemi ve ardından 66°C'de sıcak hava ile kurutma	[19]
Muz	Ozmotik kurutma (%30'luk sakkarozda 30 dakika, ürün/çözelti oranı 30:1) -Sıcak hava ile kurutma (90°C 2 m/s %30 sonuç nem)	180, 200, 220°C 'ta 1.5; 2; 2.5 dakika Puf kurutma	[20]
Mango	Ozmotik kurutma (65°Brix, 30°C, 30, 60, 120 dakika) Sıcak hava ile kurutma (%30 RH, 50°C)	95°C, 5 dakika, 0.2 MPa Puf kurutma ve 75°C 180 dakika vakum kurutma	[15]

Hünnap	Sitrik asit çözeltisinde bekletme (%0.2'lik)	90°C, 20 dakika, 0.2 MPa puf kurutma ve 80°C 2.5 saat vakum kurutma	[21]
Elma	Dondurarak kurutma ( -80°C, 12 saat ) Maltoz şurubunda bekletme (%30, 25°C, 1:5 elma/ çözelti w/w) CaCl <sub>2</sub> uygulaması (0.05 mol/L CaCl <sub>2</sub> , 25°C, 1:5 elma/ çözelti w/w) Pastörize süte daldırma (1:5 elma/ çözelti w/w )	80°C, 15 dakika, 0.2 MPa puf kurutma ve 60°C 2 saat vakum altında kurutma	[16]
Fuji elması	Sıcak hava ile kurutma (80°C, 2 saat)	105°C, 10 dakika, 0.3 MPa puf kurutma ve 80°C 2 saat vakum kurutma	[22]
Armut	Sıcak hava ile kurutma (60°C 1,2 m/s) İnfrared kurutma (75°C, 1125 W/m <sup>2</sup> ) Mikrodalga kurutma (2.2 W/g meyve) Dondurarak kurutmanın (-55°C) Vakum kurutma (65°C, 40Pa)	90°C, 5 dakika, 0.2 MPa puf kurutma ve 65°C'ta vakum kurutma	[23]
Pitaya	Mikrodalga kurutma (400, 800 ve 1600 W ) Sıcak hava (65°C 2.05 m/s hava hızında)	90°C, 5 dakika, 0.2 MPa puf kurutma ve 65°C'ta vakum kurutma	[24]
JackFruit	Sıcak hava ile kurutma (65°C 1.2 m/s) Dondurarak kurutma (-55°C), İnfrared kurutma (75°C, 1125 W/m <sup>2</sup> ) Mikrodalga kurutma (2.2 W/g meyve) Vakum kurutma(65°C 40Pa vakum basıncında)	90°C, 5 dakika, 1 atm (0.1 MPa) puf kurutma ve 65°C'de vakum kurutma	[25]
Papaya	Sıcak hava ile kurutma (70°C 1.5 m/s) Dondurarak kurutma (-55 °C)	90°C 5 dakika, 1atm (0.1MPa) puf kurutma ve 65°C' ta vakum kurutma	[26]
Karadut	Sıcak hava kurutma (70°C, 2.5 m/s, 3 saat) Dondurarak kurutma (-55 °C, 0,01 kPa 12 saat)	80°C, 5 dakika ve 0.1 MPa Puf kurutma ve 70°C 3 saat vakum kurutma	[17]
Mango, Pitaya ve papaya	Sıcak hava ile kurutma (65°C, 1.2 m/s hava hızı, % 12 RH ) Dondurarak kurutma ( 0.1 kPa, -55°C mango ve pitaya 8 saat ve papaya 12 saat)	90°C, 5 dakika, 1 atm puf kurutma ve 60°C vakum kurutma	[27]
Karadut	Sıcak hava ile kurutma (70°C, 2,5 m/s hava hızı)  Dondurarak kurutma (-55°C, 0.01 kPa )	80°C, 5 dakika, 1 atm basınç ve 70°C -0.1 MPa vakum kurutma	[28]

Patates cipsi üretimi üzerine yapılan çalışmada sıcaklık sabit tutularak puf işlemi öncesi başlangıç nem değerinin (%20-35 arasında) ve puf işlem basıncının değiştirilmesi ile optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda rehidrasyon oranı ve duyuusal lezzet kriter olarak alındığında patates cipsleri için puf öncesi başlangıç nem içeriği %26 ve 345kPa puf işlem basıncı optimum işlem parametresi olarak belirlenmiştir [13]. Elma cipsi üzerine yapılan çalışmada, başlangıç nem içeriği, puf işlem basıncı ve puf işlem sıcaklığını bağımsız işlem değişkeni olarak belirlemişler ve optimizasyon gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda 95 kPa ve 168°C puf işlem koşulları ve puf işlemi öncesi %18 başlangıç nem içeriği optimum koşul olarak belirlenmiştir. Puf işleminin elmaya gözenekli bir yapı kazandırmasıyla, kurutma işleminin sıcak hava yöntemi ile yapılan kurutmaya göre 2.1 kat daha hızlı gerçekleşmesi sağlanmıştır [18]. CEPS sistemi ile havuç cipsi eldesi üzerine yapılmış başka bir çalışmada ise puf işleminin sıcak hava kurutma ile elde edilen ürünlere etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 131 kPa, 188.6°C'de ve %31.4 puf işlemi öncesi başlangıç nem içeriği optimum koşul olarak belirlenmiş ve puf yapılmış havuç cipslerinin geleneksel sıcak hava

ile kurutmaya göre 3 kat daha hızlı kuruduğu belirlenmiştir [19]. Yaban mersini cipsi için yapılmış bir çalışmada ise, farklı ön işlem ve farklı hava hızlarında ön kurutma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Puf işlem basıncı ve puf işlem sıcaklığı bağımsız işlem değişkeni olarak seçilmiş ve yaban mersini cipsi için optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda %18.5 puf işlemi öncesi başlangıç nem içeriği, 103 kPa puf işlem basıncı ve 190°C puf işlem sıcaklığı optimum olarak belirlenmiştir. Ön kurutma işleminde kurutma hava hızının kurutma süresine bir etkisi gözlenmemişken, sıcaklığın 93°C'den 82°C'ye düşürülmesi ile kopma oranı azalmış ve kurutmanın hızlandığı sonucuna varılmıştır [14].

2000li yıllara doğru geliştirilen patlatmalı puf kurutma sisteminde ise çeşitli meyve atıştırmalıkları üzerine çalışmalar mevcuttur. Atıştırmalık muz cipsi üretimi üzerine yapılan çalışmada ön işlem olarak farklı Brix değerlerinde sakkaroz çözeltisinde bekletmenin muz cipsi üzerine etkileri araştırılmıştır. Ozmotik ön işlem uygulanan muz cipslerinin kuruma süreleri daha uzunken, renk bakımından daha az esmerleşme gözlemlenmiştir. Ayrıca sakkaroz miktarının artması muz

cipslerinin yapısının daha sıkı ve sert olmasına yol açmış, bu durumda sakkaroz miktarının azaltılması gerektiği bulgulanmıştır [20]. Zou ve ark. [15] mango atıştırılabilirliği üretimi üzerine yaptıkları çalışmada, ozmotik ön kurutmayla kombine edilmiş patlamalı puf kurutmanın ürün kalite özellikleri üzerine etkisini incelemişler, ozmotik ön kurutma yapılan ürünlerde çıtırılığın daha fazla, rengin taze mangoya daha yakın, su aktivitesinin daha düşük ve lezzetin daha iyi olduğunu bulgulanmışlardır. Du ve ark. [21], hünnap (Jujube) meyvesinde puf kurutma işleminin ve güneşte kurutmanın fenolik asitlere (serbest esterler, glikozitler), flavonoidlere, toplam fenolik madde içeriğine ve antioksidanlar üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda patlamalı puf kurutma işlemi yapılan hünnap örneklerinin en yüksek galial, p-hidroksibenzoik, vanillik, p-kumar, ferulik asitler, toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulgulanmıştır. Bu sonuç, patlamalı puf kurutma işleminin hünnap işleme için iyi bir seçim olduğunu belirtmektedir. Elma üzerine yapılan bir çalışmada ise, dört farklı ön işleme (dondurarak kurutma, maltoz şurubunda bekletme, kalsiyum klorür uygulaması ve pastörize süte daldırma) ek olarak, sıcak hava ile kısa süreliğine dengeleme amaçlı kurutma yapılan ve patlamalı puf kurutma işlemi uygulanan elma cipslerinin kuruma kinetikleri incelenmiş ve dondurarak kurutma ile kombine edilen sonucun en iyisi olduğu belirlenmiştir [16]. Bi ve ark. [22] yapmış oldukları bir diğer çalışmalarında ise, patlamalı puf kurutma yöntemi ile 9 farklı kökenli fuji elması cipsi elde etmişlerdir. Çalışmada ön kurutma işlemi olarak sıcak hava ile kurutmanın ardından patlamalı puf kurutma işlemi uygulanmış ve her bir elma cipsinin 16 farklı kalite özellikleri (protein içeriği, ham yağ içeriği, ham lif, indirgen şeker içeriği, C vitamini içeriği, "L", "a" ve "b" değerleri, titrasyon asitliği, genleşme oranı, çözünür katı içeriği, nem içeriği, rehidrasyon oranı, sertlik, keskinlik, üretim hızı) belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda 9 fuji elması içinde gıda endüstrisi için kalite kontrol kriterleri belirlenmiştir. Yi ve ark. [23], farklı kurutma yöntemlerinin (sıcak hava ile kurutma, dondurarak kurutma, vakum kurutma, mikrodalga kurutma ve infrared kurutma) patlamalı puf kurutma öncesi ön kurutma yöntemi olarak incelendiği çalışmaları armut cipslerinin toplam kuruma süresi, fiziko-kimyasal ve duyusal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, dondurarak kurutma ve patlamalı puf kurutma kombinasyonu ile dondurarak kurutma işlemine göre daha kısa sürede ürün elde edilmiştir. Dondurarak kurutma+patlamalı puf kurutma kombinasyonu ile elde edilen ürünlerin diğer kombinasyonlara göre kalite özellikleri açısından daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Farklı kurutma teknikleriyle kombine edilerek puf ürün elde edilen bir diğer çalışmalarında ise; mikrodalga kurutma ve sıcak hava ile kurutmanın pitaya meyvesinin fizikokimyasal özellikleri, mikro yapısı, dokusal ve rehidrasyon özelliği üzerine etkisini incelemişlerdir. Patlamalı puf kurutmanın mikrodalga kurutma ile kombinasyonunun sıcak hava ile kurutma ile olan kombinasyona göre; daha iyi rehidrasyon özelliği, daha gözenekli mikro yapı ve genişleme oranı kazandırdığını tespit etmişlerdir [24]. Yi ve ark. [25] jackfruit meyve cipsinin kalite özellikleri üzerine yapmış oldukları çalışmada ise; sıcak hava ile

kurutma, dondurarak kurutma, vakum kurutma, mikrodalga kurutma ve infrared kurutma yöntemleri ile patlamalı puf kurutma yönteminin kombinasyonunu incelemişler, renk korunumu bakımından dondurarak kurutma ve mikrodalga; hacimsel özellik ve duyusal özellik bakımından dondurarak kurutmanın, rehidrasyon oranı, doku ve gözenek yapısı kalitesi yönünden de en başarılı olan kombinasyonun dondurarak kurutma ile olduğunu saptamışlar ve ilgili çalışma modeli için dondurarak kurutma patlamalı puf kurutma kombinasyonunu uygun bulmuşlardır. Lyu ve ark. [26] ise papaya meyvesi üzerine sıcak hava ile kurutma, dondurarak kurutma ve patlamalı puf kurutma kombinasyonları uygulanarak elde edilen Papaya cipsleri ve kalite parametrelerini incelemişlerdir. Çalışmada renk değişimi, antioksidan kapasitesi, rehidrasyon kapasitesi gibi özelliklerin değerlendirilmesi sonucunda; renk korunumu, kuruma süresi ve antioksidan korunumu bakımından dondurarak kurutma ve patlamalı puf kurutmanın, ilgili meyveden cips ürünü elde etmek için oldukça uygun olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise; sıcak hava ile kurutma patlamalı puf kurutma ve dondurarak kurutma patlamalı puf kurutma işlemlerinin, mango, pitaya ve papaya meyveleri üzerinde fizikokimyasal, doku, renk, mikro yapı ve rehidrasyon özellikleri açısından karşılaştırmalı çalışması yapılmıştır [27]. Çalışmaya göre dondurarak kurutma patlamalı puf kurutma kombinasyonunun üç tropikal meyve açısından en iyi sonucu vermesi, değerli hammaddelerin işlenebilmesi açısından uygulanabilir bulunmuştur [27]. Chen ve ark. [17] ise sıcak hava ile kurutma+ patlamalı puf kurutma ve dondurarak kurutma patlamalı+ puf kurutma kombinasyonlarının; karadutun fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda en iyi antosiyanin korunumu dondurarak kurutma da gözlenirken, dondurarak kurutma patlamalı puf kurutma kombinasyonunun renk korunumu, tat ve doku bakımından en iyisi olduğu belirtilmiştir. Chen ve ark. [28] karadutun fizikokimyasal, besinsel ve antioksidan etkisi üzerine sıcak hava ile kurutma, dondurarak kurutma, sıcak hava kurutma- patlamalı puf kurutma ve dondurarak kurutma patlamalı puf kurutma işlemleri incelenmiştir. Yapılan çalışmada dondurarak kurutma-puf kurutma kombinasyonunun en iyi dokusal özellikleri ve en yüksek duyusal değerlendirme puanını aldığı bildirilmiştir. Ayrıca karadutların kuruma süreleri karşılaştırıldığında ürünlerin son neminin %7 olması için geçen süre sıcak havayla kurutma ile 9 saat, sıcak hava ile kurutma- patlamalı puf kurutma kombinasyonu ile 6 saat, dondurarak kurutma 48 saat ve dondurarak kurutma-patlamalı puf kurutma ise 15 saat olarak bildirilmiştir.

## SONUÇ

Patlamalı puf kurutma, 20. yüzyılın ikinci yarısı itibariyle kullanım alanı bulan ve günümüzde de kullanımı giderek artan tekstürize etme yöntemlerindedir. İşlem maliyetinin düşüklüğü, hammaddenin direkt olarak kullanımı, işlem süresinin kısıtlılığı ve ürün kalitesinin yüksek oluşu ve ürünlere iyi bir tekstür kazandırması açısından patlamalı puf kurutma; dondurarak kurutma, ekstrüzyon ve diğer yöntemlere göre avantajlı

görülmektedir. Günümüze kadar olan süreçte, patlamalı puf kurutmada, birçok coğrafi bölgenin meyve ve sebze ürünleri hammadde olarak kullanılmaktadır. Ürünlerin genellikle kalite özelliklerinin incelenmesi mevcutken, çalışmalarda henüz besleyici yönden yeterli değerlendirme bulunmamaktadır. Patlamalı puf kurutma ile nem içeriği düşük ve besleyici özelliği yüksek ürünlerin elde edilebileceği ve özellikle farklı tarımsal ve hayvansal çeşitliliğe sahip bir bölge olan ülkemizde bu teknoloji sayesinde, yeni ve katma değeri yüksek atıştırmalıkların üretimi açısından avantaj sağlanabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Fellows, P., Hampton, A. (1992). Small Scale Food Processing: a guide to appropriate equipment. Intermediate Technology Publications, London, England.
- [2] Nor, N.M., Carr, A., Hardacre, A., Brennan, C.S. (2013). The development of expanded snack product made from pumpkin flour-corn grits: Effect of extrusion conditions and formulations on physical characteristics and microstructure. *Foods*, 2(2), 160-169.
- [3] Rizvi, S.S.H., Mulvaney, S.J., Sokhey, A.S. (1995). The combined application of supercritical fluid and extrusion technology. *Trends in Food Science and Technology*, 6(7), 232-240.
- [4] Zhang, R., Khan, S. A., Chi, J., Wei, Z., Zhang, Y., Deng, Y., Liu, L., Zhang, M. (2018). Different effects of extrusion on the phenolic profiles and antioxidant activity in milled fractions of brown rice. *LWT-Food Science and Technology*, 88, 64-70.
- [5] Ratti C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49, 311-319.
- [6] Göztek, S. P., İçier, F. (2017). Karbon Fiber Destekli Kabin Kurutucuda Farklı Sıcaklıklarda Elma Dilimlerinin Kurutulmasının İncelenmesi: Kurutma Karakteristikleri ve Performans Değerlendirmesi. *Akademik Gıda*, 15(4), 355-367.
- [7] Doymaz, I., Pala, M. (2002). Hot-air drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering*, 55(4), 331-335.
- [8] Lewicki, P.P. (2006). Design of hot air drying for better foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17(4), 153-163.
- [9] Yamashita, C., Chung, M.M.S., dos Santos, C., Mayer, C.R.M., Moraes, I.C.F., Branco, I.G. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus* spp.) by-product extract by freeze-drying. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 256-262.
- [10] Tarafdar, A., Shahi, N.C., Singh, A., Sirohi, R. (2018). Artificial Neural Network Modeling of Water Activity: a Low Energy Approach to Freeze Drying. *Food and Bioprocess Technology*, 11(1), 164-171.
- [11] Kozempel, M.F., Sullivan, J.F., Craig, J.C., Konstance, R.P. (1989). Explosion puffing of fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 54(3), 772-773.
- [12] Sullivan, J.F., Craig Jr, J.C. (1984). The development of explosion puffing. *Food Technology*, 38(2), 52.
- [13] Sullivan, J.F., Konstance, R.P., Aceto, N.C., Heiland, W.K., Craig, J.C. (1977). Continuous explosion-puffing of potatoes. *Journal of Food Science*, 42(6), 1462-1463.
- [14] Sullivan, J.F., Craig, J.C., Dekazos, E.D., Leiby, S.M., Konstance, R.P. (1982). Dehydrated Blueberries by the Continuous Explosion-Puffing Process. *Journal of Food Science*, 47(2), 445-448.
- [15] Zou, K., Teng, J., Huang, L., Dai, X., Wei, B. (2013). Effect of osmotic pretreatment on quality of mango chips by explosion puffing drying. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 253-259.
- [16] Bi, J., Yang A., Liu, X., Wu X., Chen, Q., Wang, Q., Lv J., Wang, X. (2015). Effects of pretreatments on explosion puffing drying kinetics of apple chips. *Food Science and Technology*, 60, 1136-1142.
- [17] Chen, Q., Li, Z., Bi, J., Zhou, L., Yi, J., Wu, X. (2017). Effect of hybrid drying methods on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of dried black mulberry. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 178-184.
- [18] Sullivan, J.F., Craig, J.C., Konstance, R.P., Egoville, M.J., Aceto, N.C. (1980). Continuous explosion-puffing of apples. *Journal of Food Science*, 45(6), 1550-1555.
- [19] Sullivan, J.F., Konstance, R.P., Monica, E.D., Heiland, W.K., Craig, J.C. (1981). Carrot Dehydration—Optimization Process Studies on the Explosion-Puffing Process. *Journal of Food Science*, 46(5), 1537-1542.
- [20] Tabtiang, S., Prachayawarakon, S., Soponronarit, S. (2012). Effects of osmotic treatment and superheated steam puffing temperature on drying characteristics and texture properties of banana slices. *Drying Technology*, 30(1), 20-28.
- [21] Du, L.J., Gao, Q.H., Ji, X.L., Ma, Y.J., Xu, F.Y., Wang, M. (2013). Comparison of flavonoids, phenolic acids, and antioxidant activity of explosion-puffed and sun-dried jujubes (*Ziziphus jujube* Mill.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(48), 11840-11847.
- [22] Bi, J.F., Wang, X., Chen, Q.Q., Liu, X., Wu, X.Y., Wang, Q., Yang, A.J. (2015). Evaluation indicators of explosion puffing Fuji apple chips quality from different Chinese origins. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 1129-1135.
- [23] Yi, J., Zhou, L., Bi, J., Chen, Q., Liu, X., Wu, X. (2015). Impacts of Pre-Drying Methods on Physicochemical Characteristics, Color, Texture, Volume Ratio, Microstructure and Rehydration of Explosion Puffing Dried Pear Chips. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 863-873.
- [24] Yi, J., Zhou, L., Bi, J., Liu, X., Qinqin, C., Wu, X. (2016). Influences of microwave pre-drying and explosion puffing drying induced cell wall polysaccharide modification on physicochemical properties, texture, microstructure and rehydration of pitaya fruit chips. *LWT-Food Science and Technology*, 70, 271-279.
- [25] Yi, J., Zhou, L., Bi, J., Chen, Q., Liu, X., Wu, X. (2016). Influence of pre-drying treatments on

- physicochemical and organoleptic properties of explosion puff dried jackfruit chips. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1120-1129.
- [26] Lyu, J., Zhou, L.Y., Bi, J.F., Liu, X., Wu, X.Y. (2015). Quality evaluation of yellow peach chips prepared by explosion puffing drying. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8204-8211.
- [27] Yi, J.Y., Lyu, J., Bi, J.F., Zhou, L.Y., Zhou, M. (2017). Hot air drying and freeze drying pre-treatments coupled to explosion puffing drying in terms of quality attributes of mango, pitaya, and papaya fruit chips. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), 1-10.
- [28] Chen, Q., Li, Z., Bi, J., Zhou, L., Yi, J., Wu, X. (2017). Effect of hybrid drying methods on physicochemical, nutritional and antioxidant properties of dried black mulberry. *LWT-Food Science and Technology*, 80, 178-184.
-



## Farklı Sirke Çeşitlerinin Mikroflorası, Biyoaktif Bileşenleri ve Sağlık Üzerine Etkileri

İlkin Yücel Şengün<sup>1</sup>, Gülden Kılıç<sup>2</sup>

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 18.12.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 12.05.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [ilkin.sengun@ege.edu.tr](mailto:ilkin.sengun@ege.edu.tr) (İ. Yücel Şengün)

☎ 0 232 311 30 28 📠 0 232 342 75 92

### ÖZ

Sirke çok eski yıllardan bu yana çeşitli gıdalarda aroma verici ve koruyucu madde olarak kullanılan özel bir üründür. Başta Uzak Doğu ve Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünyada farklı hammadde ve üretim yöntemleri kullanılarak çeşitli sirkeler üretilmektedir. Sirke mikroflorasında ağırlıklı olarak asetik asit bakterileri ve mayalar yer almakta, ancak bazı küf ve laktik asit bakterisi türleri farklı özel sirkelerin üretiminde önemli rol alabilmektedir. Sirke, içeriğinde bulunan organik asitler, fenolik bileşikler, vitaminler, mineraller ve melanoidinler sayesinde antimikrobiyel, antioksidan, antidiyabetik, antitümör, antikarsinojenik, antienfeksiyon etkiler başta olmak üzere sağlık üzerine birçok olumlu etki göstermektedir. Bu derlemede farklı sirke çeşitlerinin mikroflorası, biyoaktif içeriği ve sağlık üzerine etkileri üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Sirke, Mikrobiyoloji, Asetik asit bakterileri, Antioksidan, Sağlık

### Microflora, Bioactive Components and Health Effects of Various Kinds of Vinegars

#### ABSTRACT

Vinegar is a special kind of condiment used as a flavoring and preservative agent in various foods since ancient times. Many types of vinegars are produced worldwide, especially in the Far East and European countries, using different raw materials and production techniques. Vinegar microflora mainly composed of acetic acid bacteria and yeasts, but some molds and lactic acid bacteria species can serve an important role in the production of various special vinegars. Vinegar shows many positive health effects, particularly antimicrobial, antioxidant, antidiabetic, antitumor, anticarcinogenic, antidiabetic and antiinfection effects, because of the substances found in vinegar such as organic acids, phenolic compounds, vitamins, minerals and melanoidins. In this review, recent studies on microflora, bioactive content and health effects of different kinds of vinegars are presented.

**Keywords:** Vinegar, Microbiology, Acetic acid bacteria, Antioxidant, Health

#### GİRİŞ

Sirke karbonhidrat içeren farklı hammaddelerden, mayalar ve asetik asit bakterileri (AAB) aracılığıyla üretilen özel bir üründür. Sirkede bulunan organik asitler, fenolik bileşikler, amino asitler, vitaminler ve melanoidinler sirkenin organoleptik özelliklerinde önemli rol oynamaktadır. Sirkede bulunan bu maddelerin

antimikrobiyel, antioksidan, antidiyabetik, antitümör, antikarsinojenik, antienfeksiyon etkilerinin olduğu ve çeşitli sağlık uygulamalarında kullanıldığı bildirilmektedir [1, 2]. Bu nedenle sirke çok eski yıllardan bu yana çeşitli gıdalarda aroma verici ve koruyucu olarak ve aynı zamanda bazı hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır [3].

Eski dönemlerde şarap ve bira gibi alkollü içeceklerin açık kapta kendi hallerine bırakılmaları durumunda sirkeleştiği, diğer bir deyişle alkolün asetik aside dönüştüğü gözlemlenmiş ve bu dönüşüm arzu edilmeyen bir durum olarak değerlendirilmiştir. Ancak zaman içerisinde insanlar bu olayın mekanizmasını incelemiş ve bir süre sonra da sirkeye gereksinim duyar hale gelmişlerdir. Eski yıllara ait eserler, sirkenin M.Ö. 2000'li yıllara dek uzanan bir tarihçesi olduğunu ve farklı toplumlar tarafından üretildiğini göstermektedir [4]. İnanlılar, Yunanlılar ve Romalılar tarafından sirkenin kullanıldığına dair önemli ipuçları bulunmakla birlikte gerçek anlamda sirkeyi öncelikle Mısırlıların keşfetmiş oldukları düşünülmektedir [5].

## TANIMLAR ve STANDARTLAR

Sirkenin tanımı, ülkelere ve tüzüklerine göre değişim göstermektedir. TSE 1880 EN 13188 standardında sirke; "Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermantasyonuyla, biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün" olarak tanımlanmaktadır. Aynı standartta sirke çeşitleri, üretiminde kullanılan hammaddelere göre; şarap sirkesi, meyve sirkesi, meyve şarabı sirkesi, elma şarabı sirkesi, beyaz sirke, tahıl sirkesi, malt sirkesi, aromalı sirke ve diğer sirkeler olarak belirtilmektedir [6]. Ülkemizde üretilen sirkelerde toplam asit içeriğinin (suda serbest asetik asit cinsinden) 40 g/L'den az olmaması gerektiği, şarap sirkelerinde ise bu değer 60 g/L'nin altına düşmemesi gerektiği, ayrıca kalıntı alkol oranının, şarap sirkesi dışındaki sirkelerde hacimce %0.5, şarap sirkelerinde hacimce %1.5 ve özel sirkelerde hacimce %3'ten fazla olmaması gerektiği bildirilmektedir [6].

Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agricultural Organization, FAO)/Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) sirkeyi "nişasta ve/veya şeker içeren uygun hammaddeden önce alkol, daha sonra asit fermantasyonu olmak üzere iki aşamalı fermantasyon işlemiyle üretilen insan tüketimine uygun sıvı" olarak tanımlamaktadır. Sirkede kalıntı alkol içeriğinin şarap sirkesi ve diğer sirkelerde sırasıyla en fazla %1.5 ve %1 olması gerektiği bildirilmektedir [7]. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) sirkede asit içeriğinin en az %4 olması gerektiğini bildirmektedir. FDA ayrıca şarap, malt, şeker ve alkol gibi maddelerden elde edilen sirkelerin etiketlenmesine yönelik *Uyum Politikası Kılavuzları (Compliance Policy Guides)* oluşturmuştur [8].

Avrupa'da üretilen sirkelerde her ülkenin kendi kriterlerini belirleyebileceği, buna karşın bu sirkelerde asit içeriğinin minimum %5 (g/L), alkol içeriğinin maksimum %0.5 (L/L) olması gerektiği, şarap sirkesinin sadece asetik asit fermantasyonuyla şaraptan elde edilebileceği ve bu sirkelerde asit içeriğinin minimum %6 (g/L), alkol içeriğinin ise minimum %1.5 (L/L) olması gerektiği bildirilmektedir [9].

Çin Ulusal Standardı'nda (Chinese National Standard CNS) sirke kelimesi hem fermente hem de yapay sirkeler için kullanılmış ve asetik asit içeriğine bağlı olarak sirkeler üç sınıfa ayrılmıştır: %3.5-4.5; %4.5-6 ve

>%6 asetik asit (g/L) [10]. Ancak son yıllarda Çin Devlet İdaresi Kalite ve Teknoloji Bürosu (Chinese State Administration Bureau for Quality and Technology) tarafından yeni bir Ulusal Gıda Kodeksi yayınlanmış ve sirkeler olgunlaşmış ya da yapay sirkeler olarak sınıflandırılmıştır [7].

Sirke üretimi, mayalar tarafından fermente edilebilir şekerlerin anaerobik şartlarda etanole dönüştürülmesi ve ikinci aşamada ortamda bulunan etanolün aerobik şartlarda asetik asit bakterileri (AAB) tarafından kullanılarak asetik asidin üretilmesi aşamalarını içermektedir. Sirke üretiminde etanolün asetik aside dönüşümü iki biyokimyasal reaksiyon aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar sırasında öncelikle etanolün alkol dehidrogenaz enzimi tarafından oksidasyonu sonucunda asetaldehit üretilmekte, oluşan asetaldehit daha sonra aldehit dehidrogenaz enzimi tarafından asetik aside dönüştürülmektedir [11].

Sirke üretiminde spontan fermantasyon, back-slopping veya starter kültür kullanılarak üretim yapılabilmektedir. Spontan fermantasyon daha çok küçük ölçekli işletmeler için uygun olup bu yöntemde fermantasyonun kontrol edilmesi zor olduğundan kontaminasyon riskini de beraberinde getirmektedir [4]. Bu tip fermantasyonlarda başlangıç aşamasında ortamda laktik asit bakterileri ve mayalar baskın olarak bulunmakta ve bu mikroorganizmalar sırasıyla laktik asit ve etanol üreterek ortamda bulunabilecek diğer kontaminant mikroorganizmaların gelişimini engellemektedirler. "Back slopping" yönteminde ise daha önce üretilmiş olan fermente ürün yeni üretim sıvısına belli oranda eklenerek ortamda sirkeleşmeden sorumlu mikroorganizmaların baskın şekilde bulunması sağlanmaktadır. Bu nedenle "back slopping" yöntemi ile sirke üretimi spontan fermantasyona göre daha hızlı şekilde gerçekleşmektedir. Bu yöntem aynı zamanda "Starter-kültür" kullanılarak gerçekleştirilen üretim yönteminin öncüsü niteliğindedir [12]. Bununla birlikte doğrudan asetik asit bakterilerinin ortama ilave edildiği "Starter kültür" yöntemi ile çok daha standart kalitede sirke eldesi mümkün olabilmekte, ancak burada kullanılacak olan starter kültürlerin geliştirilmesi ve doğru suşların seçimi titiz bir çalışmayı gerektirmektedir [5].

Sirke ticari olarak yavaş, hızlı ve derin kültür yöntemleri olmak üzere başlıca üç yöntem kullanılarak üretilmektedir. Bu yöntemler arasında derin kültür yöntemi diğerlerine kıyasla daha hızlı ve ekonomik olmasına karşın, kalite açısından yavaş yöntem daha iyi sonuç vermektedir. Hızlı yöntem ve derin kültür yöntemi, hem ekonomik ve hem de üretim süresi açısından yavaş yöntemle göre daha avantajlı olduğundan ticari sirke üretiminde en çok tercih edilen yöntemlerdir [13, 14, 15].

## SİRKE ÇEŞİTLERİ

Dünyanın değişik bölgelerinde farklı sirke çeşitleri üretilmektedir (Tablo 1). Sirke üretiminde hammadde olarak meyve, tahıl ve şeker miktarı yüksek diğer gıdalar kullanılabileceği gibi şarap, bira gibi alkollü içecekler de kullanılabilmektedir [3, 16]. Son yıllarda kendine özgü duyu özellikleri olan meyve ve sebze sirkeleri dünya

pazarında daha çok görülmeye ve daha çok tüketilmeye başlamıştır [17]. Örneğin pirincin bol olduğu Çin ve Japonya'da pirinç sirkesi, şarapları ile ünlü Fransa'da

şarap sirkesi ve İtalya'da Geleneksel Balsamik sirke yaygın olarak üretilen sirke çeşitlerindedir [16].

Tablo 1. Dünyanın değişik ülkelerinde farklı hammaddelerden üretilen bazı sirke çeşitleri (Sengun [18]'den adapte edilmiştir)

Sirke Çeşidi	Hammadde	Üretildiği Ülke
<i>Meyve Sirkeleri</i>		
Balsamik sirke	Üzüm şırası	İtalya
Çilek sirkesi	Çilek	İspanya
Dut sirkesi	Beyaz ya da karadut	Türkiye
Elma sirkesi	Elma ya da elma şarabı	Dünya geneli
Hindistan cevizi sirkesi	Hindistan cevizi	Güneydoğu Asya
Hurma sirkesi	Hurma	Japonya, Güney Kore
İncir sirkesi	İncir	Türkiye
Vişne sirkesi	Vişne	Avrupa, ABD
Üzüm sirkesi	Üzüm	Türkiye, Orta Doğu
<i>Hububat Sirkeleri</i>		
Bira sirkesi	Arpa	Almanya
Kurosu (Siyah pirinç sirkesi)	Pirinç	Japonya
Siyah sirke	Buğday, darı	Çin, Doğu Asya
Pirinç sirkesi	Pirinç ya da sake	Japonya, Çin
<i>Sebze Sirkeleri</i>		
Domates sirkesi	Domates	Japonya, Doğu Asya
Soğan sirkesi	Soğan	Doğu Asya
<i>Şarap Sirkeleri</i>		
Şarap sirkesi	Düşük alkollü şaraplar	Dünya geneli
Palmiye suyu sirkesi	Palmiye şarabı	Afrika, Asya ve Güney Amerika
<i>Diğer Sirkeler</i>		
Bal sirkesi	Bal	Avrupa, Afrika, Amerika
Beyaz distile sirke	Alkol	ABD, Çin
Kombucha sirkesi	Çay ve şeker	Asya
Malt sirkesi	Malt	Kuzey Avrupa
Peynir altı suyu sirkesi	Peynir altı suyu	Avrupa

### Meyve Sirkeleri

Sirke üretiminde genellikle meyve atıkları ve kalitesi düşük meyveler kullanılmakta ve bu nedenle ekonomik bir ürün olarak değerlendirilmektedir [4]. Bununla birlikte sağlıklı ve kaliteli sirke eldesi için kullanılacak olan meyvelerde pestisit kalıntısı, zararlı organizma, mikotoksin ya da diğer zararlı bileşiklerin bulunmaması gerekmektedir.

Sirke üretiminde kullanılacak olan meyvelerin asitlik ve şeker içeriği bakımından alkol fermentasyonuna uygun olması gerekmektedir. İdeal olarak sirke üretiminde kullanılacak olan meyvelerde şeker oranının yüksek olması gerekmekte, düşük şeker içeriğine sahip meyvelerin kullanılması durumunda ise meyve suyu konsantreleri ile ortamın şeker içeriği artırılmaktadır. Örneğin elma sirkesi üretiminde kullanılacak olan elmaların şeker içeriğinin ideal olarak %10-13 seviyesinde olması istenir ki bu durumda elde edilecek sirkede asitlik değeri yaklaşık olarak %6.7-7.4 olmaktadır. Düşük şeker içerikli meyve suları (<%7-8 teorik etanol) ise konsantr elma suyu (%60-80 şeker içeriği) ile takviye edilmektedir. Bunun dışında ortamda özellikle duysal açıdan arzu edilmeyen bileşiklerin oluşumuna neden olan basiller ve/veya laktik asit bakterilerinin (LAB) gelişimini engelleyebilmek adına

sirke üretiminde kullanılacak olan meyve sularının düşük pH değerine (yaklaşık 3.5) sahip olması istenmektedir [7].

Meyve sirkesi üretiminde başta üzüm ve elma olmak üzere incir, Frenk üzümü, ahududu, dut, hurma, Hindistan cevizi, vişne, armut, erik gibi farklı meyveler kullanılmaktadır [19, 20]. Fermentasyon aşamasını tamamlayan sirkeler daha sonra dinlendirme, durultma, filtrasyon, jelatin ekleme gibi işlemlere tabi tutulmakta, son aşamada ise ortamda mevcut bulunan AAB'lerinin gelişimini önlemek amacıyla pastörizasyon işlemi uygulanmakta, bazı durumlarda ise ortama sülfite ya da askorbik asit gibi antioksidanlar da eklenerek paketleme yapılmaktadır [5, 20].

### Geleneksel Balsamik Sirke

Geleneksel balsamik sirke kahve renkli ve tatlımsı ekşi tada sahip bir sirke çeşidi olup üretim yöntemi açısından diğer meyve sirkelerinden farklılık göstermekte, tarihi ve üretim özelliklerinden dolayı koruma altına alınmış ürün (protected designation of origin) olarak da bilinmektedir. Örneğin, "Modena Geleneksel Balsamik Sirkesi" ve "Reggio Emilia Geleneksel Balsamik Sirkesi" koruma altına alınmış geleneksel balsamik sirkelerdir [21, 22]. Balsamik sirke üretiminde öncelikle üzüm suyu

kaynatılarak yoğunlaştırılır ve daha sonra elde edilen şıranın özel fiçiler içerisinde alkol ve asetik asit fermantasyonuna bırakılarak, önce şaraba ardından sirkeye dönüşmesi sağlanır. Fiçiler içerisinde bekletilen sirke zamanla su kaybederek daha konsantrale hale gelir ve böylelikle olgunlaşma sağlanır. Sirkenin konsantrale olması su içeriği, özgül ağırlık, viskozite, renk, Briks değeri, toplam asitlik ve pH açısından büyük önem taşımaktadır [7]. Ayrıca yıllandırma aşamasında sirke içerisinde bazı kimyasal bileşikler oluşup reaksiyona girerek melanoidin adı verilen yüksek molekül ağırlıklı polimerleri oluşturulmaktadır [7, 23, 24].

### Hububat Sirkeleri

Sirke üretiminde pirinç, buğday, darı ve diğer nişasta içerikli tahıl türleri kullanılabilir. Ancak tahıllar maya ve bakteriler tarafından fermente edilemeyen karbonhidratları içerdiklerinden bu hammaddelerden alkollü içecek ve sirke üretimi diğer hammaddelere göre daha zor olmaktadır. Bu nedenle basit şekerleri açığa çıkarmak amacıyla hammadde öncelikle enzimlerle muamele edilmektedir. Bu aşamada polisakaritler  $\alpha$ -amilaz ve  $\beta$ -amilaz enzimleriyle maltoza hidroliz edilmekte, ortamda mevcut bulunan maltoz ise maltaz enzimiyle glikoza parçalanmaktadır. Tahıl sirkesi üretimi tahıl hazırlama (buhar uygulaması, ezme), sakarifikasyon (nişastanın basit şekerlere çevrilmesi), alkol ve asetik asit fermantasyonu, sirke ekstraksiyonu, olgunlaşma ve paketleme aşamalarını içermektedir. İlk olarak 12-24 saat süre ile ezme ve buhar uygulaması yapılarak nişasta hidrolizini kolaylaştıran jelleşme sağlanmaktadır. Çin usulü tahıl sirkesi üretiminde, hammaddenin basit bileşiklere dönüşümünü sağlayan enzimler salgılayan *Rhizopus*, *Mucor* gibi küfler kullanılmaktadır. Basit şekerleri içeren bu sıvı daha sonra alkol ve asetik asit fermantasyonuna bırakılmakta, istenen asitlik düzeyi elde edildikten sonra kaliteli sirke eldesi için sirke ekstraksiyonu uygulanmakta ve ortama farklı oranlarda tuz eklenerek AAB'lerinin gelişimi engellenmektedir. Son olarak sirkede arzu edilen fiziksel-kimyasal değişikliklerin oluşması, renk pigmentlerinin istenen seviyeye ulaşması ve duyu özelliklerinin gelişmesi amacıyla olgunlaşma işlemi uygulanmakta ve daha sonra ürün paketlenmektedir [7].

### Diğer Sirkeler

Avrupa ülkelerinde peynir altı suyu gibi süt ürünlerinden sırasıyla laktik asit fermantasyonu, alkol fermantasyonu ve asetik asit fermantasyonu ile sirke üretilebilmektedir. Peynir altı suyu, peynir üretiminden arta kalan sıvı olarak nitelendirilmekte ve nitrojen bileşikleri, vitaminler, mineraller ve laktoz içermektedir. Peynir altı suyu homofermentatif laktik asit bakterileri açısından oldukça zengin bir kaynaktır. Bu hammaddeden fosfat ve amino asit içeren ve diğer sirkelere göre daha yüksek pH değerine (pH 3.4) sahip olan sirkeler üretilmektedir [7]. Diğer sirkeler başlığı altında nitelendirilen sirke çeşitlerinden bal sirkesi ise su ile seyreltilmiş bala amonyum sülfat, amonyum fosfat, potasyum bikarbonat, sodyum fosfat gibi mineral sağlayıcı maddeler eklenerek alkol ve asetik asit fermantasyonu ile üretilmektedir [25, 26]. Peynir altı suyu sirkesi ve bal sirkesi hayvansal

orjinli hammaddeden elde edilen sirkeler olarak sınıflandırılmaktadır. Asya ülkelerinde ise siyah ya da yeşil çaya şeker katılarak alkol ve asetik asit fermantasyonuyla sirke benzeri içecek olarak da isimlendirilen kombucha sirkesi üretilmektedir [27].

Çoğunlukla Avrupa ülkelerinde üretilen şarap sirkeleri, sadece asetik asit fermantasyonuyla elde edilmektedir. Sirke üretiminde kırmızı veya beyaz şarap kullanılabilir ve bunun paralelinde kırmızı ve beyaz renkte sirkeler elde edilmektedir. Asetik asit bakterilerinin rahat gelişebilmeleri için kullanılacak şarapta alkol içeriğinin maksimum %7-9 olması (alkol içeriği daha yüksek şarap kullanıldığında ise su ile seyreltilmelidir) gerekmektedir ve genellikle böyle bir şaraptan elde edilen sirkenin asitlik düzeyi %7-8 civarında olmaktadır [27].

Sebze sirkeleri Doğu Asya ülkelerinde genellikle domates ve soğandan üretilmektedir. Bu sirkelerde kullanılan hammaddelerin şeker oranı düşük olduğundan üretimde, mayaların gelişimini desteklemek için ortama şeker oranı yüksek meyve ekstraktları ilave edilmektedir [28].

### SİRKEDE BULUNAN MİKROORGANİZMA GRUPLARI

Sirke üretiminde asetik asit bakterileri ve mayalar önemli mikroorganizma gruplarını oluşturmaktadır. Bununla birlikte sirke çeşidine bağlı olarak bazı küf ve laktik asit bakterisi türleri de sirke üretiminde rol alabilmektedir.

### Asetik Asit Bakterileri

AAB'leri zorunlu aerobik mikroorganizmalar olup, alkolden asetik asit oluşturan, Gram (-), katalaz (+), oksidaz (-), spor oluşturmayan, elipsoidal ve çubuk şeklinde (0.4-1.0  $\mu$ m genişliğinde ve 0.8-4.5  $\mu$ m uzunluğunda), hücreleri tekli, çift veya zincir şeklinde bulunan, hareketli veya hareketsiz mikroorganizmalardır. Gelişme sıcaklıkları 5-45°C arasında, optimum gelişme sıcaklıkları ise 25-30°C arasında değişim göstermekte olup bazı türleri termotolerant özellik de gösterebilmektedir. AAB'leri 5.0-6.5 pH değerlerinde optimum gelişme göstermelerine rağmen düşük pH (3-4) değerlerinde de gelişebilmektedirler [29].

Başlıca sirke, kakao ve kombucha gibi fermente ürünlerin üretiminde rol alan AAB'lerinin taksonomisi yıllar içerisinde büyük değişim göstermiştir. Yakın zamana kadar AAB'lerine ait sadece iki cins (*Acetobacter* ve *Gluconobacter*) bilinmesine karşın, günümüzde gelişen tanımlama yöntemleriyle birlikte toplam 18 AAB'si cinsi tanımlanmış ve şu şekilde adlandırılmıştır: *Acetobacter*, *Acidomonas*, *Ameyamaea*, *Asaia*, *Bombella*, *Endobacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Granulibacter*, *Komagataeibacter*, *Kozakia*, *Neoasaia*, *Neokomagataea*, *Nguyenibacter*, *Saccharibacter*, *Swaminathania*, *Swingsia* ve *Tanticharoenia* [30]. Bu grup içerisinde en fazla türe sahip olan cins, 26 tür ile *Acetobacter* cinsindedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarla AAB'lerinin mevcut

taksonomisinin değişmeye devam ettiği de görülmektedir [31, 32].

AAB'lerinin izolasyonu amacıyla geliştirilen Glucose Yeast Agar (GY), Glucose Yeast Extract CaCO<sub>3</sub> Agar (GYC), Reinforced AE-Medium (RAE) gibi birçok besiyeri bulunmasına rağmen, bu ortamlar tüm türlerin gelişimine imkan sağlayamamaktadır [33, 34, 35, 36, 37]. Genel olarak AAB'lerinin metabolik aktiviteleri katı besiyerinde koloni çevresinde berrak zon oluşumu şeklinde gözlemlenmektedir [38]. İzole edilen AAB'leri farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklık değerlerinde gelişme, etanolden asit üretimi, asetat ve laktat oksidasyonu ve bazı şeker fermantasyon testleri yapılarak fenotipik olarak tanımlanabilmektedir [39]. Bununla birlikte AAB'lerinin izolasyonu amacı ile kullanılan besiyerleri kültüre edilemeyen türlerin (viable but non-cultivable-VNBC) belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır [18, 38]. Dolayısıyla AAB'lerinin kültüre edilebilme ve tanımlanmalarında mevcut olan zorlukların üstesinden gelebilmek adına son yıllarda ağırlıklı olarak moleküler yaklaşımlardan yararlanılmaktadır. Genel olarak AAB'lerinin moleküler düzeyde tanımlanması amacıyla DNA-rRNA hibridizasyonu, DNA-DNA hibridizasyonu ve Ribozomal RNA gen dizisi (5S rRNA, 16S rRNA ve 23S rRNA) yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır [31, 32, 38].

Sirke üretiminde asetik asit fermantasyonunda rol oynayan AAB türlerinin başında *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter* ve *Komagataeibacter* cinsine ait türler gelmektedir [7]. Sirkeden izole edilip tanımlanan ilk bakteri cinsi olması nedeniyle *Acetobacter* (1898) "sirke bakterisi" olarak da bilinmektedir. *Acetobacter* cinsi etanolü güçlü, glukozu zayıf şekilde okside edebilmesine karşın asetat ve laktatı tamamen okside edebilmektedir. *Gluconobacter* cinsi (1968) ise genellikle etanolü zayıf, glukozu güçlü şekilde okside edebilmekte, bununla birlikte asetat ve laktat oksidasyonunu gerçekleştirememektedir [7]. Bu iki cins dışında sirkede sıkça bulunan diğer bir AAB'si cinsi ise *Gluconacetobacter*'tir. Bu cins *Gluconoacetobacter liquefaciens* ve *Ga. xylinus* olmak üzere iki alt gruba ayrılmış ve bu gruplar birbirinden genetik olarak (morfolojik, fizyolojik, ekolojik ve filogenetik temellere dayanarak) ayırt edilebilmiştir [40, 41, 42]. Sonraki yıllarda ise *Gluconacetobacter xylinus* türü *Komagataeibacter* cinsi olarak adlandırılmıştır [43]. *Komagataeibacter* cinsi yüksek asetik asit ve etanol konsantrasyonuna toleranslı ve aynı zamanda yüksek asitli sirke üretebilen AAB'si cinsi olarak bilinmektedir [11].

Mevcut çalışmalar incelendiğinde, farklı sirke çeşitlerinden izole edilerek tanımlanan AAB'si türlerinin oldukça fazla çeşitlilik gösterdiği görülmektedir (Tablo 2). *A. pasteurianus* birçok sirke çeşidinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bunun dışında *A. acetii*, *A. cerevisiae*, *A. oboediensis*, *A. orleanensis*, *A. malorum*, *A. pomorum*, *A. syzygii*, *Ga. entanii*, *K. europaeus*, *K. hansenii*, *K.*

*intermedius*, *K. saccharivorans* ve *K. xylinus*, çeşitli sirkelerden en sık izole edilen AAB'si türleridir.

Fermente ürünlerin üretiminde starter kültür kullanımı kaliteli ve standart ürün elde etmek adına büyük önem taşımaktadır. Seçilmiş starter kültürler, ileri teknoloji uygulamalarının bir sonucudur ve bu kültürler genellikle şarap, bira, ekmek, fermente et ve süt ürünleri gibi fermente gıdaların üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [56]. Ancak sirke üretiminde starter kültür kullanımı yaygın bir uygulama değildir [7, 57]. Bununla birlikte sirke üretiminde rol oynayan mikroorganizmaların tanımlanması kaliteli ürün elde etmek, standart kalitede sirkenin endüstriyel üretiminin gerçekleştirilmesi ve ürün kalitesi ile kalitenin sürekliliğinin sağlanması için gerekli olan altyapıyı oluşturmak adına büyük önem arz etmektedir. Sirke üretiminde starter kültür olarak kullanılabilir AAB'si türlerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Önceki çalışmalar kapsamında çilek, hurma, yaban mersini ve tatlı patates gibi farklı hammaddelerden üretilen sirkeler; fizyolojik, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından incelenmiş, sirke üretiminde kullanılabilir starter kültürler elde edilmeye çalışılmıştır [4, 36, 58, 59, 60]. Örneğin geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılabilir starter kültürlerin geliştirilmesinde; hammadde özellikleri, AAB'lerinin metabolik aktiviteleri, uygulanan teknoloji ve son ürünün istenen özellikleri gibi bazı kriterlerin belirlenmesi gerektiği vurgulanmıştır [61]. Geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılacak AAB'lerinin etanolü kullanabilme, etkili oksidasyon yapabilme, hızlı asetik asit üretme, yüksek asetik asit konsantrasyonuna tolerans gösterme, düşük pH değerlerine direnç gösterme, aşırı oksidasyon yapmama ve daha spesifik olarak da yüksek şeker konsantrasyonuna tolerans gösterme ve geniş sıcaklık aralığında gelişebilme özelliklerine sahip olmaları gerektiği ve belirtilen bu özellikleri karşılayan iki AAB'si türü olarak *Gluconacetobacter europaeus* ve *Acetobacter malorum*'un geleneksel balsamik sirke üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir [62].

## Mayalar

Mayalar güncel taksonomide 700'den fazla tür içermektedir. Endüstride en önemli ve en çok bilinen maya türü *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Sirke üretiminde hammaddede bulunan şeker etil alkolle dönüştürerek alkol fermantasyonunun gerçekleşmesini sağlayan *S. cerevisiae*, yüksek şeker ve düşük azot içeren ortamlarda gelişme yeteneğine sahiptir [63]. Bununla birlikte farklı hammaddelerden üretilen sirkelerde farklı maya cinsleri bulunabilmektedir. Örneğin, *Kluyveromyces* cinsinin, peynir altı suyu sirkesi, bal sirkesi ve geleneksel balsamik sirke üretiminde kullanılan konsantre üzüm şirasından izole edildiği belirlenmiştir [7, 64].

Tablo 2. Farklı sirkelerden izole edilen asetik asit bakterisi türleri

Sirke çeşidi	İzole edilen AAB'si	Kaynak
Geleneksel balsamik sirke	<i>A. pasteurianus</i> , <i>Ga. europaeus</i>	[44]
Geleneksel Kore sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>A. aceti</i>	[45]
Geleneksel Kore sirkesi	<i>A. pomorum</i>	[46]
Geleneksel şarap sirkesi	<i>Ga. xylinus</i> , <i>Ga. europaeus</i> , <i>Ga. Intermedius</i>	[47]
Geleneksel Türk sirkesi	<i>A. okinawensis</i> , <i>A. persici</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. syzgyi</i> , <i>A. ghanensis</i> , <i>A. tropicalis</i> , <i>As. krungthepensis</i> <i>K. hansenii</i> , <i>K. europaeus</i> , <i>K. intermedius</i> , <i>K. xylinus</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. oboediens</i> , <i>K. saccharivorans</i>	[48]
Hindistan cevizi suyu sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>G. frateurii</i>	[49]
Pirinç sirkesi	<i>Ga. xylinus</i>	[50]
Pirinç sirkesi	<i>A. pasteurianus</i>	[51]
Shanxi yıllanmış sirke	<i>A. pasteurianus</i> , <i>A. indonesiensis</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. orientalis</i> , <i>A. senegalensis</i> , <i>G. oxydans</i>	[52]
Şarap sirkesi	<i>A. pasteurianus</i> , <i>K. europaeus</i>	[53]
Tatlı patates sirkesi	<i>A. aceti</i>	[54]
Zhenjiang aromatik sirke (Çin)	<i>A. tropicalis</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>Ga. europaeus</i>	[55]

\*A.: *Acetobacter*, As.: *Asaia*, Ga.: *Gluconacetobacter*, G.: *Gluconobacter*, K.: *Komagataeibacter*. Tür isimleri kaynaklarda geçtiği şekilde verilmiştir. Bu nedenle tabloda hem yeni hem de eski isimlendirme aynı anda görülmektedir. *Ga. europaeus*, *Ga. intermedius* (*A. intermedius*) ve *Ga. saccharivorans* daha sonra *Komagataeibacter* cinsine dahil edilmiştir.

Yüksek kalitede şarap üretiminde, kullanılacak olan maya türünün büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. Alkol fermentasyonunu gerçekleştiren mayanın, üretilen alkolün kompozisyonu ve ürünün duyuşal özellikleri üzerine etkileri olduğu bildirilmektedir [65]. Bununla birlikte sirke üretiminde özel maya suşlarının kullanımının ve bu suşların sirkenin duyuşal kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [65, 66].

Solieri ve arkadaşları (2006) [67] tarafından yapılan bir çalışmada, *Zygosaccharomyces* cinsine ait bazı türlerin geleneksel balsamik sirke üretimi için önemli olduğu, bu sirkenin üretiminde *Saccharomyces cerevisiae* dışında *Z. bailii*, *Z. bisporus*, *Z. pseudorouxii*, *Z. mellis* ve *Z. rouxii* olmak üzere *Zygosaccharomyces* cinsine ait beş türün ve ayrıca *Hansenispora valbyensis*, *H. osmophila*, *Candida stellata* ve *C. lactis-condensi* türü mayaların rol aldığı tespit edilmiştir.

Alkol fermentasyonunda mayaların yararlı etkilerinin yanı sıra zararlı etkilerinin de olduğu, bazı maya türlerinin alkolü CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya tamamen oksitleyerek sirke ve şarap üretimi için tehlike yaratabildiği bildirilmektedir. Örneğin *Pichia membranaefaciens*'in alkol fermentasyonu sırasında kötü koku ve yüzeyde film oluşumuna sebebiyet verdiği için sirke üretiminde kullanımının uygun olmadığı bildirilmektedir [7].

## Küfler

Sirke üretiminde küfler özellikle salgıladıkları enzimler nedeniyle önem taşımaktadır. Tahıl sirkesi üretiminde kullanılan *Rhizopus*, *Mucor* gibi bazı küf türleri, amilaz, glukoamilaz gibi enzimler salgılayarak hammaddenin basit bileşiklere dönüşmesini sağlamaktadır. Bu cinslere ek olarak *Aspergillus* cinsinin bazı türleri de sirke üretiminde kullanılabilmektedir. *Aspergillus* türleri nişasta ve selüloz dahil üzere çok sayıda doğal bileşiği kullanarak sitrik asit üretebilmektedir. *Aspergillus oryzae* çoğu doğu ülkesinde alkollü içki ve sirke üretiminde pirinç ununun fermentasyonunda rol almaktadır. Bunların dışında *Rhizopus* cinsinin de fumarik ve laktik asit gibi organik asitler üretebildiği, *R. oryzae*'nin sake ve sirke gibi alkol içeren içeceklerin eldesinde önemli rol aldığı bildirilmektedir [68].

## Laktik Asit Bakterileri (LAB)

Sirke üretiminde yer alan diğer bakteri türleri laktik asit bakterileridir (LAB). LAB'leri genellikle fermente et ve süt ürünlerinin üretiminde rol oynamaktadır. Sirke üretiminde LAB'lerine genellikle ihtiyaç duyulmamaktadır. Ancak *Kluyveromyces* cinsinin bazı türleri hariç mayalar laktozu fermente edememekte ve bu nedenle sirke üretiminde ortamda laktozun bulunduğu durumlarda LAB'lerine ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin peynir altı suyu sirkesi gibi bazı özel sirkelerin üretiminde LAB'leri laktozun hidrolizini sağlayarak glukoz ve galaktoza dönüştürmekte ve alkol

fermantasyonunun gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır [64]. *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Streptococcus* gibi cinslerin Çin'de üretilen tahıl sirkelerinden, *Lactobacillus casei*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. brevis* gibi türlerin ise pirinç sirkесinden izole edilen LAB'leri olduğu bildirilmektedir [51, 69].

## SİRKENİN FİZİKSEL, KİMYASAL ve BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ

Dünya'da üretimi yapılan birçok sirke çeşidi farklı fiziksel ve kimyasal özellikler göstermektedir. Kaliteli hammadde kullanılarak kontrollü şartlarda üretilen sirkelerde kalite daha yüksek olmakta, diğer bir değişle üründe istenen asitlik değeri ve aroma özellikleri sağlanabilmektedir (70-72). Farklı ülkelerde (İtalya, Fransa, İspanya, İsveç) marketlerde satışa sunulan sirkelerin kimyasal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, elma sirkelerinde kuru madde miktarı ve fenolik madde içeriğinin diğer sirkelere kıyasla daha yüksek olduğu, şarap sirkelerinin potasyum içeriği bakımından daha zengin olduğu, bununla birlikte şarap sirkelerinde tartarik asit miktarının, elma sirkelerinde malik ve laktik asit miktarının, alkol sirkelerinde ise sitrik asit miktarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir [73]. Türkiye'de farklı illerde geleneksel ve endüstriyel olarak üretilen 25 adet sirke örneğinin incelendiği bir çalışmada en düşük pH değerinin (2.70) Niğde iline ait geleneksel üzüm sirkесinde, en yüksek asitlik değerinin (%7.20 asetik asit) Tokat iline ait geleneksel elma sirkесinde, en yüksek Briks değerinin (20.80) ise Tokat iline ait geleneksel üzüm sirkесinde olduğu, ayrıca sirke örneklerinde 61 uçucu bileşenin bulunduğu ve en sık rastlanan uçucu bileşenlerin  $\alpha$ -terpinol, etil asetat ve feniletıl alkol olduğu belirlenmiştir [74]. Yapılan diğer bir çalışmada pirinç şarabından (*Oryza sativa* L.) elde edilen pirinç sirkесinde toplam asitliğin %6.85, alkol içeriğinin %0.17, mineral ve kuru madde miktarının ise sırasıyla %1.26 ve %1.78 olduğu, örneklerde ayrıca *cis*-akonitik asit (6 mg/L), maleik asit (3 mg/L), *trans*-akonitik asit (3 mg/L), şikimik ve süksinik asit (4 mg/L), laktik asit (300 mg/L), formik asit (180 mg/L), okzalik asit (3 mg/L), fumarik asit (3 mg/L) ve itakonik asit (1 mg/L) bulunduğu tespit edilmiştir [75].

Sirke, biyoaktif bileşenler açısından zengin bir üründür. Farklı sirke çeşitlerinde başta fenolik bileşikler, melanoidinler, fruktooligosakkaritler, mineraller, vitaminler ve alfa-glukan olmak üzere birçok biaktif bileşen bulunmaktadır [23, 24, 76-78]. Sirke, farklı vitaminler ve mineraller açısından da zengin bir içeriğe sahiptir. Ghosh ve arkadaşları [79] tarafından yapılan bir çalışmada, hurma suyu, hurma şarabı ve hurma sirkесinde B3 ve B5 vitaminleri, askorbik asit, folik asit, Cu, Zn ve Na miktarları incelenmiş ve en yüksek değerlerin hurma sirkесinde bulunduğu tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada, tahıl sirkесi (Çin) fermentasyonu sırasında aromatik bileşikler, fenol, aldehit, keton, hidrokarbon ve heterosiklik bileşiklerin artış gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında ayrıca sirkede bulunan karakteristik aroma bileşikleri etil asetat, izoamilasetat, feniletıl asetat,  $\beta$ -feniletıl alkol ve 4-vinyl guaiacol, organik asitler ise asetik asit, süksinik asit, malik asit ve laktik asit olarak tanımlanmıştır [80].

Üretimde kullanılan hammadde ve üretim yöntemine bağlı olarak sirkelerde duyuşal özelliklerin yanı sıra toplam asitlik, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerleri de değişim göstermektedir [81, 82, 83, 84]. Spontan alkol fermentasyonu ile üretilen sirkelerin, starter kültür inokülasyonu ile üretilen sirkelerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir [83]. Türkiye'de geleneksel ve ticari olarak üretilen farklı sirkelerde (geleneksel olarak üretilen üzüm sirkесi, elma sirkесi, nar sirkесi, elma-limon sirkесi, enginar sirkесi, alıç sirkесi ve endüstriyel olarak üretilen üzüm sirkесi, elma sirkесi, limon sirkесi, vişne sirkесi, nar sirkесi) en yüksek toplam fenolik madde (2228.79 mg GAE/L), toplam flavonoid (349.05 mg kateşin/L) ve antiradikal aktivite (DPPH) (%89.53) değerlerinin geleneksel üzüm sirkelerinde olduğu belirlenmiştir [74]. Pirinç sirkесinde toplam fenolik madde içeriği 24.73 mg GAE/L ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi %6.72 iken tatlı patates sirkесinde bu değerler sırasıyla 327.14 mg GAE/L ve %67.63 olarak değişim göstermiş, ayrıca pirinç sirkесinin daha yüksek aroma ve asitliğe sahip olduğu belirlenmiştir [54].

Sirke üretiminde kullanılan hammaddede doğal olarak bulunan fenolik bileşikler sirke üretimi sırasında yeni antioksidan etkili fenolik bileşiklere dönüşmekte ve elde edilen son ürün önemli fonksiyonel özellikler göstermektedir [17, 85]. Kore'de yapılan bir çalışmada şarap sirkесi üretimi sırasında meydana gelen değişimler incelenmiş, sirke üretiminde kullanılan hammaddede toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içeriği sırasıyla 58.23 mg GAE/100 mL ve 9.93 mg GAE/100 mL iken, sirkede bu değerlerin sırasıyla 84.15 mg GAE/100 mL ve 17.22 mg GAE/100 mL seviyelerine ulaştığı belirlenmiştir [86]. Bununla birlikte yapılan diğer bir çalışmada, dut sirkесi üretim aşamasında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içerikleri incelenmiş, en yüksek değerlerin dut sirkесinde bulunduğu bildirilmiştir [87].

## SİRKENİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Sirkenin sağlık üzerine yararlı etkileri içeriğinde bulunan organik asitler, amino asitler, fenolik bileşikler ve melanoidinler gibi biyoaktif bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Sirkede bulunan bu bileşiklerin antimikrobiyel, antioksidan, antidiyabetik, kardiyovasküler, antikarsinojenik, antitümör, antienfeksiyon etkilerinin olduğu ve çeşitli sağlık uygulamalarında kullanıldığı bildirilmektedir [2].

Yapılan birçok çalışmada sirkenin *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ve gibi gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkisinin olduğu ortaya konulmuştur [2, 74, 88-90]. Sirkenin gıda hazırlamada kullanılan çeşitli ekipman ve yüzeylerin dezenfeksiyonunda kullanılabileceği, ayrıca sebzelerde bulunabilen bazı patojen bakterilerin sirkeli suda bekletilerek etkili bir şekilde yok edilebileceği farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [2, 90-95].

Çeşitli sirkelerin antimikrobiyel etkilerinin yanı sıra önemli seviyede antioksidan aktiviteye de sahip olduğu, bu aktivitenin sirke içerisinde bulunan biyoaktif bileşenlerden kaynaklandığı ve bu bileşenlerin kullanılan sirke çeşidine bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir [2]. Örneğin Japonya'da geleneksel olarak üretilen sirkelerden biri olan Kurosu'nun (siyah pirinç sirkesi) fenolik maddeler açısından şarap ve elma sirkesinden daha zengin olduğu ve paralelinde antioksidan aktivitesinin de diğer sirkelere kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir [96]. Benzer şekilde, yulaf sirkesinin tokotrienol, fenolik bileşenler, flavonoidler, fitik asit, sterol ve avenantiramitler gibi fitokimyasallar içerdiği ve pirinç sirkesinden daha güçlü serbest radikal giderme aktivitesine ve lipid peroksidasyon inhibisyon etkisine sahip olduğu belirlenmiştir [97]. Genellikle tahıl ve meyve sirkelerinin, pişirme ve yıllandırma aşamalarında oluşan ve sirkedeki makromolekül bileşen olan melanoidinleri içermesi nedeni ile daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları da bildirilmektedir [24, 98].

Sirke kan şekeri seviyesini olumlu yönde etkilemekte ve son yıllarda diyabetik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarla sirke tüketiminin insülin-dirençli insidanslarda postprandiyal glisemiye plasebo değerlerine kıyasla %64 oranında düşürdüğü belirlenmiştir [99]. Bununla birlikte %0.3 ve % 2 asetik asit çözeltisinin tüketiminin kandaki glukoz seviyesini önemli seviyede düşürdüğü tespit edilmiştir [100, 101]. Mor tatlı patates sirkesinden izole edilen yeni bir doğal  $\alpha$ -glukosidaz inhibitörü olan *caffeoysophorose*'un, farelerde hipoglisemik etkisinin olduğu belirlenmiştir [58]. Ayrıca sirkelerin antidiyabetik ilaçlarla karşılaştırılabilir olduğu da bildirilmektedir [102].

Sirkenin kardiyovasküler hastalıklar üzerine koruyucu etkisinin bulunduğu birçok çalışma ile belirlenmiştir. Elma sirkesinin farelerde kolesterol seviyesini düşürdüğü, düşük yoğunluklu lipoprotein (low density lipoprotein (LDL)) oksidasyonunu inhibe ettiği ve kardiyovasküler hastalıkları önlediği kanıtlanmıştır [103, 104]. Sorgum sirkesinde bulunan alditol ve monosakkaritlerin, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde faydalı olabilecek antiplatelet agregasyon aktivitesini başlattığı bildirilmektedir [105]. Komesu (Japonya pirinç sirkesi) ve Kurosu (siyah pirinç sirkesi)'nun antihipertansif ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu, aynı zamanda bu sirkelerde bulunan organik asitlerin kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol aldığı belirtilmektedir [106].

Çeşitli çalışmalarla sirkenin antikarsinogenik etkisi kanıtlanmıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, yüksek antioksidan aktiviteye ve zengin fenolik madde içeriğine sahip olan Kurosu'nun, kullanılan doza bağlı olarak kanser hücrelerinin gelişimini engellediği belirlenmiştir [107]. Antikanser özelliği kanıtlanmış bir bileşik olan triptofolun, Japonya siyah soya sirkesinden izole edildiği bildirilmektedir [108, 109].

Ayrıca farklı sirkelerin kan lipid-seviyesini düşürücü etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Siyah sirke,

domates sirkesi ve nar sirkesinin lipid düşürücü etkisinin bulunduğu ve antiobezite tedavisinde kullanılabilecek fonksiyonel bir ürün olduğu bildirilmektedir [28, 110, 111]. Yapılan araştırmalar, sirkenin antibakteriyel, antienfeksiyon ve antioksidan etkilerinin, yapısında bulunan organik asitler, polifenol ve melanoidinlerden kaynaklandığını, zengin asetik asit içeriğinin ise kan glukozunun kontrolü, lipid metabolizmasının düzenlenmesi ve kilo kaybına neden olduğunu ortaya koymuştur [112].

## SONUÇ

Sirke, eski yıllardan bu yana tüm Dünya'da çeşitli hammaddelerden farklı yöntemler kullanarak üretilen özel bir üründür. Sirke mikroflorasında önemli bir yere sahip olan asetik asit bakterileri ortamda baskın olarak asetik asit üretmekte ve böylece elde edilen ürünün gıdalarda sadece lezzet verici olarak değil, aynı zamanda koruyucu olarak da kullanımına olanak sağlamaktadırlar. Önceleri düşük kalitedeki meyveleri değerlendirmek üzere ekonomik bir ürün olarak üretilen sirke, yıllar içerisinde değer kazanmış ve sağlık üzerine olumlu etkileri bilimsel olarak kanıtlandıktan sonra da çok daha önemli bir ürün haline gelmiştir. Ülkemizde de farklı hammaddelerden hem geleneksel hem de endüstriyel olarak üretilen çeşitli sirkeler bulunmasına karşın bu konuda yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. İleride yapılacak çalışmalarla bize özgü sirkelerde bulunan mikroorganizmaların ve biyoaktif bileşiklerin detaylandırılması ile hem ülke ekonomisine hem de literatüre önemli katkı sağlanmış olacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] FDA (Food and Drug Administration), (1989). Acetic acid - use in foods - labeling of foods in which used. <https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074577.htm>. (Erişim Tarihi Temmuz 2017).
- [2] Karabiyikli, S., Sengun, I.Y. (2017). Beneficial Effects of Acetic Acid Bacteria and Their Food Products. In *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications*, Edited by I.Y. Sengun, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 221-242p.
- [3] Plessi, M. (2003). Vinegar. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Edited by B. Caballero, L.C. Trugo, P.M. Finglas, Academic Press, Oxford, 5996-6003p.
- [4] Solieri, L., Giudici, P. (2009). *Vinegars of the World*. Springer, Berlin.
- [5] Rosma, A., Nadiyah, A.H.S., Raj, A., Supwat, T., Sharma, S., Joshi, V.K. (2016). Acetic Acid Fermented Product. In *Indigenous Fermented Foods of South Asia*, Edited by V.K. Joshi, CRC Press, Taylor & Francis Group, Florida, 598-635p.
- [6] TSE (Türk Standartları Enstitüsü), (2016). Sirke-Tarım kökenli sıvılardan elde edilen ürün-tarifler, özellikler, işaretleme (Vol. TS 1880 EN 13188/D1:2016), Ankara.
- [7] Giudici, P., De Vero, L., Gullo, M. (2017). Vinegars. In *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food*



- Applications, Edited by I.Y. Sengun, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 261-287p.
- [8] FDA (Food and Drug Administration), (1989), Acetic acid - use in foods - labeling of foods in which used. <https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074577.htm>. Accessed: July 2017.
- [9] EC (Council Regulation), (1999), No 1493/1999 of 17 May 1999 on the common organisation of the market in wine, Official Journal of the European Communities L179: 1-84 pp.
- [10] CNS (Chinese National Standard), (2005), Edible Vinegar, No.14834, N5239, Ministry of Economic Affairs, Taiwan, Republic of China.
- [11] Gullo, M., Verzelloni, E., Canonico, M., 2014. Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. *Process Biochemistry*, 49, 1571-1579.
- [12] De Vuyst, L. (2000). Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 38, 105-112.
- [13] Morales, M.L., Tesfaye, W., Garcia-Parrilla, M.C., Casas, J.A., Troncoso, A.M. (2001). Sherry wine vinegar: Physicochemical changes during the acetification process. *Journal Science and Food Agriculture*, 81, 611-619.
- [14] Tan, S.C. (2005), Vinegar Fermentation, MSc Thesis, University of Louisiana, 123p (unpublished).
- [15] Aktan, N., Yıldırım, H.K. (2011). Sirke Teknolojisi. Sidas Yayınevi, İzmir.
- [16] Guizani, N., Mothershaw, A. (2006). Fermentation: General principles. In Handbook of Food Science, Technology and Engineering, Edited by Y.H. Hui, Taylor & Francis, London, 63p.
- [17] Shahidi, F., McDonald, J., Chandrasekara, A., Zhong, Y. (2008). Phytochemicals of foods, beverages and fruit vinegars: chemistry and health effects. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17, 380-382.
- [18] Sengun, I.Y. (2015). Acetic acid bacteria in food fermentations. In Fermented Foods: Part 1. Biochemistry and Biotechnology, Edited by D. Montet, R.C. Ray, CRC Press, Boca Raton, USA, 91-111p.
- [19] Joshi, V.K., Thakur, N.S. (2000). Vinegar: Composition and Production, In Postharvest Technology of Fruits and Vegetables, Edited by L.R. Verma, V.K. Joshi, New Delhi: The Indus Publication, 1128-1170p.
- [20] Sengun, I.Y. (2013). Microbiological and chemical properties of fig vinegar produced in Turkey. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 2332-2338.
- [21] Disciplinary di produzione, (2000a), Aceto Balsamico Tradizionale di Modena. MiPAF 15/05/2000. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.
- [22] Disciplinary di produzione, (2000b), Aceto Balsamico Tradizionale di Reggio Emilia. MiPAF 15/05/2000. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.
- [23] Verzelloni, E., Tagliacucchi, D., Conte, A. (2010). From balsamic to healthy: Traditional balsamic vinegar melanoidins inhibit lipid peroxidation during simulated gastric digestion of meat. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2097-2102.
- [24] Tagliacucchi, D., Verzelloni, E., Conte, A. (2010). Contribution of melanoidins to the antioxidant activity of traditional balsamic vinegar during aging. *Journal Food Biochemistry*, 34, 1061-1078.
- [25] Ilha, E.C., Santanna, E., Torres, R.C., Porto, A.C., Meinert, E.M. (2000). Utilization of bee (*Apis mellifera*) honey for vinegar production at laboratory scale. *Acta Cientifica Venezuelana*, 51, 231-235.
- [26] Alak, G.D. (2015). Bal ve bal sirkelerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi* 113s (yayımlanmamış).
- [27] Raspor, P., Goranovic, D., 2008. Biotechnological applications of acetic acid bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology* 28: 101-124.
- [28] Lee, J.H., Cho, H.D., Jeong, J.H., Lee, M.K., Jeong, Y.K., Shim, K.H., Seo, K.I. (2013). New vinegar produced by tomato suppresses adipocyte differentiation and fat accumulation in 3T3-L1 cells and obese rat model. *Food Chemistry*, 141, 3241-3249.
- [29] Sievers, M., Swings, J. (2005). Family II. Acetobacteraceae Gillis and De Ley 1980, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In the Proteobacteria, Part C, The Alpha-, Beta-, Delta- and Epsilonproteobacteria, Edited by G.M. Garrity, D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, Springer, New York, 41-95p.
- [30] Malimas, T., Vu, H.T.L., Muramatsu, Y., Yukphan, P., Tanasupawat, S., Yamada, Y. (2017). Systematics of Acetic Acid Bacteria. In Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications, Edited by I.Y. Sengun, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 261-287p.
- [31] Trček, J., Barja, F. (2015). Updates on quick identification of acetic acid bacteria with a focus on the 16S–23S rRNA gene internal transcribed spacer and the analysis of cell proteins by MALDI-TOF mass spectrometry. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 137-144.
- [32] Şengün, İ.Y., Kılıç, G. (2016). Asetik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması ve güncel taksonomisi. *Biodicon-Biological Diversity and Conservation*, 9(1), 154-162.
- [33] Gullo, M., Caggia, C., De Vero, L., Giudici, P., 2006. Characterization of acetic acid bacteria in "traditional balsamic vinegar". *International Journal of Food Microbiology* 106: 209-212.
- [34] Zahoor, T., Siddique, F., Farooq, U. (2006). Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources. *British Food Journal*, 108, 429-439.
- [35] Sengun I.Y., Karabiyikli S. (2011). Importance of acetic acid bacteria in food industry. *Food Control*, 22, 647-656.
- [36] Hidalgo, C., Garcia, D., Romero, J., Mas, A., Torija, M.J., Mateo, E. (2013). *Acetobacter* strains isolated during the acetification of blueberry (*Vaccinium*

- corymbosum* L.) wine. *Applied Microbiology*, 57(3), 227-232.
- [37] Mateo, E., Valera, M.J., Torija, M.J., Mas, A. (2014). Cellulose production and cellulose synthase gene detection in acetic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(3), 1349-1361.
- [38] Cleenwerck, I., De Vos, P. (2008). Polyphasic taxonomy of acetic acid bacteria: an overview of the currently applied methodology. *International Journal of Food Microbiology*, 125(1), 2-14.
- [39] Asai, T., Iizuka, H., Komagata, K. (1964). The flagellation and taxonomy of genera *Gluconobacter* and *Acetobacter* with reference to the existence of intermediate strains. *Journal of General and Applied Microbiology*, 10, 95-126.
- [40] Franke, I.H., Fegan, M., Hayward, C., Leonard, G., Stackebrandt, E., Sly, L.I. (1999). Description of *Gluconacetobacter sacchari* sp. nov., a new species of acetic acid bacterium isolated from the leaf sheath of sugar cane and from the pink sugarcane mealy bug. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1681-1693.
- [41] Yamada, Y., Katsura, K., Kawasaki, H., Widyastuti, Y., Saono, S., Seki, T., Uchimura, T., Komagata, K. (2000). *Asaia bogorensis* gen. nov., sp. nov., an unusual acetic acid bacterium in the  $\alpha$ -Proteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 823-829.
- [42] Yamada, Y., Yukphan, P. (2008). Genera and species in acetic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 15-24.
- [43] Yamada, Y., Yukphan, P., Lan Vu, H.T., Muramatsu, Y., Ochaikul, D., Tanasupawat, S., Nakagawa, Y. (2012). Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58, 397-404.
- [44] Gullo, M., De Vero, L., Giudici, P. (2009). Succession of selected strains of *Acetobacter pasteurianus* and other acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *Applied of Environmental Microbiology*, 75(8), 2585-2589.
- [45] Lee, K.W., Shim, J.M., Kim, G.M., Shin, J.H., Kim, J.H., 2015. Isolation and characterization of *Acetobacter* species from a traditionally prepared vinegar. *Microbiology and Biotechnology Letters* 43(3): 219-226.
- [46] Baek, C.H., Park, E.H., Baek, S.Y., Jeong, S.T., Kim, M.K., Kwon, J.H., Jeong, Y.J., Ye, S.H. (2014). Characterization of *Acetobacter pomorum* KJY8 isolated from Korean traditional vinegar. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(12), 1679-1684.
- [47] Vegas, C., González, A., Mateo, E., Albert Mas, A., Poblet, M., Torija, M.J. (2013). Evaluation of representativity of the acetic acid bacteria species identified by culture-dependent method during a traditional wine vinegar production. *Food Research International*, 51(1), 404-411.
- [48] Yetiman, A.E., Kesmen, Z. (2015). Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 204, 9-16.
- [49] Perumpuli, P.A.B.N., Watanabe, T., Toyama, H. (2014). Identification and characterization of thermotolerant acetic acid bacteria strains isolated from coconut water vinegar in Sri Lanka. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 78(3), 533-541.
- [50] Fu, L., Chen, S., Yi, J., Hou, Z. (2013). Effects of different fermentation methods on bacterial cellulose and acid production by *Gluconacetobacter xylinus* in Cantonese-style rice vinegar. *Food Science and Technology International*, 20(5), 321-331.
- [51] Haruta, S., Ueno, S., Egawa, I., Hashiguchi, K., Fujii, A., Nagano, M., Ishii, M., Igarashi, Y. (2006). Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 109, 79-87.
- [52] Wu, J.J., Ma, Y.K., Zhang, F.F., Chen, F.S. (2012). Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of "Shanxi aged vinegar", a traditional Chinese vinegar. *Food Microbiology*, 30, 289-297.
- [53] Mas, A., Torija, M.J., Parrilla, M.C.G., Troncoso, A.M. (2014). Acetic acid bacteria and the production and quality of wine vinegar. *The Scientific World Journal Volume*, 6.
- [54] Chun, J.E., Baik, M.Y., Kim, B.Y. (2014). Manufacture and quality evaluation of purple sweet potato makgeolli vinegar using a 2-stage fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 23(4), 1145-1149.
- [55] Wang, Z.M., Lu, Z.M., Yu, Y.J., Li, G.Q., Shi, J.S., Xu, Z.H. (2015). Batch-to-batch uniformity of bacterial community succession and flavor formation in the fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar. *Food Microbiology*, 50, 64-69.
- [56] Sengun, I.Y., Doyle, M.P. (2017). Microbiology of Fermented Foods. In *Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications*, Edited by I.Y. Sengun, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 213-260p.
- [57] Sokollek, S.J., Hammes, W.P. (1997). Description of a starter culture preparation for vinegar fermentation. *Systematic and Applied Microbiology*, 20, 481-491.
- [58] Matsui, T., Ebuchi, S., Fukui, K., Matsugano, K., Terahara, N., Matsumoto, K. (2014). Caffeoylsophorose, a new natural  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, from red vinegar by fermented purple-fleshed sweet potato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 2239-2246.
- [59] Hidalgo, C., Mateo, E., Cerezo, A.B., Torija, M.J., Mas, A. (2010a). Technological process for production of persimmon and strawberry vinegars. *International Journal of Wine Research*, 2, 55-61.
- [60] Hidalgo, C., Vegas, C., Mateo, E., Tesfaye, W., Cerezo, A., Callejón, R., Poblet, M., Guillamón, J., Mas, A., Torija, M. (2010b). Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in

- wine vinegar production. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1), 56-62.
- [61] Giudici, P., Solieri, L., Pulvirenti, A., Cassanelli, S. (2005). Strategies and perspectives for genetic improvement of wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66, 622-628.
- [62] Gullo, M., Giudici, P. (2008). Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: Phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *International Journal of Food Microbiology*, 125(1), 46-53.
- [63] Cocolin, L., Pepe, V., Comitini, F., Comi, G., Ciani, M. (2004). Enological and genetic traits of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from former and modern wineries. *FEMS Yeast Research*, 5, 237-245.
- [64] Parrondo, J., Herrero, M., García, L.A., Díaz, M. (2003). A Note – Production of vinegar from whey. *Journal of the Institute of Brewing*, 109, 356-358.
- [65] Gobbi, M., De Vero, L., Solieri, L., Comitini, F., Oro, L., Giudici, P., Ciani, M. (2014). Fermentative aptitude of non-*Saccharomyces* wine yeast for reduction in the ethanol content in wine. *European Food Research and Technology*, 239, 41-48.
- [66] Chen, Y., Huang, Y., Bai, Y., Fu, C., Zhou, M., Gao, B., Wang, C., Li, D., Hu, Y., Xu, N. (2017). Effects of mixed cultures of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* in alcoholic fermentation on the physicochemical and sensory properties of citrus vinegar. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 753-763.
- [67] Solieri, L., Landi, S., De Vero, L., Giudici, P., 2006. Molecular assessment of indigenous yeast population from traditional balsamic vinegar. *Journal of Applied Microbiology* 101: 63-71.
- [68] Londoño-Hernández, L., Ramírez-Torob, C., Ruiza, H.A., Ascacio-Valdés, J.A., Aguilar-Gonzalez, M.A., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C.N. (2017). *Rhizopus oryzae* – Ancient microbial resource with importance in modern food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 110-127.
- [69] Peng, Q., Yang, Y., Guo, Y., Han, Y., 2015. Analysis of bacterial diversity during acetic acid fermentation of tianjin duli aged vinegar by 454 pyrosequencing. *Current Microbiology* 71(2): 195-203.
- [70] Kılıç, O. (1976). Piyasada satılan sirkelerin bileşimleri üzerinde bir araştırma. *Gıda*, 1(1), 121-125.
- [71] Şahin, İ., Yavaş, İ., Kılıç, O. (1977). Kuru üzüm sirkesi üretiminde öğütme ve çeşitli katkı maddelerinin fermantasyon süresi ve verime etkileri. *Gıda*, 2(3), 95-105.
- [72] Şahin, İ., Kılıç, O. (1981). Kuru üzüm ve şarap sirkelerinin bileşimleri ve kontrol yöntemleri üzerinde araştırma. *Gıda*, 6(6), 5-13.
- [73] Gerbi, V., Zeppa, G., Beltramo, R., Carnacini, A., Antonelli, A. (1998). Characterization of white vinegars of different sources with artificial neural networks. *Journal Science Food Agriculture*, 78, 415-425.
- [74] Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Sagdic, O. (2015). Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional homemade Turkish vinegars. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 63, 144-151.
- [75] Spinosa, W.A., Santos Junior, V.D., Galyan, D., Florio, J.L., Gomez, R.J.H.C. (2015). Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. *Food Science and Technology*, 35(1), 196-201.
- [76] Horiuchi, J., Tada, K., Kobayashi, M., Kanno, T., Ebie, K. (2004). Biological approach for effective utilization of worthless onions vinegar production and composting. *Resources, Conservation and Recycling*, 40, 97-109 pp.
- [77] Abe, K., Kushibiki, T., Matsue, H., Furukawa, K., Motomura, S. (2007). Generation of antitumor active neutral medium-sized a-glycan in apple vinegar fermentation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71, 2124-2129.
- [78] Ojansivu, I., Ferreirab, C.L., Salminen, S. (2011). Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 40-46.
- [79] Ghosh, S., Chakraborty, R., Chatterjee, A., Raychaudhuri, U. (2014). Optimization of media components for the production of palm vinegar using response surface methodology. *Journal Institute of Brewing and Distilling*, 120, 550-558.
- [80] Qi, W., Wang, C., Cao, X., Zhao, G., Wang, C., Hou, L. (2013). Flavour analysis of Chinese cereal vinegar. International conference on agricultural and natural resources engineering. *IERI Procedia*, 5, 332-338.
- [81] Natera, R., Castro, R., Valme-Garcia-Moreno, M.D., Hernandez, M.J., Garcia-Barroso, C. (2003). Chemometric studies of vinegars from different raw materials and processes of production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3345-3351.
- [82] Budak, N.H., Guzel-Seydim, Z. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2021-2026.
- [83] Ubeda, C., Hidalgo, C., Torija, M.J., Mas, A., Troncoso, A.M., Morales, M.L. (2011). Evaluation of antioxidant activity and total phenols index in persimmon vinegars produced by different processes. *Food Science and Technology*, 44(7), 1591-1596.
- [84] Bakir, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., Capanoglu, E. (2016). Fruit antioxidants during vinegar processing: Changes in content and in vitro bio-accessibility. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1658.
- [85] Martins, S., Mussatto, S.I., Martinez-Avila, G., Montanez-Saenz, J., Aguilar, C.N., Teixeira, J.A. (2011). Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. *Biotechnology Advances*, 29, 365-373.
- [86] Jo, Y., Baek, J.Y., Jeong, I.Y., Jeong, Y.J., Yeo, S.H., Noh, B.S., Kwon, J.H. (2015). Physicochemical properties and volatile components of wine vinegars with high acidity based on fermentation stage and initial alcohol

- concentration. *Food Science and Biotechnology*, 24(2), 445-452.
- [87] Budak, N.H. (2015). Dut sirkesi oluşum sürecinde ileri analitik tekniklerle toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik bileşenleri. *Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 2(2), 27-31.
- [88] Entani, E., Asai, M., Tsujihata, S., Tsukamoto, Y., Ohta, M. (1998). Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Food Protection*, 61(8), 953-959.
- [89] Hindi, N.K. (2013). In vitro antibacterial activity of aquatic garlic extract, apple vinegar and apple vinegar-garlic extract combination. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1, 42-51.
- [90] Sengun, I.Y., Karapinar, M., 2004. Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in elimination of *Salmonella* Typhimurium on carrots. *International Journal of Food Microbiology* 96: 301-305.
- [91] Vijayakumar, C., Wolf-Hall, C. (2002). Evaluation of household sanitizers for reducing levels of *E. coli* on iceberg lettuce. *Journal of Food Protection*, 65, 1646-1650.
- [92] Sengun, I.Y., Karapinar, M. (2005a). Effectiveness of household natural sanitizers in the elimination of *Salmonella* Typhimurium on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 98, 319-323.
- [93] Sengun, I.Y., Karapinar, M. (2005b). Elimination of *Yersinia enterocolitica* on carrots (*Daucus carota* L.) by using household sanitisers. *Food Control*, 16, 845-850.
- [94] Chang, J.M., Fang, T. J. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against *E. coli* O157: H7. *Food Microbiology*, 24(7), 745-751.
- [95] Ramos, B., Brandão, T.R.S., Teixeira, P., Silva, C. L. M. (2014). Balsamic vinegar from Modena: An easy and effective approach to reduce *Listeria monocytogenes* from lettuce. *Food Control*, 42, 38-42.
- [96] Nishidai, S., Nakamura, Y. and Torikai, K. (2000). Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64, 1909-1914.
- [97] Qiu, J., Ren, C., Fan, J., Li, Z. (2010). Antioxidant activities of aged oat vinegar in vitro and in mouse serum and liver. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1951-1958.
- [98] Yang, L., Wang, X., Yang, X. (2014). Possible antioxidant mechanism of melanoidins extract from Shanxi aged vinegar in mitophagy-dependent and mitophagy-independent pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 8616-8622.
- [99] Johnston, C.S., Kim, C.M., Buller, A.J. (2004). Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 27, 281-282.
- [100] Xibib, S., Meilan, H., Moller, H., Evans, H.S., Dixin, D., Wenjie, D., Jianbang, L. (2003). Risk factors for oesophageal cancer in Linzhou, China: A case-control study. *Asian-Pacific Journal of Cancer Prevention*, 4, 119-124.
- [101] Sakakibara, S., Yamauchi, T., Oshima, Y., Tsukamoto, Y., Kadowaki, T. (2006). Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A (y) mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344, 597-604.
- [102] Yusoff, N.A., Yam, M.F., Beh, H.K., Razak, K.N.A., Widyawati, T., Mahmud, R., Ahmad, M., Asmawi, M.Z. (2015). Antidiabetic and antioxidant activities of *Nypa fruticans* Wurmb. vinegar sample from Malaysia. *Asian-Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8, 595-605.
- [103] Laranjinha, J.A.N., Almeida, L.M., Madeira, V.M.C. (1994). Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, 48, 487-494.
- [104] Budak, N.H., Kumbul Doguc, D., Savas, C.M., Seydim, A.C., Kok Tas, T., Ciris, M.I., Guzel-Seydim, Z.B. (2011). Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on blood lipids in high-cholesterol-fed rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6638-6644.
- [105] Li, J., Yu, G., Fan, J. (2014). Alditols and monosaccharides from sorghum vinegar can attenuate platelet aggregation by inhibiting cyclooxygenase-1 and thromboxane-A2 synthase. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 285-292.
- [106] Jing, L., Yanyan, Z., Junfeng, F. (2015). Acetic acid in aged vinegar affects molecular targets for thrombus disease management. *Food and Function*, 6, 2845-2853.
- [107] Nanda, K., Miyoshi, N., Nakamura, Y., Shimoji, Y., Tamura, Y., Nishikawa, Y., Uenakai, K., Kohno, H., Tanaka, T. (2004). Extract of vinegar 'Kurosu' from unpolished rice inhibits the proliferation of human cancer cells. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 23, 69-76.
- [108] Inagaki, S., Morimura, S., Gondo, K., Tang, Y., Akutagawa, H., Kida, K. (2007). Isolation of tryptophol as an apoptosis-inducing component of vinegar produced from boiled extract of black soybean in human monoblastic leukemia U937 cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 371-379.
- [109] Baba, N., Higashi, Y., Kanekura, T. (2013). Japanese black vinegar "Izumi" inhibits the proliferation of human squamous cell carcinoma cells via necroptosis. *Nutrition and Cancer*, 65, 1093-1097.
- [110] Park, J.E., Kim, J.Y., Kim, J., Kim, Y.J., Kim, M.J., Kwon, S.W., Kwon, O. (2014). Pomegranate vinegar beverage reduces visceral fat accumulation in association with AMPK activation in overweight women: A double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Functional Foods*, 8, 274-281.
- [111] Chou, C.H., Liu, C.W., Yang, D.J., Wu, Y.H.S., Chen, Y.C. (2015). Amino acid, mineral and

polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid-lowering and antioxidant effects in vivo. *Food Chemistry*, 168, 63-69.

[112]Chen, H., Chen, T., Giudici, P., Chen, F. (2016). Vinegar functions on health: Constituents, sources,

and formation mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 1124-1138.

---

## Süt ve Ürünlerinin Duyusal Değerlendirmesinde Kemometrik Yaklaşımlar

Gökçe Eminoğlu , Ebru Şenel 

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 08.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 23.12.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [senel@agri.ankara.edu.tr](mailto:senel@agri.ankara.edu.tr) (E. Şenel)

☎ 0 312 596 13 00 📠 0 312 318 22 19

### ÖZ

Duyusal değerlendirme, insanların fiziksel ve kimyasal uyarılara karşı tepkilerini ölçme şeklidir. Gıdaların duyusal değerlendirilmesinde insan duyuları ile elde edilen veriler tamamen kontrol edilememekte ve varyasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Duyusal değerlendirmelerde doğru istatistiksel yöntemlerin kullanılması bu varyasyonları en aza indirerek daha sağlıklı sonuçlar almayı sağlamaktadır. Dolayısıyla duyusal değerlendirmelerden elde edilen sonuçların yorumlanmasında tek değişkenli istatistiksel yöntemlerden farklı olarak çok değişkenli istatistiksel yöntemlerin kullanılması daha uygun olmaktadır. Kemometri süt ve süt ürünlerinin üretim parametrelerinin kontrolü ve kalite değerlendirmesinde oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Kemometrik analizler süt endüstrisinde ve araştırmalarında kimyasal analizler ile duyusal değerlendirmede sonuçlarının ilişkilendirilmesinde kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Duyusal değerlendirme, Kemometri, Çok değişkenli istatistiksel analiz

### Chemometric Approaches in Sensory Evaluation of Dairy Products

#### ABSTRACT

Sensory evaluation is the method where people measure their reactions to physical and chemical stimuli. The data obtained with human senses in the sensory evaluation of foods cannot be completely controlled and variations can occur. The use of correct statistical methods in sensory evaluation ensures that these variations are minimized, resulting in more reliable results. Accordingly, it is more proper to use multivariate statistical methods rather than univariate statistical methods to interpret the results obtained from sensory evaluations. Chemometry is a very useful method in the control and quality evaluation of production parameters of dairy products. Chemometric analysis can be used to correlate the results of chemical analyzes with sensory evaluation results in dairy industry and research.

**Keywords:** Sensory evaluation, Chemometrics, Multivariate statistical analysis

#### GİRİŞ

Duyusal değerlendirme, gıdaların çeşitli karakteristiklerine görme, koklama, tatma, dokunma veya işitme duyularının tepkilerini oluşturan, ölçen, analiz eden ve yorumlayan bir disiplindir [1]. Duyusal değerlendirme ile süt ve süt ürünlerinin kaliteleri hakkında çok önemli bilgiler elde edilmektedir. Ürünlerde kalite kontrolü sağlamak, yeni ürünler geliştirmek ve tüketici isteklerini belirlemek gibi bilgilere ancak duyusal

analizlerle ulaşılabilir. Duyusal analiz verilerindeki varyasyonlara çok sayıda faktör etki etmektedir. Duyusal değerlendirmelerde duyu organlarının bir araç olarak kullanılması bu varyasyonların artmasına neden olmaktadır. Duyusal değerlendirmenin subjektif bir değerlendirme değil objektif bir değerlendirmeye dönüşmesi ancak duyusal değerlendirmenin dikkatli planlanması ve koşulların optimize edilmesi ile sağlanabilmektedir [2].

Araştırmalarda elde edilen iki ya da daha fazla özellik arasında bir ilişkinin olup olmadığını incelerken, tek değişkenli istatistiksel yöntemlerinin yeterli olmaması, bilimsel çalışmalarda karşılaşılan bir problemdir. Bunun nedeni, elde edilen bir sonuca ait verileri, çok sayıda özelliğin etkilemesi ve bu özelliklerin arasında ilişkilerin bulunmasıdır. Bu durumda, araştırmadan daha sağlıklı sonuçlar elde etmek amacıyla iki veya daha fazla özellik kümesi arasındaki ilişkinin belirlenmesi, çok değişkenli analiz tekniklerini ön plana çıkarmıştır [3,4].

Bu çalışmada; kemometrinin tanımı, kullanıldığı alanlar ve duysal değerlendirmede kemometrik yöntemlerin uygulanmasına ilişkin bilgiler ve örnekler sunulmuştur. Ayrıca bu yöntemler içerisinde sıklıkla kullanılan çok değişkenli istatistik yöntemleri hakkında da bilgiler verilmiştir.

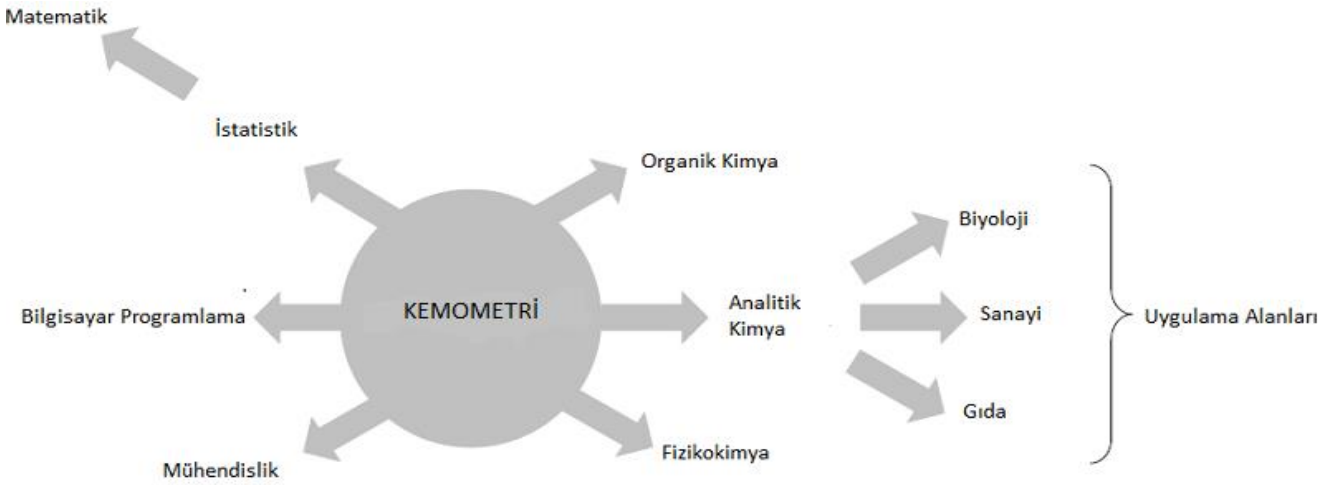
### KEMOMETRİNİN TANIMI ve UYGULAMA ALANLARI

Kemometri kelime olarak, İngilizcede kimya ve ölçme kelimelerinin bir araya gelmesinden meydana gelmiş olup gelişen bilgisayar teknolojisi ile birlikte ortaya çıkmıştır. Kemometrik yöntemlerin 1970'li yıllarda istatistik ve matematiksel yöntemler ile birlikte bilgisayar ve yazılımların kullanıldığı kimya uygulamaları için kullanılmaya başlanmıştır. Kemometri, kimyada

uygulanan çeşitli ölçme ve değerlendirme işlemlerine istatistik ve matematik kullanılarak bilgisayar yardımı ile kimyasal verilerin işlenmesini sağlayan bir disiplindir [5].

1974'te kurulan Uluslararası Kemometri Topluluğu'na göre kabul edilen kemometri tanımı; uygun ölçme işlemleri ve deneylerin seçimi veya tasarımı için matematik ve istatistik yöntemlerini kullanan ve kimyasal verilerin analizinden maksimum bilgi sağlayan kimyasal bir disiplindir [6].

Kimyada deneysel verilerin değerlendirilmesi neden sonuç ilişkilerinin belirlenmesi açısından istatistiğin ilkelerine, veri gruplarının oluşturulması ve anlamlandırılması açısından veri madenciliği yöntemlerine, kabul edilebilir deney tasarımlarının gerçekleştirilebilmesi açısından modelleme ve optimizasyon tekniklerine ve tüm bu ilke, yöntem ve tekniklerin uygulanabilirliği açısından da bilgisayar donanımı, yazılımı, algoritma ve programlama ya da hazır olarak kullanılabilen paket programlarına ihtiyaç duyar ve bunlar da kısaca kemometri biliminin temel alanlarını oluşturur [7]. Kemometrinin temel çalışma alanlarından bazıları deneysel yöntemlerin tasarlanmasını, optimizasyonunu ve analitik verilerden kimyasal bilgilerin maksimum değerinin çıkarımını içermektedir [8]. Kemometrinin ilişkili olduğu alanlar Şekil 1'de verilmiştir



Şekil 1. Kemometrinin ilişkili olduğu alanlar [9]

Günümüzde gıdaya ilişkin konular kemometrinin uygulama alanlarının en önemlilerinden birini oluşturmaktadır [10]. Kemometrik metotlar süt ve süt ürünlerinin üretim parametrelerinin kontrolü ve kalite değerlendirmesinde oldukça kullanışlı yöntemlerdir [11]. Kemometrik hesap yöntemlerini spektrofotometrik, elektrokimyasal ve kromatografik ölçüm cihazlarından elde edilen verilere uygulamak mümkündür [12]. Yapay burun ve dil gibi, gıda kimyası için geliştirilmiş olan yeni araçlardan edinilen bilgilerin istatistiksel olarak yorumlanmasında kemometrik yöntemler oldukça kullanışlı bir araçtır [10].

Gıda kimyasının çerçevesi çok karmaşıktır. Gıdanın kimyasal kompozisyonu kendisini oluşturan hammaddeye, gıdayı hazırlama işlemlerine ve depolama

ya da olgunlaştırma koşullarına ve süresine bağlıdır. Gıda ile ilgili objektif bilgi pek çok kaynaktan elde edilebilir. Bu bilgilerden sadece kimyasal kompozisyon değil aynı zamanda gıdanın tanımlanmasında önemli olan fiziksel bilgiyi de elde etmek mümkündür. Subjektif bilgi, duysal parametreler ve tüketici tercihleri gıdanın kimyasal kompozisyonu ile ilişkilendirilebilmekte ve gıda bileşenlerinin kimyasal kompozisyonu ile moleküler yapısı gıdanın duysal özelliklerini tayin etme ya da hakkında fikir sahibi olma konusunda kullanılabilir. Gıda kompozisyonu, gıdanın tanımlanması, işlenmesi ve kalite kontrolündeki problemlerin çözülmesinde temeldir. Gıda kompozisyonunun karmaşık yapısından dolayı gıda hakkında girilen karmaşık veriyi yorumlayabilmek için

kemometrik analiz yöntemlerinden yararlanılabilmektedir [10].

Kemometrik analizlerin gıda endüstrisinde ve araştırmalarında uygulama alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Örnek hazırlama işlemini en aza indirdiği için proses takibi ve kontrolünü sağlamak, işlenmemiş ürünün kimyasal kompozisyonunun ölçümüne olanak sağlamak, hızlı analiz gerçekleştirmek ve ürün kaybını en aza indirmek,
- Coğrafi orijin belirlemek, aroma ve aromatik bileşenleri, iz elementleri tanımlamak,
- Duyusal değerlendirme,
- Taklit ve tağşiş ürününün belirlenmesinde elde edilen verilerin yorumlanması [13].

### DUYUSAL DEĞERLENDİRMELERDE KEMOMETRİK YÖNTEMLERİN KULLANIMI

Aroma algısı oldukça karmaşık bir sistemdir. Gıdalardaki aroma bileşenleri pek çok uçucu bileşenden oluşmaktadır. Bu uçucu bileşenler gıdalardan homojen bir biçimde açığa çıkmamakta fakat; gıdanın yağ, protein, karbonhidrat gibi makro bileşenleri ile etkileşim halinde bulunmaktadır. Aroma bileşenlerinin büyük çoğunluğu insan duyularını uyarmasına rağmen, bazı aroma bileşenleri duysal değerlendirme esnasında doğru bir şekilde tanımlanamamaktadır. Uçucu bileşenlerle duysal tanımlayıcı veriler arasındaki ilişkiyi ortaya koymada çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemleri etkin bir şekilde kullanılabilir [14].

Duyusal profil veri analizinde karşılaşılan problemlerden biri değerlendirmedeki farklı panelistlerden gelen kişisel farklılıkların ele alınmasıdır. Farklı kişilerin var olması, kalite değerlendirmesi için kullanılan skalaların veya özelliklerin farklı algılanması, belirli bir dereceye kadar kaçınılmaz bir durumdur. Kullanılan her model duysal

tanımlama yaparken, dolaylı ya da doğrudan kişisel farklılıkları göz ardı etme ihtiyacı duymaktadır [15].

Klasik tanımlama yöntemleri gibi duysal değerlendirme yöntemlerinin pek çok çeşidi duysal bilimciler için en basit kullanılabilir yöntemlerdir. Klasik tanımlama yöntemleri çeşitli pazar sorunlarının çözülmesi için yaratıcı bir şekilde uyarlanabilmektedirler. Kantitatif aroma profili, tanımlayıcı analiz yöntemlerinin gelişimine bir örnektir. Bu teknik kültürel sınırları dikkate almayan, farklılıkları azaltan ve panelin kalibrasyonuna izin veren standart bir aroma dili sağlamaktadır. Bu teknikler ayrıca araştırmalara uygun, doğru duysal konuların seçimi ve performans takibi üzerine yoğunlaşmıştır. Deneysel dizaynın gelişimiyle birlikte duysal testler daha etkili ve sistematik olarak uygulanmaya başlanmıştır. Çok değişkenli analizlerin duysal değerlendirmede kullanımının uygun olması analiz geliştirilmesini ve bunun yanında inceleme, korelasyon ve sınıflandırmada kullanılabilirliğini sağlamaktadır. Kemometri uygulanan duysal analizler ile duysal analitik test sonuçları arasında bağlantı kurmaya çalışmaktadır. Bu sadece ürün geliştirmede değil, aynı zamanda kalite güvenliği ve kontrolü için oldukça önemlidir [16].

Duyusal değerlendirmelerde farklı değişkenler arasında ilişki bulunduğunda genellikle bu ilişkiyi tanımlama ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklayan çeşitli istatistiksel metotlar iki gruba ayrılabilir. İlk gruptaki metotlar tüm değişkenlerin bağımsız olduğu veri setlerini (örneğin; tanımlayıcı aroma özelliklerinin bir veri seti gibi) ele almaktadır. İkinci gruptakiler ise bağımlı ve bağımsız değişkenlerin her ikisinin de olduğu veri setlerine (toplam beğeni ve tanımlayıcı özelliklerin değerlendirilmesi gibi) uygulanmaktadır. Her iki gruptaki metotlar birden fazla değişkenle ilgili olduğu için bu metotlar çok değişkenli istatistiksel metotlar olarak sınıflandırılmaktadır [17]. Duyusal değerlendirmelerde kullanılacak çok değişkenli analiz yöntemleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Duyusal değerlendirmelerde kullanılacak çok değişkenli analiz yöntemleri [17]



Çoklu analiz yöntemlerinden en basiti olan korelasyon analizi, iki değişken arasındaki doğrusal ilişkinin önemini ölçmek için kullanılmaktadır. Korelasyon analizi farklı kaynaklardan meydana gelen veriler arasındaki ilişkinin önemini belirlemek için de (tüketici değerlendirmesi ve panelden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi, tanımlayıcı özelliklerin değerlendirilmesi, enstrümantal ölçümler vb.) kullanılmaktadır [17].

Üzerinde çalışılan deneme çok sayıda değişken içerdiğinde, burada çok değişkenli analiz yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır ve buna bağlı olarak bir matris kurulumu ve ön işlem gerekmektedir. Ön işleme, farklı birimler ile farklı değişkenleri ayarlayan bir prosedür olarak tanımlanmaktadır. Sonraki aşama elde edilen verilerle benzer herhangi bir benzerlik bulmayı hedefleyen örüntü tanıma işlemidir. Bu işlem "Temel Bileşen Analizi" ve "Hiyerarşik Kümeleme Analizi" ile birlikte uygulanmaktadır [6].

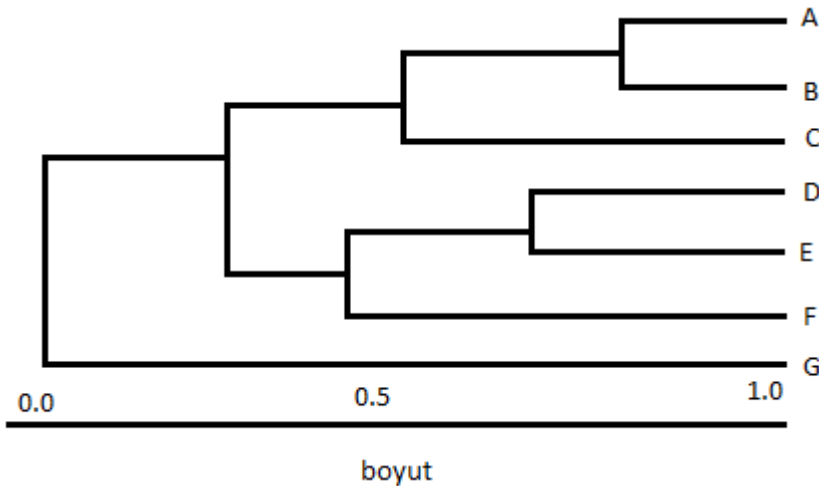
Kümeleme ve sınıflandırma amaçlı metotların tamamı çok değişkenli bir veri analiz yöntemi olan temel bileşen analizine dayalıdır. Temel bileşen analizi; verideki orijinal değişkenleri, onların doğrusal kombinasyonlarından oluşan daha az sayıda bileşenlere indirgemekte ve böylece değişkenler arası korelasyon ortadan kalkmaktadır. Temel bileşen analizine dayalı yöntemler, verideki toplam varyasyonu birkaç temel bileşene ayırarak ifade etmekte ve söz konusu örnekleri çeşitli gruplara kümeleyerek sınıflandırabilmektedir [18,19]. Temel bileşen analizi, bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiyi basitleştirebilen ve bunun yanı sıra örnekler arasındaki ilişkiyi de tanımlayabilen çok değişkenli bir analiz metodudur [20].

Duyusal değerlendirmelerde incelenen özelliklerin bazılarının arasında ilişki bulunabilmektedir. Temel bileşen analizi, bu ilişkileri bularak, ilişki içindeki özellik grubu için yeni bir değişken belirlemektedir. Analiz, bir önceki faktörün neden olduğu varyans uzaklaştırıldığında her basamaktan kalan varyansa göre ikinci ve üçüncü özellik gruplarını bulmaya çalışmakta ve her biri için bir değişken türetmektedir [20]. Farklı bağımlı değişkenler birbirleriyle etkileştiğinde (duyusal tanımlayıcı verilerde genellikle oluşan bir durumdur)

temel bileşenler analizinden oldukça olumlu sonuçlar alınmaktadır [21]. Varyans analizi sonuçlarında genellikle, örnekler arasındaki duyusal tanımlayıcının önemli derecede farklı olduğu bulunmakta ve o ürünlerdeki aynı özelliği farklı tanımlayıcılar tanımlayabilmektedir. Örneğin, panelistler duyusal tanımlayıcı analizlerde, ürünün hem aroma hem de lezzet özelliklerini değerlendirirler. Fakat lezzet ve aroma tanımlayıcılarının bir arada bulunması gereksizdir ve aynı özelliği tanımlamaları da olasıdır. Temel bileşen analizi tekniğinde bu gereğinden fazlalıklar elenerek, veri temel bileşenler olarak adlandırılan yeni bir bileşenler kümesine dönüştürülmektedir. Bu analiz, özelliklerin birbirleriyle ilişkilerinin belirlenip yorumlanması ve örneklerin beraber değerlendirilmesi yönünden oldukça yararlı olmaktadır [20].

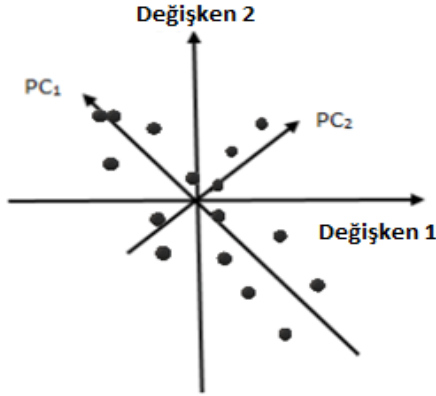
Temel bileşen analizi; incelenen birçok özellik bakımından X değişken kümesinin varyans yapısını, p adet orijinal değişken yerine, k adet değişken ( $k < p$ ) ve bu değişkenlerin doğrusal bileşenleri olan yeni değişkenler ile ifade etmek amacı ile kullanılmaktadır [22]. Bir yoğurt örneğinden elde edilen duyusal değerlendirme sonuçlarına ait toplam varyasyonun açıklanmasında değişkenlerin tamamının irdelenmesi yerine daha az sayıda değişken ile açıklanması bu analiz yöntemine bir örnek olarak gösterilebilmektedir.

Kümeleme analizi; X veri matrisinde yer alan ve doğal gruplamaları kesin olarak bilinmeyen birimleri, değişkenleri ya da her ikisini birden, aralarındaki benzerlik ya da farklılık ölçütlerinden yararlanarak homojen gruplara bölmek amacı ile kullanılmaktadır [22,23]. Bir bölgeden deneysel olarak toplanan peynir örneklerinin o bölgede bulunma miktarlarının alt gruplara ayrılması kümeleme analizine örnek olarak verilebilir. Farklı grupların birleştirilmesi ürünün kabul edilebilirliğinin yanlış yorumlanmasına sebep olabilmektedir. Çünkü kümelerin yanlış tanımlanması istatistiksel olarak çoklu veri setinin ortalamasının hesaplanmasına neden olmaktadır. Böyle bir merkezi gözlem değeri gerçek katılımcı grubunu temsil etmeyebilir ve bu durum tam beğeni ölçümünü yanlış etkileyebilmektedir [17].



Şekil 3. Hiyerarşik kümeleme analizinde dendrogram örneği [24]

Şekil 3'te yer alan dendogramda her bir harf bir örneği temsil etmektedir. Örnek vermek gerekirse A örneği ile B örneği birbirine mesafe olarak en yakın örneklerdir. Dolayısıyla bu iki örnek birbirine özellik bakımından en çok benzeyen örneklerdir. Benzer şekilde D ve E örnekleri de birbirine incelenen özellik bakımından en benzer örneklerdir. Bu örnek dendogramda A-B, D-E, C,F ve G olmak üzere 5 adet küme oluşturulmuştur.



Şekil 4. Temel bileşen analizinde yapılan kümeleme gösterimi örneği [24]

Şekil 4'te gösterilen düzlemde, her bir dizi grafikte bir nokta olarak ifade edilmektedir. Temel bileşen analizi değişkenleri açıklarken iki temel bileşen kullanılmaktadır. Burada ilk temel bileşen grafikte ana noktaları ve varyansın maksimum değerini tanımlarken, ikinci temel bileşen varyansın geri kalan kısmını tanımlamaktadır. Hangi değişkenin daha önemli olduğunu tanımlamak için "yükleme", örnekler arasındaki ilişki araştırılmak istendiğinde ise "skor" grafiği kullanılmaktadır [24].

Regresyon analizi, iki ya da daha fazla değişken arasındaki ilişkiyi ölçmek için kullanılmaktadır. Bu yöntem, bir değişken kullanılarak analiz yapıldığında tek değişkenli regresyon, birden fazla değişken kullanılarak analiz yapıldığında ise çok değişkenli regresyon analizi olarak adlandırılmaktadır. Regresyon analizi kullanılarak değişkenler arasında ilişki olup olmadığı, eğer ilişki bulunursa bunun gücü hakkında bilgi edinilebilir [17].

Diskriminant analizi bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenleri etkilemelerine göre ya aynı ya da farklı gruplara göre sınıflandırılmasını sağlar. Bir veri setindeki verinin hangi değişken grubuna girdiğini belirlemekte ve değişkenleri kendi özelliklerine göre birbirinden ayırmaktadır. Dolayısıyla yapılan araştırma sonucunda sistemli bilgileri ortaya koyabilmek mümkün olmaktadır. Özellikle tüketici tercihlerinin belirlenmesi ve tüketici hareketlerinin anlamlandırılmasını sağlaması sebebiyle, yaygın olarak kullanılan bir analiz çeşididir [17].

Bahsi geçen çok değişkenli analiz yöntemlerinin dışında Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi (Multidimensional Scaling, MDS) adı verilen ve kişisel tercihler, tutum, eğilim ve beklentiler gibi davranışsal verilerin analizi için geliştirilmiş çok değişkenli bir istatistiksel analiz yöntemi bulunmaktadır. Çok boyutlu ölçekleme işlemi, en basit

tanımıyla, ürünler arasındaki algılanan farkları girdi olarak alıp, bu fark bilgisini çeşitli boyutlarda (ürün sayısından küçük olacak şekilde) haritalama işlemidir [25]. Bu yöntem, tüketicilerin çeşitli markaları ya da ürünleri nasıl gördüklerini iki-boyutlu düzleme yansıtmak için kullanılmaktadır.

## SÜT ve SÜT ÜRÜNLERİNİN DUYUSAL DEĞERLENDİRİLMESİNDE KEMOMETRİK YÖNTEMLERİN KULLANILMASINA İLİŞKİN YAPILAN ÇALIŞMALAR

Yoğurta aroma algısının duyu olarak araştırılmasına yönelik yapılan bir çalışmada [26], bir starter kültür firmasından farklı özelliklere sahip bakteri suşları içeren yoğurt starter kültürleri ile 14 adet yoğurt üretilmiş ve kullanılan starter kültürlerin yoğurtların aromasına ve uçucu bileşenlerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışmada üretilen yoğurtlarda duyu değerlendirmesi yapılmış ve elde edilen sonuçlar temel bileşen analizi yöntemiyle yorumlanmıştır.

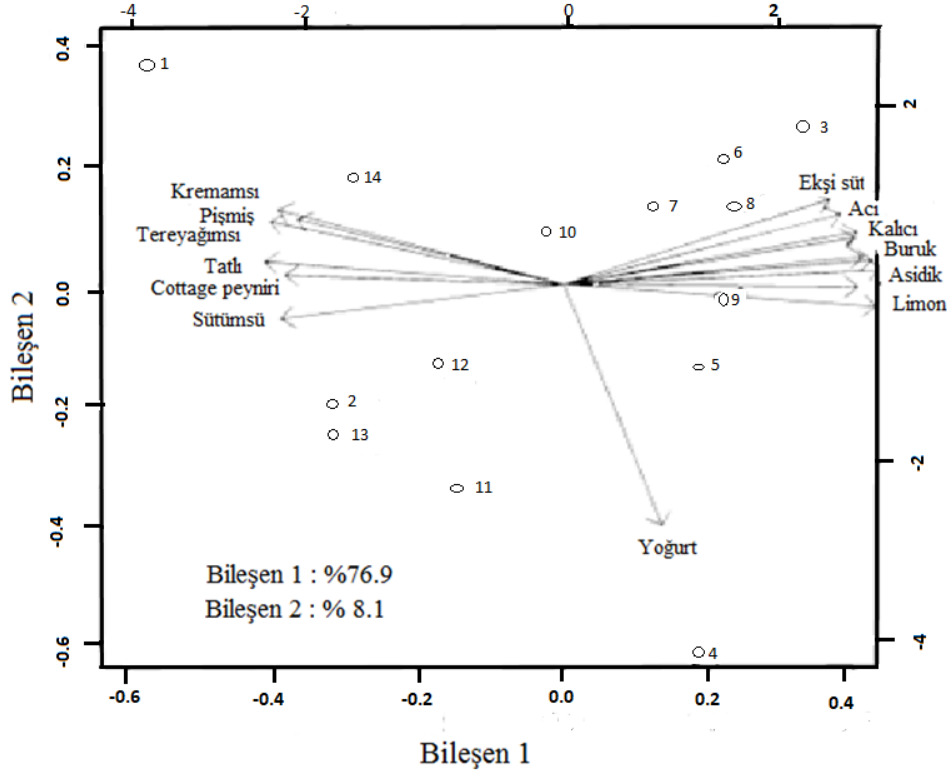
Şekil 5'te verilen analiz sonuçlarını gösteren grafiğe göre ilk temel bileşen varyasyonun %77'sini ve ikinci temel bileşen varyasyonun %8.1'ini açıklamaktadır. Sağ tarafta görülen örnekler, acı, asidik ve buruk özellikleri tanımlamakta ve tadım sonrası ağızda acı, buruk, ekşi ve limon tadı bırakmışlardır. Sol tarafta toplanmış olan örnekler ise tatlı, kremamsı, tereyağlımsı, pişmiş ve Cottage peyniri aromalarını yüksek oranda içeren örnekler olarak puanlanmış ve tadım sonrası ağızda süt tadı bıraktığı şeklinde belirtilmişlerdir. Elde edilen duyu verilerinin hepsinin bir arada görülebilmesi için önemli farklılık özelliklerinin temel bileşen analizi oluşturulmuştur. Örnekler arasında sadece biri (4 numaralı örnek) yüksek yoğurt aroması içermesiyle dikkat çekmektedir.

Limon aromalı süt tatlılarının yağ içeriği ile ilave edilen kıvam arttırıcı tipi ve miktarının tatlıların renk, reoloji, *in vivo* aroma çıkışı ve duyu karakteristiklerini nasıl etkilediğinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada [27], 8 adet farklı içeriğe sahip tatlı üretilmiş ve üretilen bu tatlılarda renk analizi, reolojik ölçümler, *in vivo* aroma çıkışı ve duyu analizleri yapılmış, elde edilen sonuçlar temel bileşen analizinde yorumlanmıştır. Tatlılar karboksimetil selüloz ve nişastanın farklı oranları, tam yağlı süt ve yağsız süt ile üretilmiştir.

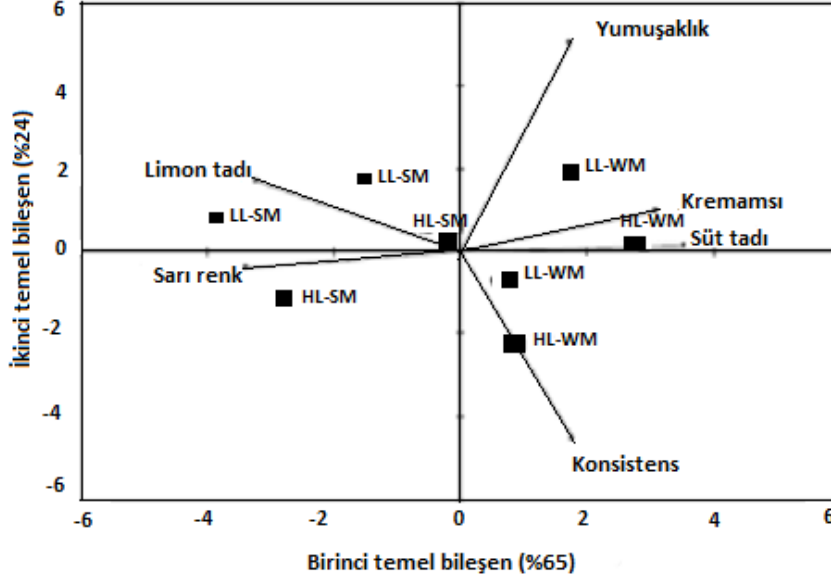
Şekil 6'da görüldüğü gibi temel bileşen analizi grafiğinde birinci temel bileşen varyansın %65'ini, ikinci temel bileşen ise varyansın %24'ünü ifade ettiği görülmektedir. Birinci temel bileşen renk aroma ve kremamsı özellikler ile ilişkili olup yağ içeriği farklı olan örneklerden net bir şekilde ayrılmıştır. Tam yağlı örnekler birinci bileşenin yoğun süt aroması ve kremamsı özellikleri gösteren pozitif tarafında toplanırken, yağsız örnekler limon aroması ve limon renginin yoğun algılandığı kısım olan negatif kısımda toplanmıştır. İkinci temel bileşen ise tekstürel özellikleri ile pozitif bir korelasyon içerisindedir. Bu bileşen örnekleri içerdiği kıvam arttırıcı tipine göre ayırmıştır. Karboksimetil selüloz içeren örnekler ikinci temel bileşenin en iyi konsistens özelliği gösteren kısım olan sağ altta toplanmıştır (%1.3 oranında karboksimetil

selüloz içeren yağsız süttten elde edilen örnek hariç). Nişasta ilave edilmiş olan örnekler bileşenin en iyi

yumuşaklık özelliği gösteren kısmı olan sağ üst bölgede toplanmıştır.



Şekil 5. Yoğurt örneklerinin duyu özelliklerinin temel bileşen analizi sonuçları [26]



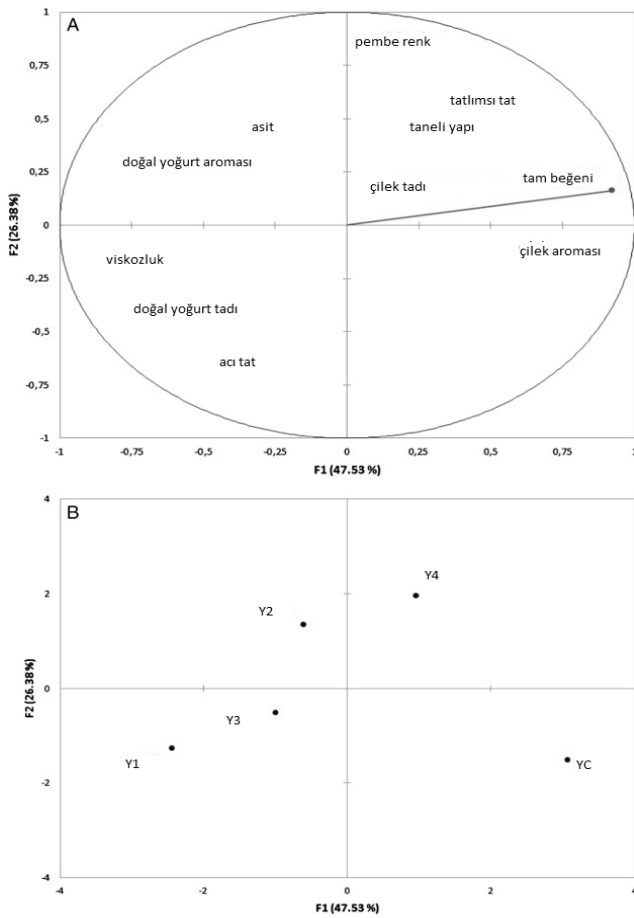
Şekil 6. Örneklerin duyu değerlendirme sonuçlarına ait temel bileşen analizi. WM; yağlı süt, SM; yağsız süt, LL; düşük miktar, HL; yüksek miktar. (daireler karboksimetil selülozu, kareler nişasta ile üretilen örnekleri ifade etmektedir) [27]

Bitkisel yağ emülsifiyeri ve meyve kabuğu tozu ilavesinin fonksiyonel yoğurdun duyu kabul edilebilirliğine etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, 5 farklı içeriğe sahip yoğurt üretilmiştir. Örneklerden Y1; bitkisel yağ emülsifiyeri ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 42°C'de fermente edileni, Y2; süt yağı ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 42°C'de fermente edileni, Y3; bitkisel yağ

emülsifiyeri ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 37°C'de fermente edileni, Y4; süt yağı ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 37°C'de fermente edileni ve YC (kontrol örneği); süt yağı ilaveli ve 42°C'de fermente edileni ifade etmektedir. Kontrol örneği haricinde örneklerin hepsinde *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Bifidobacterium lactis* türlerinin

karışımından oluşan starter kültür kullanılmıştır. Örneklere sertlik, duyuşal değerlendirme ve genel kabul edilebilirlik testleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar temel bileşen analizi ve hiyerarşik kümeleme analizi ile yorumlanmıştır [28].

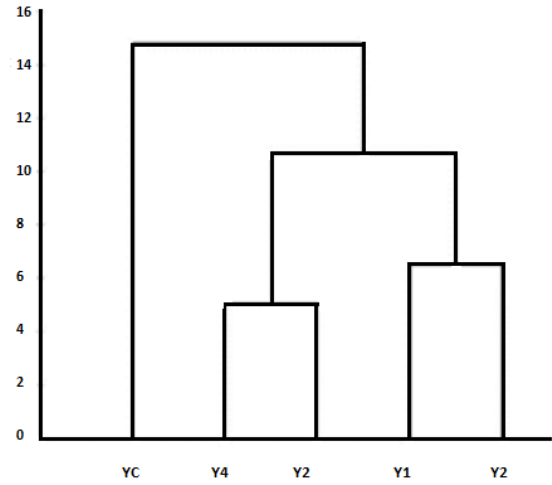
Şekil 7’ de görülen temel bileşen analiz grafiğine bakıldığında, birinci temel bileşen varyansın %47.53’ünü, ikinci temel bileşen ise %26.38’ini ifade etmektedir. Tam beğeni puanı çilek aroması, çilek tadı, taneli yapı ve tatlılık özellikleri gibi tüketicinin kararını direkt olarak etkileyen özellikler ile pozitif korelasyon içerisindedir. Y4 ve YC örnekleri tüketicilerden en çok beğeniyi alan örneklerdir. Ayrıca temel bileşen 1 yoğurtta duyuşal belirleyici özellikler olan viskozluk, doğal yoğurt tadı, acı tat, doğal yoğurt aroması ve asitlik ile negatif bir korelasyon içerisindedir.



Şekil 7. Örneklerin temel bileşen analiz sonuçları. A- örnekleri tanımlamak için kullanılan terimler, B- yoğurt örneklerinin dağılımı [28]

Şekil 8’de verilen hiyerarşik kümeleme analizine göre yoğurt örnekleri 3 kategoride toplanmıştır. 1 grup kontrol örneği olup, YC olarak adlandırılmıştır. 2. grup Y4 (süt yağı ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 37°C’ de fermente edilen) ve Y2 (süt yağı ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 42°C’de fermente edilen), 3. grup Y1 (bitkisel yağ emülsifiyeri ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 42°C’de fermente edilen) ve Y3 ( bitkisel yağ emülsifiyeri ve meyve kabuğu tozu ilaveli olup 37°C’de fermente edilen) örneklerini içermektedir. Sonuçlar bitkisel yağ

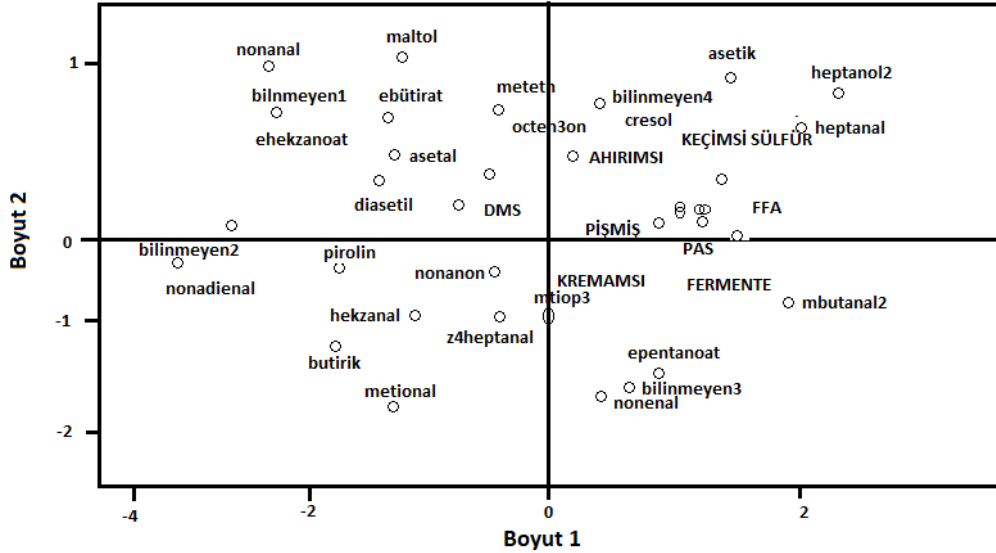
emülsifiyeri ilavesinin yoğurt üretiminde esas parametrelerin kullanımını etkilemediğini göstermektedir.



Şekil 8. Örneklerin hiyerarşik kümeleme analizi dendrogramı [28]

Ezine peynirinin aroma profili karakterizasyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada [29], bir yıllık depolama sonucu Ezine peynirinin aroma-aktif bileşenlerinde ve duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişim belirlenmiş, enstrümental ve duyuşal analizler sonucu elde edilen bulgular arasındaki ilişki gösterilmiştir. Peynir örneklerindeki aroma-aktif bileşenler Termal Desorpsiyon Gaz Kromatografisi Olfaktometri sistemi (TD-GCO) kullanılarak saptanmıştır. Enstrümental ve duyuşal yöntemlerle elde edilen 2 veri grubunun geometrik dağılımını göstermek ve söz konusu özellikler arasındaki ilişkileri ortaya koymak amacıyla Çok Boyutlu Ölçeklendirme tekniğinden (MDS) yararlanılmıştır (Şekil 9). Olfaktometrik yöntemle elde edilen aroma maddeleri ile duyuşal panel üyeleri tarafından belirlenen terimlerin geometrik olarak birbirine yakın olmaları aralarında ilişki olduğunu göstermiştir.

Şekil 9’da verilen GCO analizi sonucu belirlenen ve ahırımı aromaya sahip p-cresol ile duyuşal analizler sonucu belirlenen keçimsi ve hayvansı terimlerinin aynı bölgede yer aldıkları ve konum olarak birbirlerine yakın oldukları görülmektedir. Bu durum söz konusu özellikler arasında önemli düzeyde bir benzerlik ya da ilişkinin olabileceğinin bir göstergesidir. Duyuşal analiz sonuçlarına göre bu peynirin karakteristik aromaları içinde ‘inek kokusu/fenolik’de tarif edilmiştir. Bu aromaya neden olan kimyasal bileşenleri belirlemek amacıyla sırasıyla GCO ve GC/MS analizleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ‘inek kokusu/fenolik’ aromaya p-cresol’ ün neden olduğu bulunmuştur. Aynı bölgede yer almamakla birlikte sülfür bileşiklerinden metanetiylol ve dimetil sülfid ile duyuşal terimlerden pişmiş ve sülfür terimleri yakın geometrik dağılım göstermiştir. Sülfür bileşikleri olan metanetiylol ve dimetil sülfid grafiğin sol üst kısmında yer almıştır. Aynı bölgede yer alan maltol, etilbütirat, etil hekzanoat, asetaldehit ve diasetil de aroma yoğunlukları bakımından benzerlik göstermektedir. Grafiğin sol alt kısmında ise 2-nonanon, hekzanal, 3-metiltiyopen, Z-4 heptanal değerleri arasında da benzerlik olduğu belirlenmiştir.



Şekil 9. Depolamanın 9. ve 12. ayındaki Ezine peynirlerinde olfaktometrik ve duyuşsal yöntemlerle belirlenen aromatiklerin geometrik dağılımı [29]

## SONUÇ

Süt ve ürünlerinin duyuşsal değerlendirilmesinde kullanılan analizlerden elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesi amacıyla kullanılan klasik yöntemler her değişkene göre önemli bilgiler vermekle birlikte bu analizler farklı değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklamakta yeterli olmamakta ve benzer özellik gösteren örneklerin gruplandırılmasına olanak vermemektedir. Dolayısıyla bazı bulguları değerlendirirken eğilimi mümkün olduğu kadar az sayıda ölçütle değerlendirmek daha faydalı olmaktadır. Çok değişkenli istatistiksel yöntemler her bir özellik bakımından ayrıntılı sonuçlar verememektedir fakat değişkenler arası bağımlılık yapısını yok ederek boyut indirgediğinden, süt ürünlerinin duyuşsal özelliklerinin subjektif değerlendirilmesinde faydalı olabilecek bir istatistiksel yöntem olarak kullanılabilir. Ancak temel bileşenler analizinde veri sayısı sınırlayıcı bir faktör olabilmektedir. Diğer istatistiksel yöntemlerle bilgi sağlanamadığında, temel bileşenler analizi ve hiyerarşik kümeleme analizi gibi çok değişkenli analizler genel bir yargı elde etmek amacıyla kullanılacak etkili yöntemlerdir.

## KAYNAKLAR

- [1] Onoğur Altuğ, T., Elmacı, Y. (2011). Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Sidas Medya, İzmir.
- [2] Hibbert, D.B. (2009). Chemometric Analysis of Sensory Data, In: Comprehensive Chemometrics. Edited by, Brown, S. D, Tauler, R., Walczak, B., Elsevier B.V.,U.K. 634 p.
- [3] Sangün, L. (2007). Temel Bileşenler Analizi, Ayırma Analizi, Kümeleme Analizleri ve Ekolojik Verilere Uygulanması Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Adana.
- [4] Çankaya, S. (2005). Kanonik Korelasyon Analizi Ve Hayvancılıkta Kullanımı. Doktora

- Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootehni Anabilim Dalı, Adana.
- [5] Dinç, E. (2007). Kemometri çok değişkenli kalibrasyon yöntemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27(1),61-92.
- [6] Santos, H. T. L, Oliveira, A.M., Melo, P.G., Freitas, W., Freitas, A.P. (2012). Chemometrics: Theory and Application, In: Multivariate Analysis in Management, Engineering and the Science, Edited by, Freitas L, InTech Press, UK, 264 p.
- [7] Akpolat, O., Odabaş Çağlar, S., Özevci, G., İpteş, N. (2013). Kümeleme Tekniklerinin Temel Bilimlerde Kullanımı. Akademik Bilişim Konferansı, Türkiye, Bildiri Kitabı, s 551-555, Antalya.
- [8] Gemperline, P. (2006). Practical Guide to Chemometrics. CRC Press, New York.521 p.
- [9] Brereton, R.G. (2003). Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant, John Wiley & Sons Ltd UK, 479p.
- [10] Forina, M., Casale, M., Oliveri, P. (2009). Application of Chemometrics to Food Chemistry, In: Comprehensive Chemometrics. Edited by, Brown, S.D., Tauler, R., Walczak, B., Elsevier B.V.,U.K. 634 p.
- [11] Souza, S.S., Cruz ,A.G., Walter ,E.H.M, Faria ,J.A.F., Celeghini, R.M.S., Ferreira, M.M.C., Granato, D., S. Sant'Ana, A. (2011). Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. *Food Chemistry*, 124, 692-695
- [12] Aydoğdu, S. (2007). Gıdalar İçindeki Maltol, Etil Maltol, Vanilin Ve Etil Vanilinin Yapay Sınır Ağları Yöntemi İle Kalibrasyonu Ve Simultane Spektrofotometrik Analizleri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Isparta.
- [13] Arvanitoyannis, S.I., Tzouros, N.E. (2007). Implementation of quality control methods in conjunction with chemometrics toward

- authentication of dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45 (4), 231-249.
- [14] Chung, S., Heymann, H., Grőn, I.U. (2002). Application of GPA and PLSR in correlating sensory and chemical data sets. *Food Quality and Preference*, 14, 485-495.
- [15] Bro, R., Qannari, M.E., Kiers, H.A.L., Næs, T., Frøst, M.B. (2007). Multi-way models for sensory profiling data. *Journal of Chemometrics*, 22(1), 36-45.
- [16] Koeferli, C.S., Schwegler, P.P., Hong- Chen, D. (1998). Application of classical and novel sensory techniques in product optimization. *LWT - Food Science and Technology*, 31(5), 407-417.
- [17] Meilgaard, M., Civile, G.V., Carr, B.T. (1991). Sensory Evaluation Techniques. CRC Press, USA, 348 p.
- [18] Destefanis, G., Barge, M.T., Brugiapaglia, A., Tassone S. (2000). The use of principal component analysis (PCA) to characterize beef. *Meat Science*, 56, 255- 259.
- [19] Dıraman, H. , Özdemir, D., Gőndőz, H.H., Demirci, M. (2009). Trakya bōlgesinde ũretilen eşitli sőt ũrőnlerinin nitrat ve nitrit dőzeylerine gōre kemometrik yōntemlerle sınıflandırılması. *Gıda*, 34(6), 387-394.
- [20] Lawless, H.T., Heymann, H. (1998). Sensory Evaluation of Food, Principles and Practices, Springer New York, 596 p.
- [21] Işıık, ũ. (2006). Vanilyalı Yoğurt Dondurmaya İnőlin ve İzomalt İlaveseinin Reolojik ve Duyusal Özelliklere Etkisi. Yőksek Lisans Tezi. İstanbול ũniversitesi, Fen Bilimleri Enstitőső, Gıda Mőhendisliđi Anabilim Dalı, İstanbול.
- [22] Őzdamar, K. (2004). Paket Programlar ile İstatiksel Veri Analizi (ok Değişkenli Analizler). Kaan Kitabevi, EskiŐehir, 502 s.
- [23] Tatlıdil, H. (1996). Uygulamalı ok Değişkenli İstatiksel Analiz, Akademi-Mat Yayınları, Ankara.
- [24] Santos, H.T.L, Oliveira, A.M., Melo, P.G., Freitas, W., Freitas, A.P. (2012). Chemometrics: Theory and Application, In: Multivariate Analysis in Management, Engineering and the Sciences, Edited by, Freitas L, InTech Press, UK, 264 p.
- [25] Akkőők, U. (2009). Bir ok boyutlu Őlekleme tekniği olarak torgersen Őlekleme yōntemi ve temel bileşenler analizi ile karŐılaŐtırması. *Dumlupınar ũniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 25, 311-322.
- [26] Ott, A., Hugi, A., Baumgartner M., Chaintreau A. (2000). Sensory investigation of yogurt flavor perception: mutual influence of volatiles and acidity. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 48(2), 441-450.
- [27] Arancibia, C., Castro, C., Jublot, L., Costell, E., Bayarri, S. (2015). Colour, rheology, flavour release and sensory perception of dairy desserts. Influence of thickener and fat content. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 408-416.
- [28] Perina, N.P., Granatob, D., Hirota, C., Cruz, A.G., Bogdan, C.S.B., Oliveira, M.N. (2015). Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yoğurt. *Food Research International*, 70, 134-141.
- [29] Yőceer Karagől Y., İŐleten, M., MendeŐ, M. (2008). Ezine peyniri I. Aroma karakterizasyonu. *Gıda*, 34(6), 373-380.

## İndüksiyon ve Ohmik Isıtma İşlemlerinin Gıdalara Uygulanabilirliğinin Karşılaştırılması

Orhan Kaya<sup>1</sup> , Filiz İçier<sup>2</sup> <sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bornova, İzmir<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 12.12.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 14.08.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [orhankayaege@gmail.com](mailto:orhankayaege@gmail.com) (O. Kaya)

☎ 0 232 311 30 21 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Geleneksel ısıtma yöntemlerinin enerji verimliliklerinin düşük olması ve gıdanın kalite özelliklerindeki bazı istenmeyen değişimlere sebep olmaları nedeniyle güncel ısıtma teknolojileri ile ilgili arayışlar son yıllarda giderek artmıştır. Tüketicilerinin minimal işlem gören ve yüksek kalitede ürün talebini karşılayan ve yüksek enerji verimliliğine sahip üretime olanak tanıyan güncel yöntemler, geleneksel yöntemlere alternatif olabilmektedir. Bu derleme çalışmasında güncel elektriksel ısıtma yöntemlerinden olan indüksiyon ısıtma ve ohmik ısıtma işlemleri tanıtılarak, uygulama alanları ve çalışma prensipleri arasındaki farklılıklar tartışılmıştır. Her iki ısıtma yöntemi için tasarlanan sürekli sistem boru hattı ve pişirme uygulamaları konusunda yapılan çalışmalar incelenmiştir. Benzer amaçlarla oluşturulan gıda işleme sistemleri baz alınarak, iki farklı ısıtma yönteminin gıdalara uygulanabilirliği karşılaştırılmış ve potansiyel uygulama alanları konusunda öneriler oluşturulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Elektriksel, İşleme, Pişirme, Gıda

### Comparison of the Applicability of Induction and Ohmic Heating Processes to Foods

#### ABSTRACT

Interest on novel thermal technologies has been steadily increased in recent years because of the some undesirable changes in the quality characteristics of foods and the low energy efficiency during conventional heating. Novel methods that meet customer expectations for minimally processed and high-quality products and enable high energy efficiency production can be alternative to conventional methods. In this review, induction heating and ohmic heating processes, which are novel electrical heating methods, are explained, and working principles and the differences between their application areas are discussed. The studies on the continuous system pipe line and cooking applications designed for both heating methods are presented. Based on the food processing systems established for similar purposes, the applicability of both heating methods to foods is compared, and their potential application areas are suggested.

**Keywords:** Electrical, Processing, Cooking, Food

#### GİRİŞ

Gıda üretiminde güvenilirliğin sağlanması ve kalitenin korunması ana hedeftir. Gıdalara uygulanan ısıl

işlemlerde hedeflenen mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonunun sağlanması, diğer yandan besin içeriğinin korunması ve işlemin düşük enerji tüketimiyle gerçekleştirilmesi istenmektedir. Gıdalara

uygulanan pastörizasyon, sterilizasyon, kurutma ve evaporasyon gibi ısısal işlemler gıda güvenliğini sağlamak amacıyla uygulanan işlemlerdir. Geleneksel ısıtma yöntemlerinde ürünün istenilen sıcaklığa ulaşmasını sağlayacak olan enerji ürüne genellikle iletim ve taşınım mekanizmalarıyla aktarılmaktadır. Ancak bu yöntemlerde ekipmanlarının yüzeylerinde oluşan ısı kayıpları, ısı transfer verimliliğinin düşük olması ve ürünün merkez noktasının belirlenen sıcaklığa gelmesi için gereken süre içerisinde ısısal zarar meydana gelmesi gibi durumlar oluşmaktadır [1].

Tüketicilerin yüksek kalitede ürün talebi, ekolojik endişeler ve geleneksel ısıtma yöntemlerinin verimliliğinin düşük olması sebebiyle gıdaların işlenmesinde yeni teknolojilerin uygulanmasına yönelik arayışlar ortaya çıkmaktadır [1]. Yeni teknolojilerin tüketicilere güvenli, sağlıklı ve minimal işlem görmüş gıda ürünlerini sunması hedef olarak alınmaktadır [2]. Gıdaların içerisinde bulunan karotenoidler, antioksidanlar, fenolik bileşikler ve vitaminler vb. bileşenlerin insan sağlığı üzerine önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir. Hedef mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlamak amacıyla uygulanan ısısal işlemlerin, bu bileşenlerin de en az düzeyde zarar görmesini hedefleyen yeni teknolojilerle uygulanması üzerine olan ilgi artmaktadır [3]. Yenilikçi teknolojilerin ayrıca sürdürülebilir gıda üretiminde enerji tüketimini ve su tüketimini düşüren çevreci yöntemler olma gibi üstünlüklerinin olması da amaçlanmaktadır [2].

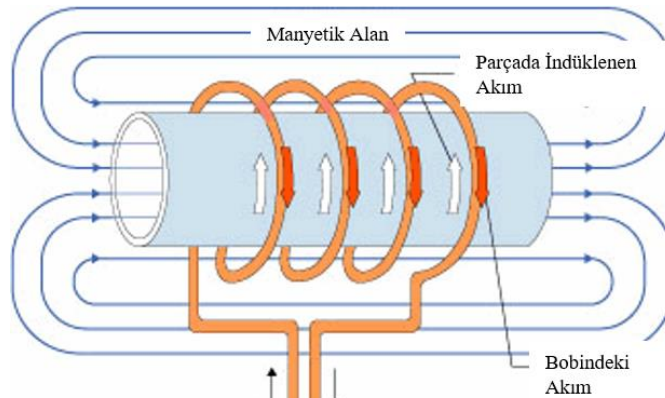
Tüketicilerin yüksek kalitede ürün talebini karşılayan ve aynı zamanda geleneksel ısıtma yöntemlerine göre yüksek enerji verimliliğine sahip olan ohmik ısıtma, kızılötesi ısıtma, mikrodalga ısıtma gibi ısısal işlemler ile vurgulu elektrik alan, yüksek hidrostatik basınç gibi ısısal olmayan işlemler geleneksel işleme yöntemlerine

alternatif oluşturmaktadır [4-11]. İndüksiyon ısıtma teknolojisinin de hızlı ısıtma sağlaması, yüksek enerji verimliliğine sahip olması ve ısıtılacak ürünle ısıtıcı arasında temas zorunluluğunun bulunmaması sebebiyle geleneksel ısıtma yöntemlerine alternatif bir ısıtma yöntemi olduğu düşünülmektedir.

Bu derleme çalışmasının amacı; güncel elektriksel ısıtma yöntemlerinden olan indüksiyon ısıtma ve ohmik ısıtma işlemlerinin benzerlikleri ve farklılıklarını ortaya koymak, benzer işleme amaçları üzerinden gıdalara uygulanabilirlik potansiyellerini tartışmaktır.

## İNDÜKSİYON ISITMA

İndüksiyon ısıtma, ferromanyetik malzemelerin belirtilen sıcaklık ve sürelerde ısıtılması sağlayan temassız bir ısıtma yöntemidir [12]. İndüksiyon ısıtmada ferromanyetik malzeme, manyetik alan sonucu malzemede oluşan "eddy" akımları ve "histeresis" kayıplarından dolayı ısınmaktadır. İndüksiyon ısıtma işleminde, indüksiyon bobininden alternatif akım geçirilerek indüksiyon bobinin etrafında bir manyetik alan oluşturulur. Bu manyetik alan içerisine ferromanyetik malzeme yerleştirildiğinde, malzemenin içerisinde bir gerilim indüklenir ve bu gerilim sonucunda "eddy" akımları oluşur. Ferromanyetik malzemenin, oluşan bu "eddy" akımlarına göstermiş olduğu direnç sonucunda ısınma gerçekleşmektedir (Şekil 1) [13, 14]. "Histeresis" kayıpları ise frekans etkisiyle birlikte malzemenin içindeki moleküllerin yön değiştirmesi ve sürtünmesine bağlı olarak ısı oluşumu meydana getirilmesidir. Ancak "eddy" akımlarının oluşturmuş olduğu etkiyle kıyaslandığında "histeresis" kayıpları sayesinde oluşan ısı çok daha az olduğu için genellikle ihmal edilir [12].



Şekil 1. İndüksiyon ısıtma işleminin şematik gösterimi [14]

Malzeme içerisinde oluşan "eddy" akımlarının yoğunluğu ve malzemedeki konumu işlem sırasında uygulanan frekansa bağlılık göstermektedir. Bu durum indüksiyon ısıtmada **akım nüfuz derinliği** olarak tanımlanmaktadır ve malzeme üzerinde meydana gelen "eddy" akımlarının, malzeme yüzeyinden itibaren erişebileceği derinlik olarak ifade edilmektedir [12]. İndüksiyon ısıtmada deri etkisi göz önüne alınarak farklı uygulama alanları geliştirilmiştir. Yüksek frekans değerlerinde "eddy" akımlarının yoğunluğu malzemenin üzerinde

yoğunlaşırken düşük frekans değerlerinde "eddy" akımlarının malzemedeki penetrasyonu daha fazla olmaktadır. Metal işlemede kullanılan yüzey sertleştirme işlemleri, kaynak işlemleri gibi sıcaklığın yüzeyde daha fazla olması istenen durumlarda yüksek frekans değerlerinde çalışmalar gerçekleştirilirken, metal malzemenin eritilmesi istenildiğinde işlem düşük frekanslarda gerçekleştirilebilmektedir. Günümüzde indüksiyon ısıtma işlem sırasında uygulanan çalışma frekansı bakımından; 1 kHz'in altında olanları düşük



frekanslı, 1 kHz ile 100 kHz arasında olanları orta frekanslı, 100 kHz'in üstünde olanları yüksek frekanslı indüksiyon ısıtma sistemleri olarak üç gruba ayrılmaktadır [15]. "Eddy" akımlarının malzemeye nüfuz edebileceği derinlik, kullanılan malzemenin manyetik geçirgenliğine ve malzemenin öz direncine de bağlıdır. Akım nüfuz derinliği malzemenin özgül direnci ile doğru orantılı, malzemenin manyetik geçirgenliği ile ters orantılıdır [12].

İndüksiyon ısıtmanın endüstriyel uygulamaları 20. yüzyılda başlamış olup ikinci dünya savaşı sırasında ve sonrasında otomotiv ve uçak endüstrilerinde kullanılmaya başlamıştır. Günümüzde indüksiyon ısıtma ön ve son ısıtma uygulamalarında, metal eritme, yüzey işleme, tavlama ve kaynaklama gibi birçok alanda kullanılmaktadır. İndüksiyon ısıtma, işlem hızını ve verimliliğini arttırmaktadır. Ayrıca aynı sistemde işleminin tekrar uygulanabilirliğini sağlasından dolayı endüstriyel işlemlerde otomasyonun oluşturulmasına olanak sağlamaktadır [16].

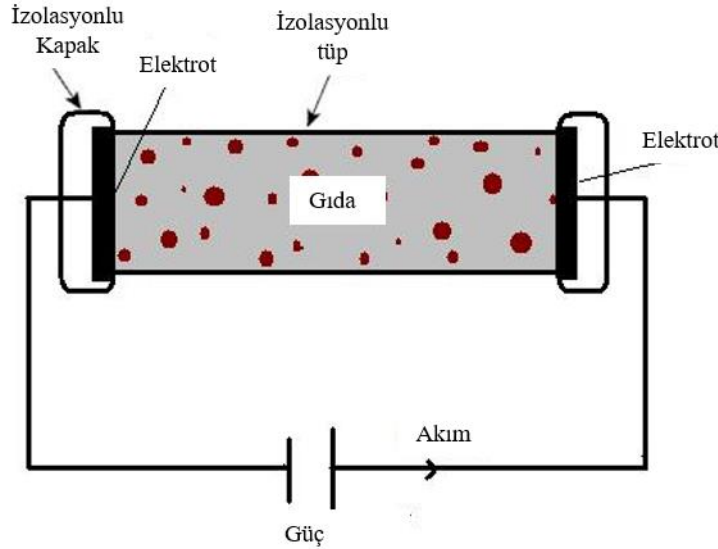
İndüksiyon ısıtmanın metal endüstrisi haricinde kullanıldığı en yaygın alan mutfak endüstrisidir. İndüksiyon ısıtma prensibiyle çalışan indüksiyon ocaklarında yemeği pişirmek için gerekli olan enerji direkt olarak pişirme kabının içerisinde oluşmaktadır, böylelikle hem enerji tasarrufu sağlanmaktadır, hem de pişirme süresi kısalmaktadır [17, 18]. Günümüzde indüksiyon ısıtma teknolojisinin kullanıldığı diğer bir alan ise tıp uygulamalarıdır. İndüksiyon ısıtma birçok cerrahi ekipmanların üretilmesinde ve sterilizasyonunda

kullanılmakta olup günümüzde bazı kanser tedavilerinde de kullanılmaya başlanmıştır [16, 19].

İndüksiyon ısıtmanın avantajları olarak; malzemenin bölgesel ısınmasının ve hedeflenen sıcaklığa hızlı ulaşmasının sağlanması, yüksek enerji verimliliğine sahip olması, otomasyon ve kontrol kolaylığı sağlanması gösterilmektedir. Ayrıca ısıtma işlemi sırasında yanıcı ve patlayıcı bir madde kullanılmaması, atık ısıtma suyu oluşturulmaması ve ısıtma işlemi sırasında fosil yakıtlarının kullanılmaması sayesinde güvenli ve çevreci bir ısıtma sağlar [16, 20].

## OHMİK ISITMA

Joule yasasına göre bir direnç üzerinden geçen elektrik akımı direncin içerisinde ısı oluşumuna neden olmaktadır. Ohmik ısıtma işleminde gıda direnç görevini görmekte, gıda maddesinden alternatif akım geçirilmekte ve elektrik enerjisi ısı enerjisine dönüştürmektedir (Şekil 2) [21, 22]. Ohmik ısıtma hızlı ve homojen ısıtma sağlanması, daha iyi ürün kalitesi sağlanması, ısıtma süresini kısaltması, düşük sermaye maliyeti gerektirmesi, enerji verimliliğinin yüksek olması ve çevreci bir ısıtma işlemi olması gibi birçok avantaja sahiptir [23]. Ohmik ısıtmanın karışım gıdalara da uygulanması mümkündür. Partikül içeren sıvı ürünlerde, partikül ve sıvı kısımlarının elektriksel iletkenlik değerleri ayarlanabildiğinde, katı partikülün sıvıya göre daha hızlı ısıtılabilmesi de sağlanabilmektedir [21].



Şekil 2. Ohmik ısıtma işleminin şematik gösterimi [21]

Ohmik ısıtma işleminde oluşan ısı jenerasyonu, işlem sırasında uygulanan voltaj gradyanına ve kullanılan gıdanın elektriksel iletkenliğine bağlıdır [24]. Ohmik ısıtma işleminde voltaj gradyanının artmasıyla birlikte örneğin istenilen sıcaklığa gelme süresi azalmaktadır [25]. Yüksek elektriksel iletkenlik değerine sahip gıdalar daha hızlı ısınmaktadır. Gıdaların elektriksel iletkenlik değerleri gıdanın bileşimi ve fiziksel yapısıyla farklılık göstermektedir. İyonik çözeltilerde sıcaklık ve iyon konsantrasyonu arttıkça elektriksel iletkenlik değeri

artmakta ve böylelikle ısınma için gereken süre kısalmaktadır. Katı-sıvı karışımlarında ise parçacık boyutunun artması veya azalması ile birlikte efektif elektriksel iletkenlik değeri değiştirilebilmektedir [21].

Ohmik ısıtma konusunda yapılan çalışmalar ilk olarak 19. Yüzyıl ve 20. Yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Ancak o yıllarda ohmik ısıtma işleminin yüksek maliyetli olması, teknolojik yetersizlikler ve kullanılan elektrotların hızlı korozyona uğraması vb. sebepler nedeniyle bu

ısıtma yönteminden vazgeçilmek zorunda kalmıştır [26]. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte 1990'lu yılların başlarından itibaren ohmik ısıtmayla ilgili çalışmalar tekrar hız kazanmıştır ve hala günümüzde ohmik ısıtma işlemiyle ilgili çalışmalar güncelliğini koruyarak devam etmektedir. Günümüzde ohmik ısıtma işlemi İtalya, Yunanistan, Fransa, Meksika, Japonya ve ABD'de bulunan bazı işletmeler endüstriyel olarak sıvı ve parçacıklı gıdaların işlenmesinde kullanılmaktadır [23].

Ohmik ısıtma işlemi günümüzde ön ısıtma, pastörizasyon, sterilizasyon, çözündürme, pişirme, haşlama, ekstraksiyon gibi birçok amaçla uygulama yeri bulunmaktadır [21]. US-FDA, ohmik ısıtma işleminin haşlama, evaporasyon, dehidrasyon, fermentasyon ve ekstraksiyon işlemlerinde alternatif yöntem olarak potansiyel kullanımı hakkında bir rapor hazırlamıştır [27].

### İNDÜKSİYON ISITMA ve OHMİK ISITMA İŞLEMLERİNİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

İki ısıtma yönteminin çalışma prensipleri arasında benzerlik olmasına karşın, temel bazı özelliklerinde farklılıklar gözlenmektedir. Şu şekilde özetlenebilir;

- Her iki ısıtma işleminde de elektrik enerjisi ısı enerjisine dönüşmektedir.
- Malzeme indüksiyon ısıtma işleminde manyetik alan sonucu oluşan "eddy" akımlara göstermiş olduğu direnç sayesinde ısınırken, ohmik ısıtma işleminde malzemenin içerisinden direkt olarak geçen elektrik akıma göstermiş olduğu direnç sayesinde ısınmaktadır.
- Ohmik ısıtma işleminde elektrotlar ile gıda arasında temas zorunludur. İndüksiyon ısıtma işleminde gıdanın manyetik alan içine yerleştirilmesi yeterlidir, ferromanyetik olarak ısıtılan yüzey ile gıda arasında gerçekleştirilen ısı aktarımından da yararlanılabilmek mümkündür.
- Ohmik ısıtmada, ısıtılacak gıdanın elektriksel iletkenlik özelliği ısınma karakterini belirlemektedir. İndüksiyon ısıtmada, malzemenin ferromanyetik özelliği önemlidir.

- Ohmik ısıtma işlemi gıdada hacimsel ısınma sağlarken, indüksiyon ısıtma işlemi ferromanyetik malzemede hacimsel/bölgesel ısınma sağlamaktadır.
- İndüksiyon ısıtmada oluşan hacimsel ısınma karakteri, işlem sırasında uygulanan frekansa, malzemenin manyetik geçirgenliğine ve malzemenin öz direncine bağlılık göstermektedir. Ohmik ısıtmada ise hacimsel ısınma, uygulanan voltaj gradyanına ve gıdanın elektriksel iletkenliğine bağlıdır.

### SÜREKLİ SİSTEM BORU HATTI TASARIMLARINDA ÖRNEK UYGULAMALAR

#### İndüksiyon Isıtma

Hızlı ve bölgesel ısıtma, yüksek enerji verimliliği, güvenli ve çevreci bir ısıtma işlemi olan indüksiyon ısıtmanın boru hattı sisteminde kullanılmasına başlanması 1980'li yıllara dayanmaktadır [28]. Yapılan çalışmalarda indüksiyon ısıtma sürekli sistem boru hattı tasarımına entegre edilmiş olup boru hattının içerisinden geçirilen ürünün ısıtılması amaçlanmıştır. Farklı akış debilerinin ve farklı güç değerlerinin üründe sağladığı sıcaklık artışları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda kullanılan ürünler su ve yağ örnekleriyle sınırlı kalmıştır [29, 30, 31].

Sadakata ve ark. [32] sıcak su elde etmek için indüksiyon ısıtma prensibine dayanan bir boru hattı tasarımı gerçekleştirmişlerdir. Sabit akış debisinde çalışılıp farklı güç değerlerinin suyun ısınması üzerine olan etkisi incelemiştir. 4.3kW'lık güç değerinde suyun sıcaklığındaki artış değerinin 75°C olduğu tespit edilmiştir.

Altıntaş ve ark. [33] yapmış oldukları çalışmada ise indüksiyon ısıtma prensibine dayanan bir sıvı ısıtıcısında hem indüksiyon gücünün hem de akış debisinin suyun ısıtılması üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. 0.5 L/min akış debisine ve 3000 W çalışma gücü değerlerinde suda görülen sıcaklık artışı 64°C olmuştur. İndüksiyon ısıtmanın sürekli sistem boru hattı tasarımlarında kullanılmasını sonucu elde edilen veriler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Boru hattı sistemlerinde indüksiyon ısıtmanın kullanıldığı bazı çalışmalar

Boru Hattının İçerisinden Geçirilen Ürün	Frekans (kHz)	Güç (W)	Isıtılan Metal Malzeme Tipi	Üründe Sağlanan Maksimum Sıcaklık Artışları	Kaynak
Yağ	-	888	Paslanmaz Çelik	31°C	[28]
Su	25	4000	Paslanmaz Çelik	85°C	[29]
Su	20	800 – 4300	Paslanmaz Çelik	75°C	[32]
Su	13.43	2200	Krom-Nikel Alaşımı	39.4°C	[30]
Su	20	2000 – 4300	Paslanmaz Çelik	75°C	[31]
Su	16.66	182 – 2959	Paslanmaz Çelik	64°C	[33]

#### Ohmik Isıtma

Sürekli ohmik ısıtma sistemleri üzerine yapılan çalışmalar, 1990'lu yılların başlarında yoğunluk kazanmıştır. Bu çalışmalarda sıvı ve katı-sıvı karışımlarının sürekli ohmik ısıtma sistemlerinde ısınma

davranışları ve modellenmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir [34-38]. Qihua ve ark. [39], sürekli ohmik ısıtma sisteminin performansı etkileyen faktörlerinin belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, sisteme beslenen sıvı gıdanın akış hızı, gıdanın elektriksel iletkenlik değeri, uygulanan voltaj gradyanı ve

ısıtma ünitesinin konfigürasyonunun sistem performansını etkileyen parametreler olduğunu belirlemiştir.

Sürekli ohmik ısıtma sistemlerinin geleneksel ısıtma sistemleriyle karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmalarda ohmik ısıtmanın mikroorganizmalar üzerine benzer veya daha yüksek inaktivasyon sağladığı ve kalite özellikleri açısından da sürekli ohmik ısıtma sisteminin üstünlüklerinin olduğu rapor edilmiştir. Sürekli ohmik ısıtma sistemlerinin üründe hedeflenen mikroorganizmaların inaktivasyonun sağlanmasında

etkili bir yöntem olduğu ayrıca üründeki kalite özelliklerini de daha iyi koruduğu için geleneksel ısıtma yöntemlerine alternatif olabileceği belirtilmiştir [40-43].

Ayrıca sürekli ohmik ısıtma sistemlerinde işlem süresi boyunca elektrotlarda görülen birikim tabakaları incelenmesi üzerine de çalışmalar gerçekleştirilmiştir [44-47]. Sürekli ohmik ısıtma sistemlerinin boru hattı tasarımı ile yapıldığı bazı çalışmalar ve sonuçları Tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 2. Boru hattı sistemlerinde ohmik ısıtmanın kullanıldığı bazı çalışmalar

Ürün	Güç / Voltaj Gradyanı	Sonuç	Kaynak
Portakal Suyu	50 kW	Portakal suyunda pektin esteraz aktivitesinde %98 azalma ve C vitamende ise %15 azalma meydana gelmiştir.	[43]
Kayısı Şurubu	30 kW	Ohmik işlemden sonra paketlerde herhangi bir şişmenin olmadığı ayrıca bir yıl boyunca mikrobiyal stabilitenin korunduğu rapor edilmiştir.	[40]
Domates Suyu	25 - 40 V/cm	40 V/cm değerinde ısıtılan domates suyunda 30 s sonunda örneklerde incelenen mikroorganizmaların tespit limitinin altında olduğu saptanmıştır.	[42]
Elma suyu	26.7 V/cm	100°C'de 30 s ohmik ısıtma uygulaması, örneklere inoküle edilen tüm mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlamıştır.	[41]

## PIŞIRME İŞLEMİ ÖRNEK UYGULAMALARI

### İndüksiyon Isıtma

İndüksiyon ısıtmanın pişirme işleminde kullanımı üzerine yapılan çalışmalarda, indüksiyon ocaklarının pişirme işlemi sırasında verimliliği ve enerji tüketimiyle ilgili araştırmalar gerçekleştirilmiştir. İndüksiyon ocaklarının pişirme verimliliğinin diğer ocak tiplerine göre daha yüksek olduğu, ancak kullanılan pişirme kabının boyutlarının bu verimliliği değiştirdiği ve pişirme kabının istenilen sıcaklığa gelmesinin indüksiyon ocaklarında daha kısa sürede gerçekleştiği belirtilmektedir [48-51].

İndüksiyon ocaklarında yapılan kaynatma ve kızartma işlemlerinin bazı sebzelerdeki karotenoid içeriği ve duysal özellikleri üzerine yapılan çalışmalar da dikkat çekmektedir. Nunn ve ark. [52], indüksiyon ocağı, geleneksel ocak ve mikrodalga fırınına brokoli, havuç, yeşil fasulye ve patateslerin kaynatılmasında kullanmış olup, işlemlerin üründeki karotenoid içeriğinin değişimi ve duysal kalite üzerine etkileri konusunda araştırma gerçekleştirmişlerdir. Geleneksel ocak ve indüksiyon ocaklarıyla yapılan kaynatma işleminin daha yüksek pişirme verimliliğine sahip olduğu rapor edilmiştir. İndüksiyonla kaynatma işleminde patates ve brokolideki beta-karoten içeriği, mikrodalga ile kaynatma işlemine göre daha fazla korunmuştur. Eğitimli panelistlerin yapmış oldukları değerlendirmeler sonucunda ise pişirme metodlarının renk üzerine etkisinin olmadığı ve duysal doku değerlendirmesi sonucunda en iyi puanın mikrodalga fırın ile kaynatma işlemi yapılmış ürünlerde olduğu rapor edilmiştir. Rajagopal ve ark. [53] ise indüksiyon ocaklarında yapılan kızartma işleminin havuç, yeşil soğan, soğan, kırmızıbiber, sarı biber, bezelye sebzelerinde karotenoid içeriği ve duysal kalite

karakteristikleri üzerine etkisini incelemiştir. Sebzelerin pişirme sürelerinin 4 ve 6 dak. arasında değişmekte olduğu ve pişirme verimliliğinin %70.9 ile 92 arasında olduğu rapor edilmiştir. İndüksiyon ocağı kullanılarak yapılan kızartma işleminden sonra sebzelerde kalan karotenoid miktarının ise ortalama %85 olduğu görülmüştür.

### Ohmik Isıtma

Ohmik pişirme işlemi ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok et ve pirinç örnekleri üzerine yoğunlaşmıştır. Et örnekleri ohmik pişirme işlemiyle pişirildiğinde geleneksel pişirme işlemine göre erişilmek istenen sıcaklığa daha kısa sürede ulaşıldığı, hedeflenen mikroorganizmada daha yüksek oranda inaktivasyon sağlandığı, örneklerdeki pişirme kaybının ve mineral kaybının daha az olduğu ve enerji tasarrufunun sağlandığı rapor edilmiştir [54-57].

Sürekli ohmik pişirme sisteminde [58], köfte örneklerinde optimum pişirme koşulunun bulunması amacıyla üç farklı voltaj gradyanında (15, 20 ve 25 V/cm) ve üç farklı sürede (0, 15 ve 30 s) çalışılmıştır. Köfte örneklerinin mikrobiyal yükündeki azalmaya, en az renk ve dokusal değişimlere neden olan optimum voltaj gradyanının 15.26 V/cm olduğu rapor edilmiştir. Sengun ve ark. [59], köfte örneklerinin ön pişirme işleminin bu optimum koşulda gerçekleştirildiğinde, toplam mezofilik aerobik bakterilerin, maya ve küflerin, *Staphylococcus aureus* sayılarının önemli ölçüde azaltıldığını, *Salmonella* spp. formlarının tamamen inaktive edildiğini, ancak *Listeria monocytogenes* hücrelerinin inaktivasyonunda etkili olmadığını rapor etmişlerdir. Yarı pişmiş örneklerdeki metal geçişi incelendiğinde, metal miktarının kabul edilebilir maksimum düzeylerin altında olduğu, ayrıca

mutajenik aktivite ve PAH formülasyonlarının güvenli düzeyde olduğu görülmüştür.

Ohmik pişirme işleminin pirinç örneklerinin pişirilmesinde kullanıldığı araştırmalarda ise ohmik pişirme işleminin daha az enerji tükettiği, ohmik pişirme işlemi sonucunda pirincin görünüşünün elektrikli ocakta pişirme işleminden elde edilen pirincin görünüşüne benzer olduğu rapor edilmiştir [60, 61].

## DIĞER GIDA İŞLEME UYGULAMALARI

İndüksiyon ısıtma işlemiyle yapılan çalışmalar metal ve mutfak endüstrisi ve tıp alanı üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak ohmik ısıtma işlemi ısıtma ve pişirme işlemleri dışında fermentasyon, haşlama, evaporasyon, destilasyon, ekstraksiyon ve çözündürme gibi birçok amaç için de kullanılmaktadır. Tablo 3'te bu alanlarda son yıllarda yapılan çalışmalar görülmektedir.

Tablo 3. Ohmik ısıtmanın diğer gıda işleme uygulamalarında kullanımına yönelik bazı çalışmalar

İşlem	Ürün	Sonuç	Kaynak
Ohmik Fermentasyon	Ekmek hamuru	Fermentasyon süresi kısalmıştır.	[62]
Ohmik Haşlama	Enginar	Aynı sıcaklık değerinde ohmik haşlama ve geleneksel haşlama işlemi karşılaştırıldığında, ohmik haşlama işlemi sonucunda C vitamini kaybının daha az olduğu ve örneklerde kalan toplam fenolik madde içeriğinin daha fazla olduğu rapor edilmiştir.	[63]
Ohmik Evaporasyon	Nar suyu, Vişne suyu	Yüksek voltaj gradyanlarında ohmik ısıtma destekli vakum evaporasyon uygulamasının enerji verimliliğinin geleneksel vakum altında evaporasyona göre daha yüksek olduğu ve konsantrasyon işleminin süresinin kısaltıldığı belirlenmiştir.	[64, 65, 66]
Ohmik Destilasyon	Etanol	Etanol eldesi için gereken enerji, ohmik destilasyon işlemi ile %33 azaltılmıştır.	[67]
Ohmik Ekstraksiyon	Pektin	Portakal suyu atıklarından elde edilen pektinin daha yüksek verimde ekstrakte edilmesi sağlanmıştır.	[68]
Ohmik Çözündürme	Sığır eti	Uygulanan voltaj gradyanının artmasıyla birlikte donmuş sığır eti örneklerinin çözünme süreleri kısalmıştır.	[69]

## GIDA İŞLEMEDE UYGULANABİLİRLİK POTANSİYELLERİ

### Isı Değiştirici Sistemlerinde

İndüksiyon ısıtma işlemi daha çok metallerin eritilmesi, kaynatılması, tavlama, yüzey sertleştirilmesi gibi metalurji alanında kullanılmaktadır. İndüksiyon ısıtma yöntemiyle metallerin hızlı ve bölgesel ısınmasını sağlayarak gıdaların ısıtılması amaçlayan, sabit yüzey sıcaklığına sahip ısı değiştirici tasarımları gerçekleştirilebilir. Buradaki temel amaç indüksiyon ısıtma ile ısınan metal parçasının içerisinden gıdanın geçirilmesi olmalıdır. Isıtılması istenilen metalin tipi ve et kalınlığı, çalışma frekansı, güç ve akış debisi indüksiyonla ısı değiştirici tasarımda dikkat edilmesi gereken faktörler olduğu düşünülmektedir.

Ohmik ısıtma işlemi ise gıdalarda ısı değiştirici sistemlerinde hali hazırda kullanılmaktadır. Günümüzde ohmik ısıtma prensibiyle çalışan endüstriyel ısı değiştiriciler bulunmaktadır [23]. Farklı tasarımlar geliştirilerek, gıda işleme sistemlerinde pratik kullanımının artırılması mümkün olacaktır.

### Endüstriyel Pişirme Sistemlerinde

Günümüzde indüksiyon ısıtma işleminin herhangi bir endüstriyel pişirme sistemine entegrasyonu sağlanmamıştır. İndüksiyon ısıtma sonucunda metal parça hızlı bir şekilde ısınacağı için gıda ile temas eden bölgelerde yanma meydana gelebilir. Bu durumun

gerçekleşmemesi için ısıtılan metal parçanın sıcaklığının çok iyi bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Sıcaklığın kademeli ve bölgesel olarak artırılacağı, yeterli tutma süresinin sağlanacağı sürekli sistemlerde hem ürünün merkez noktasının hedeflenen sıcaklığa hızla ulaşması, hem de bu süre içinde ürün yüzeyinde yanma meydana gelmemesi sağlanabilir.

Ohmik ısıtma işlemi günümüzde endüstriyel pişirme sistemlerinde kullanılmaktadır [70]. Literatürde farklı tasarımlara sahip laboratuvar ve pilot ölçekli sürekli ohmik pişirme sistemlerine de mevcuttur [58, 59]. Ohmik ısıtma prensibinin pişirme amaçlı olarak endüstriyel ölçekte kullanımına yönelik tasarımların geliştirilmesi, diğer ısıtma yöntemleri ile kombine olarak çalışabilecek ünitelerin tasarlanması ve kontrol sistemlerinin entegrasyonu gerekmektedir.

### Endüstriyel Mutfaklarda

Metal endüstrisi haricinde indüksiyon ısıtmanın en çok kullanıldığı alan mutfak endüstrisidir. İndüksiyon ocaklarının hızlı ısıtma sağlaması, yüksek verimliliğe sahip olması, güvenli, çevreci ve gelişmiş kontrol özellikleri sebebiyle diğer ocaklara göre birçok avantajı bulunmaktadır. Ayrıca indüksiyon ocakları haricinde indüksiyon ısıtma prensibiyle çalışan su ısıtıcıları ve kahve makineleri piyasada bulunmaktadır. Ancak farklı tasarımlar geliştirilerek, endüstriyel mutfaklarda basınçlı pişirme ünitelerinin veya fırınların indüksiyon ısıtma prensibine göre kullanımı mümkün hale getirilebilir.

Ohmik ısıtma işleminin ise günümüzde henüz endüstriyel mutfaklarda ya da küçük ev aleti olarak ticari olarak üretilen herhangi bir sistem olmamasına rağmen, mutfak endüstrisi için tasarlanmış olan ohmik sistemlerin patentleri bulunmaktadır [71, 72]. Oluşturulacak sistem için uygun geometrideki elektrotların gıdaya temasının işlem boyunca mükemmel sağlanması ve işlem boyunca temasın kesilmemesi gerekmektedir. Ayrıca parçacıklı gıdalardaki sıvı ve katı elektriksel iletkenliklerinin sıcaklıkla değişim ilişkisi pişirme işlemi sırasında büyük önem taşımaktadır. Özellikle katı gıdalara uygulanması amacıyla işlem parametrelerin ayarlanması ve kontrolü açısından daha fazla verinin sağlanacağı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## SONUÇ

Gıdaların işlenmesi sırasında kalitesinde meydana gelen değişiklikleri en aza indirmek ve taze gıdaya en yakın ürünü elde etmek amacıyla gıda işlemede yeni teknolojiler kullanılması günümüzde yaygınlaşmaktadır. Bu yeni teknolojiler sayesinde hem tüketicilerin yüksek kalitede ürün talebi karşılanmakta hem de enerji tasarrufu sağlanmaktadır.

Bu yenilikçi teknolojilerden olan ohmik ısıtma işleminde gıda direnç görevini görmekte, alternatif akım geçirilerek elektrik enerjisi ısı enerjine dönüştürmektedir. Ohmik ısıtma işleminin evaporasyon, ekstraksiyon, fermentasyon, pastörizasyon, sterilizasyon, çözündürme, haşlama gibi birçok gıda işleme alanında potansiyeli bulunmaktadır. Ohmik ısıtma işlemi gıdayı hızlı ve homojen bir şekilde ısıtmakta ve işlem süresini kısaltmakta ve böylelikle hem ürünün kalite özelliklerinde fazla değişim meydana getirmemekte hem de işlemin enerji verimliliğini artırmaktadır. Ancak ohmik ısıtma işlemi sırasında elektrotlarının gıdaya temasının kesilmesinin önlenmesinin gerekliliği, işlemi yönetecek olan personelin deneyimli olması ve sistemde izolasyonun sürekli sağlanması gibi kısıtlamalar bulunmaktadır. Bu kısıtlamaların günümüz teknolojisinin gelişmesiyle birlikte giderileceği ve ohmik ısıtma işleminin ticari olarak daha çok uygulama alanı bulacağı düşünülmektedir.

Ferromanyetik malzemelerin belirtilen sıcaklık ve sürelerde temassız bir şekilde ısıtılması sağlayan indüksiyon ısıtma ise günümüzde daha çok metalürjide, mutfak endüstrisinde ve tıp alanında uygulama alanı bulmaktadır. Hızlı ve bölgesel ısıtma sağlayan indüksiyon ısıtma teknolojisinin boru hatlarına entegrasyonunun sağlanıp sıvı gıdaların ısıtılmasında kullanılması hem tüketicinin yüksek kalitede ürün talebini karşılayabilir hem de enerji tasarrufu sağlayabilir. Ayrıca geleneksel ısıtma işlemleri sırasında kullanılan su tüketimine bu işlemlerde gereksinim olmadığı için gıda işleme sırasında kullanılan suyun tüketimini ve atık su yükünü de azaltacağı düşünülmektedir. Ancak indüksiyon ısıtmada gıdaya uygun ferromanyetik malzeme seçiminde sınırlamaların olması, tasarlanan sistemlerin kurulu sistemlere adaptasyonun zor olması ve sistemi kullanılacak personelin deneyimli olması gerekmektedir. Bu dezavantajların teknolojinin gelişmesiyle birlikte

giderilebileceği ve indüksiyon ısıtmanın gıdaların işlenmesinde de kullanılmasına başlanacağı düşünülmektedir.

Yeni teknolojilerin gıdalara uygulanması sırasında kalite özelliklerindeki değişim üzerine etkileri ve işlem parametrelerinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmaların sayısının artması ve farklı tasarımlar geliştirilerek bu teknolojilerin uygulamadaki sınırlamalarının ortadan kaldırılması sonucunda gıda işleme sistemlerine enerji verimliliği daha yüksek minimal işleme yöntemlerinin kazandırılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu derleme çalışması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yürütülen "Sürekli indüksiyon ısıtma sisteminin kurulumu ve vişne suyunun ısıtılmasında uygulanabilirliğinin deneysel ve kuramsal olarak incelenmesi" başlıklı yüksek lisans tezi kapsamında hazırlanmıştır.

## KAYNAKLAR

- [1] Pereira, R.N., Vicente, A.A. (2010). Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. *Food Research International*, 43(7), 1936-1943.
- [2] Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 203-235.
- [3] Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B.K., Noci, F., Koutchma, T., Brunton, N. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44(7), 1875-1887.
- [4] Evrendilek, G.A., Baysal, T., İcier, F., Yıldız, H., Demirdoven, A., Bozkurt, H. (2012). Processing of fruits and fruit juices by novel electrotechnologies. *Food Engineering Reviews*, 4(1), 68-87.
- [5] Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O., Ortega-Rivas, E. (2007). Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal of Food Engineering*, 83(1), 41-46.
- [6] Nikdel, S., Chen, C.S., Parish, M.E., MacKellar, D.G., Friedrich, L.M. (1993). Pasteurization of citrus juice with microwave energy in a continuous-flow unit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 2116-2119.
- [7] Vikram, V.B., Ramesh, M.N., Prapulla, S.G. (2005). Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*, 69(1), 31-40.
- [8] Yıldız, H., Bozkurt, H., İcier, F. (2009). Ohmic and conventional heating of pomegranate juice: effects on rheology, color, and total phenolics. *Revista de*

- Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 15(5), 503-512.
- [9] Hartyáni, P., Dalmadi, I., Cserhalmi, Z., Kántor, D.B., Tóth-Markus, M., Sass-Kiss, Á. (2011). Physical-chemical and sensory properties of pulsed electric field and high hydrostatic pressure treated citrus juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 255-260.
- [10] Bozkır, H., Baysal, T., Ergün, A. R. (2014). Gıda Endüstrisinde Uygulanan Yeni Çözündürme Teknikleri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 12(3).
- [11] Çokgezme, Ö. F., & İçier, F. (2016). Dondurulmuş Gıdaların Çözündürülmesinde Alternatif Bir Yöntem: Ohmik Çözündürme. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 14(2).
- [12] Dereci, S. (2010). İndüksiyonla Isıtma Sistemlerinin İncelenmesi ve Bir Uygulama Devresinin Gerçekleştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul
- [13] Öncü, S. (2005). Bir Fazlı Yüksek Verimli Ev Tipi Bir İndüksiyon Isıtma Sistemi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli
- [14] Anonymous, "Opinions on Induction heating", <http://www.writeopinions.com/induction-heating> (Erişim Tarihi, 11.12.2017 )
- [15] Tokgöz, S. (2011). Elektromanyetik İndüksiyona Karşı Katı Cisimlerin Davranışı ve Sıcaklık Kontrolü, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta
- [16] Lucia, O., Maussion, P., Dede, E.J., Burdío, J.M. (2014). Induction heating technology and its applications: past developments, current technology, and future challenges. *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, 61(5), 2509-2520.
- [17] Sadhu, P.K., Pal, N., Bandyopadhyay, A., Sinha, D. (2010). Review of induction cooking-a health hazards free tool to improve energy efficiency as compared to microwave oven. *The 2nd International Conference on Computer and Automation Engineering (ICCAE)*, February 26-28, 2010, Singapore, Book of Proceedings, 5, 650-654p.
- [18] Gisslen, W. (2007). Professional cooking. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA.
- [19] Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., Kobayashi, T. (2005). Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(1), 1-11.
- [20] Mohring, J.U., Wrona E. (2011). Development of Customized Solutions - an Interesting Challenge of Modern Induction Heating. *Advances in Induction and Microwave Heating of Mineral and Organic Materials*, Edited by S. Grundas, InTech, Rijeka, Croatia, 125p.
- [21] Baysal, T., İçier, F., Baysal, H.A. (2011). Güncel Elektriksel Isıtma Yöntemleri. *Sidas Medya Yayınları, Çankaya, İzmir.*
- [22] Sharma, S., "Ohmic heating", <http://foodpathshala.ning.com/profiles/blogs/ohmic-heating> (Erişim Tarihi, 11.12.2017)
- [23] Varghese, K.S., Pandey, M.C., Radhakrishna, K., Bawa, A.S. (2014). Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2304-2317.
- [24] İçier, F., İlicali, C. (2005). Temperature dependent electrical conductivities of fruit purees during ohmic heating. *Food Research International*, 38(10), 1135-1142.
- [25] İçier, F., İlicali, C. (2004). Electrical conductivity of apple and sourcherry juice concentrates during ohmic heating. *Journal of Food Process Engineering*, 27(3), 159-180.
- [26] Kaur, N., Singh, A.K. (2016). Ohmic Heating: Concept and Applications - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(14), 2338-2351.
- [27] FDA. (2001). Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Ohmic and Inductive Heating.
- [28] Curran, J.S., Featherstone, A.M. (1988). Electric-induction fluid heaters. *Power Engineering Journal*, 2(3), 157-160.
- [29] Kaneda, M., Hishikawa, S., Tamaka, T., Guo, B., Nakaoka, M. (1999). Innovative electromagnetic induction eddy current-based dual packs heater using voltage-fed high-frequency PWM resonant inverter for continuous fluid processing in pipeline. *The 25th Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society*, 29 November - 3 December, 1999, California, USA, Book of Proceedings, 2, 797-802p.
- [30] Yıldız, M.N., İrfan, A. (2006). 2, 2kW'lık indüksiyonlu sıvı ısıtıcı tasarımı ve denemesi. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 11-23.
- [31] Kwon, S.K., Mun, S.P. (2008). Development of induction heater hot water system using new active clamping quasi resonant ZVS PWM inverter. *Journal of the Korean Institute of Illuminating and Electrical Installation Engineers*, 22(11), 23-29.
- [32] Sadakata, H., Nakaoka, M., Yamashita, H., Omori, H., Terai, H. (2002). Development of induction heated hot water producer using soft switching PWM high frequency inverter. *Power Conversion Conference*, April 2-5, 2002, Osaka, Japan, Book of Proceedings, 2, 452-455p.
- [33] Altıntaş, A., Yıldız, M.N., Kızılkaya, İ. (2012). İndüksiyon Isıtma prensibi ile çalışan mikrokontrol denetimli bir sıvı ısıtıcısı tasarımı. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 29, 45-52.
- [34] Sastry, S.K. (1992). A model for heating of liquid-particle mixtures in a continuous flow ohmic heater. *Journal of Food Process Engineering*, 15(4), 263-278.
- [35] Zhang, L., Fryer, P.J. (1993). Models for the electrical heating of solid-liquid food mixtures. *Chemical Engineering Science*, 48(4), 633-642.
- [36] Zhang, L., Fryer, P.J. (1994). Food sterilization by electrical heating: sensitivity to process parameters. *AIChE Journal*, 40(5), 888-898.
- [37] Quarini, G.L. (1995). Thermalhydraulic aspects of the ohmic heating process. *Journal of Food Engineering*, 24(4), 561-574.
- [38] Stirling, R. (1987). Ohmic heating-a new process for the food industry. *Power Engineering Journal*, 1(6), 365-371.

- [39] Qihua, T., Jindal, V.K., Van Winden, J. (1993). Design and performance evaluation of an ohmic heating unit for liquid foods. *Computers and Electronics in Agriculture*, 9(3), 243-253.
- [40] Pataro, G., Donsi, G., Ferrari, G. (2011). Aseptic processing of apricots in syrup by means of a continuous pilot scale ohmic unit. *LWT-Food Science and Technology*, 44(6), 1546-1554.
- [41] Kim, N.H., Ryang, J.H., Lee, B.S., Kim, C.T., Rhee, M.S. (2017). Continuous ohmic heating of commercially processed apple juice using five sequential electric fields results in rapid inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. *International Journal of Food Microbiology*, 246, 80-84.
- [42] Lee, S.Y., Sagong, H.G., Ryu, S., Kang, D.H. (2012). Effect of continuous ohmic heating to inactivate *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in orange juice and tomato juice. *Journal of Applied Microbiology*, 112(4), 723-731.
- [43] Leizeron, S., Shimoni, E. (2005). Effect of ultrahigh-temperature continuous ohmic heating treatment on fresh orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3519-3524.
- [44] Ayadi, M.A., Leuliet, J.C., Chopard, F., Berthou, M., Lebouche, M. (2004). Continuous ohmic heating unit under whey protein fouling. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 465-473.
- [45] Ayadi, M.A., Leuliet, J.C., Chopard, F., Berthou, M., Lebouché, M. (2005). Experimental study of hydrodynamics in a flat ohmic cell—impact on fouling by dairy products. *Journal of Food Engineering*, 70(4), 489-498.
- [46] Bansal, B., Chen, X.D. (2006). Effect of temperature and power frequency on milk fouling in an ohmic heater. *Food and Bioprocess Processing*, 84(4), 286-291.
- [47] Stancl, J., Zitny, R. (2010). Milk fouling at direct ohmic heating. *Journal of Food Engineering*, 99(4), 437-444.
- [48] Cernela, J., Heyd, B., Broyart, B. 2014. Evaluation of heating performances and associated variability of domestic cooking appliances (oven-baking and pan-frying). *Applied Thermal Engineering* 62(2): 758-765.
- [49] Karunanithy, C., Shafer, K. (2016). Heat transfer characteristics and cooking efficiency of different sauce pans on various cooktops. *Applied Thermal Engineering*, 93, 1202-1215.
- [50] Newborough, M., Probert, S.D., Newman, M., (1990). Thermal performances of induction, halogen and conventional electric catering hobs. *Applied Energy*, 37(1), 37-71.
- [51] Sweeney, M., Dols, J., Fortenbery, B., Sharp, F., (2014). Induction cooking technology design and assessment. *Small*, 5, 800.
- [52] Nunn, M.D., Giraud, D.W., Parkhurst, A.M., Hamouz, F.L., Driskell, J.A. (2006). Effects of cooking methods on sensory qualities and carotenoid retention in selected vegetables. *Journal of food quality*, 29(5), 445-457.
- [53] Rajagopal, L., Giraud, D.W., Hamouz, F.L., Driskell, J.A. (2007). Carotenoid retention and sensory characteristics of selected vegetables prepared by induction stir-frying. *Journal of Food Quality*, 30(5), 703-717.
- [54] Bozkurt, H., İçier, F. (2010). Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality. *Journal of Food Engineering*, 96(4), 481-490.
- [55] Zell, M., Lyng, J.G., Cronin, D.A., Morgan, D.J. (2009). Ohmic cooking of whole beef muscle—Optimisation of meat preparation. *Meat Science*, 81(4), 693-698.
- [56] Zell, M., Lyng, J.G., Cronin, D.A., Morgan, D.J. (2010). Ohmic cooking of whole beef muscle—evaluation of the impact of a novel rapid ohmic cooking method on product quality. *Meat Science*, 86(2), 258-263.
- [57] De Halleux, D., Piette, G., Buteau, M.L., Dostie, M. (2005). Ohmic cooking of processed meats: Energy evaluation and food safety considerations. *Canadian Biosystems Engineering*, 47(3), 41-47.
- [58] İçier, F., Sengun, I.Y., Turp, G.Y., Arserim, E.H. (2014). Effects of process variables on some quality properties of meatballs semi-cooked in a continuous type ohmic cooking system. *Meat Science*, 96(3), 1345-1354.
- [59] Sengun, I.Y., Turp, G.Y., İçier, F., Kendirci, P., Kor, G. (2014). Effects of ohmic heating for pre-cooking of meatballs on some quality and safety attributes. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 232-239.
- [60] Kanjanapongkul, K. (2017). Rice cooking using ohmic heating: Determination of electrical conductivity, water diffusion and cooking energy. *Journal of Food Engineering*, 192, 1-10.
- [61] Jittanit, W., Khuenpet, K., Kaewsri, P., Dumrongpongpaiboon, N., Hayamin, P., Jantarangsi, K. (2017). Ohmic heating for cooking rice: Electrical conductivity measurements, textural quality determination and energy analysis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 42, 16-24.
- [62] Gally, T., Rouaud, O., Jury, V., Havet, M., Ogé, A., Le-Bail, A. (2017). Proofing of bread dough assisted by ohmic heating. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 55-62.
- [63] İçier, F. (2010). Ohmic blanching effects on drying of vegetable byproduct. *Journal of Food Process Engineering*, 33(4), 661-683.
- [64] Cokgezme, O.F., Sabanci, S., Cevik, M., Yildiz, H., İçier, F. (2017). Performance analyses for evaporation of pomegranate juice in ohmic heating assisted vacuum system. *Journal of Food Engineering*, 207, 1-9.
- [65] İçier, F., Yildiz, H., Sabanci, S., Cevik, M., Cokgezme, O.F. (2017). Ohmic heating assisted vacuum evaporation of pomegranate juice: Electrical conductivity changes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 241-246.
- [66] Sabanci, S., İçier, F. (2017). Applicability of ohmic heating assisted vacuum evaporation for concentration of sour cherry juice. *Journal of Food Engineering*, 212, 262-270.
- [67] Gavahian, M., Farahnaky, A., Sastry, S. (2016). Ohmic-assisted hydrodistillation: A novel method

- for ethanol distillation. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 44-49.
- [68] Saberian, H., Hamidi-Esfahani, Z., Gavlighi, H.A., Barzegar, M. (2017). Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 117, 154-161.
- [69] Bozkurt, H., İcier, F. (2012). Ohmic thawing of frozen beef cuts. *Journal of Food Process Engineering*, 35(1), 16-36.
- [70] Park, J.W., Reed, Z.H. (2014). Effect of Ohmic Heating on Fish Proteins and Other Biopolymers. In *Ohmic Heating in Food Processing*, Edited by H.S. Ramaswamy, M. Marcotte, S. Sastry, K. Abdelrahim, CRC Press, Boca Raton, USA
- [71] Mohammed, M. (2002). Method and apparatus of cooking food. *U.S. Patent No. 20,040,197,451*.
- [72] Miyahara, K. (1990). Method of preparing foods by utilizing electric heating. *U.S. Patent No. 4,971,819*.
-



## Gıda Analizlerinde Kullanılan Spektroskopik Teknikler

Muhammed Yusuf Çağlar<sup>1</sup>, Mehmet Demirci<sup>1</sup>, Abdulkadir Şahiner<sup>1</sup>, Bilal Çakır<sup>1</sup>,  
Ahmet Furkan Çağlar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Helal Gıda Ar-Ge Mükemmeliyet Merkezi, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Geliş Tarihi (Received): 19.02.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 19.01.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yusuf.caglar@izu.edu.tr](mailto:yusuf.caglar@izu.edu.tr) (M.Y. Çağlar)

☎ 0 212 692 8812 📠 0 212 693 82 29

### ÖZ

Gıdalar, hammaddenin tedarik edilmesinden son ürünün eldesine kadar geçen süreçte, raf ömrünün uzatılması, tekstür, tat veya aroma iyileştirilmesi ya da maliyetin düşürülmesi gibi çeşitli istemlerle veya istem dışı; fiziksel ya da kimyasal müdahalelere maruz kalmaktadır. Bu müdahalelerin tüketicinin sağlığı ve refahı açısından İslami boyutlarda takibi ve denetimi, helal gıda konsepti kapsamına girmektedir. Günümüzde gelişen teknolojiye paralel olarak üreticilerin haksız kazanç elde etme istekleri gibi sebeplerden ötürü gıda üretiminde taklit ve taşış oranları giderek artmaktadır. Bu derlemede, helal gıda üretimi ve takibinde önem arz eden ve doğrulama ve taşış belirlenmesi amacıyla kullanılan vibrasyonel spektroskopik yöntemlerden yakın kızılötesi spektroskopisi (NIR), Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FTIR), Raman spektroskopisi (RS) ve üstün uzaysal görüntüleme (HSI) metotları çalışma prensipleri ve gıda grupları bazında ele alınmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Spektroskopi, Taşış, Taklit, Gıda

### Spectroscopic Techniques Used in Food Analyses

#### ABSTRACT

Foods are exposed to physical or chemical processes from the period of supplying raw materials until manufacturing the final product for a variety of purposes such as extending shelf life, improving texture, taste and aroma or lowering the production cost. Regarding the Islamic faith, pursuance and control of these treatments/processes in terms of human health and well-being are a part of halal food production concept. Recently, in parallel with developing technology, imitation and fraud in food production have been extensively increased due to wishes of producers to acquire unfair earnings. In this study, near infrared spectroscopy (NIR), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Raman spectroscopy (RS) and hyperspectral imaging (HSI), which are sub-categories of vibrational spectroscopic methods, are reviewed in terms of their working principles and food groups.

**Keywords:** Spectroscopy, Adulteration, Imitation, Food

#### GİRİŞ

Gıda seçiminde, tüketicilerin yaşam tarzı, kültür, din, diyet ve sağlık kaygıları önemli bir rol oynamaktadır. Ülkemiz gibi büyük çoğunluğunu Müslümanların

oluşturduğu toplumlarda bu beklentilerden en önemlisi tüketilecek gıdanın helal olmasıdır [1,2]. Müslümanlar, Kuran-ı Kerim'in Maide Suresi'nin 3. Ayetinde "Ölmüş hayvan, kan, domuz eti ve Allah'tan başkasının adına boğazlanan (kesilen), boğularak, vurularak, yüksek bir

yerden yuvarlanarak veya boynuzlanarak ölen ve de yırtıcı hayvan tarafından parçalanıp yenen hayvan (ölmeden kesilmesi hariç) ve putlar adına boğazlanan hayvanlar ve fal okları ile kısmet aramanız size haram kılındı” buyrulduğu gibi Ayet-i Kerime’de geçen hususları göz önünde bulundurarak diyetlerini buna göre düzenlemişlerdir.

Güvenilir olmayan gıdalar farklı şekillerde ortaya çıkabilmektedir:

- (1) Gıdadaki değerli bileşenlerin ayrılması ya da kısmen veya tamamen bu bileşenlerin ihmal edilmesi,
- (2) Ucuz alternatif gıda bileşenlerinin tamamının veya bir kısmının ikame edilmesi,
- (3) Zarar görmüş veya kalitesi bozulmuş gıda maddelerinin gizlenmesi,
- (4) Tağşiş [3].

Gıdalar, istem dışı veya daha fazla kar elde etme amacıyla kasıtlı olarak kimyasal maddeler veya fiziksel etkenler ile muamele edilebilmektedir, fakat bu durum yasal düzenlemeler ile azaltılmaya ya da engellenmeye çalışılmaktadır [4, 5]. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de birçok tağşiş olayı meydana gelmekte ve böyle gıdaların engellenmesi hem toplum, hem de üretici açısından hayati bir önem taşımaktadır. Gıdalarda helal doğrulaması için kullanılan analitik yöntemler, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), enzim bağlı immünosorbent deneyleri, kütle spektrometresi (MS), kromatografik yöntemler, elektronik burun ve spektroskopidir [1]. Geliştirilen birçok spektroskopik metod, örneklerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Farklı spektroskopi teknikleri, çalışılan proses ve enerji değişimi büyüklüğüne bağlı olarak farklı ve belirli frekans aralıklarında çalışmaktadır. Fourier dönüşümlü, NIR, MIR, Raman spektroskopisi ve üstün uzaysal görüntüleme spektroskopisi gibi spektroskopik metodlar çeşitli endüstriyel gıda ürünlerinin kalite analizi ve doğrulaması için hassas ve hızlı sonuç veren analitik teknikler olarak bilinmektedir. Bu teknikler, gıdaya minimum zarar veren ve nispeten düşük maliyetli modern tekniklerdir. Buna ek olarak, bu spektroskopik teknikler, tarım ve gıda ürünlerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılan, geleneksel; kimyasal ve zaman alıcı tekniklere alternatif niteliğindedir [6].

Çin’de 2007 yılında buğday gluteni örneklerine protein oranını yükseltmek amacıyla melamin ilavesi [4], yine aynı ülkede 2008 yılında süte melamin ilavesi [7] ve Hindistan’da 2012 yılında süte deterjan, yağ ve üre karıştırılması dünyada tağşiş konusunda yapılmış hilelere örnek olarak verilebilir [4]. Son yıllarda Çin’de jelatin benzeri kimyasalların su ürünlerinin ağırlığını arttırmak amacıyla gıdaya katıldığı bildirilmiştir [8].

## VİBRASYONEL TEKNİKLER

Spektroskopik tekniklerin uygulanması, gıda sektörü ile sınırlı değildir, aynı zamanda uygun malzemeleri belirlemek için farmasötik ve petrokimya sektörlerinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Kimya, ilaç, yaşam bilimleri ve çevre analizi alanlarında yeni spektroskopik

teknikler uygulanmaktadır [9]. Farmasötik endüstrisinde spektroskopik teknikler kullanımının bir örneği pozitif veya negatif olarak bir bileşiği tanımlamak için NIR spektrum kütüphanesi ile örneğin spektrumlarının karşılaştırılmasıdır [10]; bu yöntem, 7-aminosefalosporanik asidin kimyasal kalitesini doğrulamak için kullanılmıştır [11].

## Yakın Kızılötesi (NIR) Spektroskopisi

NIR sinyalleri, moleküler titreşimler, özellikle “overtone bantları” olarak tanımlanan; orta IR bölgedeki temel titreşimlerin yaklaşık olarak iki-üç katı olan frekanslardaki bantlar ses ve temel titreşimlerin kombinasyon bantları ile ilişkilidir. C-H, O-H ve N-H gibi bağlar orta IR bölgede temel titreşim frekanslarına sahiptir. Bu bağlar, yüksek frekanslı overtone ve kombine bantlar şeklinde NIR bölgede 780-2500 nm de tespit edilebilmektedir [12]. NIR spektroskopisi düzenli olarak tarım ve gıda ürünlerinde hem nitel hem de nicel analiz için kullanılmaktadır. NIR spektroskopisi yığın haldeki materyallerin çalışılmasına büyük olanak sağlamaktadır. NIR spektroskopi içecek sanayinde de alkollü içeceklerin ve alkolsüz içeceklerin içeriklerine bakılmasında kullanılmaktadır. NIR spektroskopi kullanılarak yapılan ölçümlerde, en dikkat çekici unsur, ölçümü yapılan üründe genelde herhangi bir hasar olmamasıdır. Bazı durumlarda, özellikle gıda ya da tarım ürünlerinin analizlerinde spektral ölçümlerden önce ürün bir ön işleme tabii tutulabilir; örneğin buğdayın öğütülmesi gibi. Bununla birlikte NIR spektroskopinin ürünlerin kalite kontrolünde kullanılması son derece ümit vericidir [13]. Ayrıca bu tekniğin başarısı yazılım ve donanım ile hızlı bir şekilde geliştirilmiştir. NIR spektrofotometreleri 3 enstrümental cihaz ile kategorize edilir;

- [i] Sıralı cihazlar, absorbands sırayla zamanında toplanır ve cihaz monokromatör veya filtreler ile donatılmıştır.
- [ii] Fourier dönüşümü veya multipleks cihazlar ile kombine edilmiş NIR spektrofotometreleri, bu cihazlarda birçok frekansta eş zamanlı olarak çalışabilir.
- [iii] Çok kanallı cihazlar, bunlarda çeşitli dalga boylarında çeşitli dedektörler vasıtası ile absorbands ayrı ayrı tespit edilebilmektedir.

Enstrümantasyon evrimi ile birlikte, analitik yöntemler ve yazılımlar; matematiksel ve kemometrik teknikler kullanarak veri arşivleme ve yorumlama daha kolay ve hızlı bir biçimde yapılmaktadır. Böylece hem enstrümantasyonun hem de analitik yazılımların NIR spektroskopisi için geliştirilmesi bu yöntemi güvenilir, etkili; gıda, farmasötik, petrokimya ve kimya endüstrisinde kalite kontrol için kullanılacak standart bir yöntem haline getirmiştir [14].

NIR spektroskopisinde farklı spektral modlar, örneğin hem dış hem de iç özelliklerinin tahmin edilmesine imkân sağlamaktadır. Bu modlar yansıma, iletim, interaktans, transflektans içerir. Yansıma ve interaktans genellikle katıların spektrumu, iletim sıvıların spektrumu ve transflektans ise ince ya da temiz örneklerin spektrumlarının ölçülmesinde

kullanılmaktadır. Uygulanan modlar örneğin tipi, fiziksel özellikleri ve karakteristiğine bağlıdır. Yansıtma modu spektroskopisi yansıyan ya da numune yüzeyinden saçılan ışığı ölçer. Pürüzsüz yüzeye gelen ışık aynı açığı yaparak yansır fakat pürüzlü yüzeye gelen ışık dağılır [15]. Pürüzsüz yüzeydeki yansıma numune kompozisyonu hakkında çok az bilgi içermektedir. Dağınık yansıma, bir numunenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin analizi için daha yararlıdır. Gıda maddelerinin fiziksel özellikleri ve karakteristikleri ile uyumluluk gösteren bu mod gıda endüstrisinde büyük ilgi görmüştür. Son on yılda, dağınık yansıma NIR tekniği kullanılarak, çeşitli gıdalarda taşıma tespiti üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, hayvan eti kasları [16], sığır hamburgerinde taşıma tespiti [17], yengeç etinde taşıma tespiti [18], yengeç etinde tür doğrulaması ve taşıma tespiti olarak bildirilmiştir [19]. Ayrıca, farklı et örneği türlerini ayırt etmek amacıyla yürütülen çeşitli çalışmalar yüksek sınıflandırma doğruluğu ile sonuçlanmıştır [20]. Bu teknik, süt tozunda ve soya fasülyesinde melamin tespitinde ve yoğurtta protein taşımasında başarılı bir şekilde uygulanmıştır. NIR yansıma spektrumları portakal suyunda 1100-2498 nm dalga boyu aralığında %90 doğrulukla, %10 portakal pulp yıkama ve sentetik şeker-asit karışımını tespit etmek için basit ve pratik bir yöntem sunmaktadır [21]. Elma, çilek ve ahududu püresi taşıma yansımaları NIR spektroskopisi kullanılarak tespit edilebilir [22]. NIR spektroskopisi iletim modu bir numunenin hem dış hem de iç kalitesini belirlemek amacıyla kullanılabilir, bu modda ışık numune boyunca ilerleyerek numunenin iç kalitesi hakkında bilgi verir. Bu teknik, katı, sıvı ve gaz örneklerinin analizi için kullanılabilir. Bu mod kullanılarak, yağ [23] ve meyve sularında [24] doğrulama ve taşıma tespiti yapılmış, beyaz şarap örnekleri için tür tanımlaması yapılmış [16], sığır ve tavuk yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir [25,26].

NIR spektroskopisi interaktans modu yansıma ve iletim modlarının kombine edilmiş şeklidir. Bazı durumlarda, iletim modu ölçüm için yeterli olmadığı zaman interaktans numunenin iç özelliklerini öğrenmek için uygun bir yöntemdir.

Transfektans iletim ve yansıma modları kombinasyonu olup, özellikle ince veya temiz numunelerin spektrum ölçümü için tasarlanmıştır. Transfektans yansıma ve iletim modları gibi yaygın değildir; fakat optik demet probu bu moda bağlı olarak sıvı akıntı analizleri için başarıyla uygulanabilmektedir [27]. Çok sayıda çalışmada NIR transfektans spektroskopisi kullanılarak balda kalite ve doğrulama analizleri yapılmıştır [28,29,30]. NIR spektroskopisi yağ [31], süt [32] ve et [33] gibi bir dizi gıda ürünleri için kalite ve doğrulama analizlerinde kullanıldığı gibi şarapların coğrafi sınıflamasında da kullanılmaktadır [34].

### FT-IR (Fourier Transform Infrared) Spektroskopisi

FT-IR spektroskopisi gıda-tarım sektöründeki analitik laboratuvarlarda kalite kontrol kapsamında kullanılmaktadır [35]. FT-IR spektroskopisi daha çok orta infrared (MIR-Middle Infrared - 400 – 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) bölgelerde kullanılmaktadır. Elektromanyetik

spektrumdaki, temel titreşim, gerilme-dönme modları moleküllerin kimyasal profilleri hakkında bilgi vermektedir [36]. Genellikle, MIR bölgelerinde iki tip belirgin yer vardır. Bunlar, 4000 ile 1500  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi fonksiyonel grupları, 1500 ile 500  $\text{cm}^{-1}$  bölgesi ise parmak izi kısmını gösterir.

Fonksiyonel grup bölgesi;

1. X-H gerilmesi (X; C, N, O ya da S) 4000 – 2500  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında,
2. O-H ve N-H gerilmesi 3700 – 2500  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında,
3. C-H gerilmesi 3300 – 2800  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında,
4. C-H aldehit formundaki gerilimi 2900 – 2700  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında,
5.  $\text{C}\equiv\text{C}$ ,  $\text{C}\equiv\text{N}$  ve  $\text{C}=\text{C}=\text{C}$  gerilmeleri 2700 – 1850  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında,
6.  $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$  ve  $\text{C}=\text{O}$  gerilmeleri 1950 – 1450  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında sinyal vermektedir [37].

Orta infrared bölgede her bir molekülün işlevsel grubu farklı ve benzersiz bir absorpsiyon üretir. Parmak izi bölgesine göre molekülün işlevsel gruplarını yorumlamak daha avantajlıdır [38]. Buna rağmen parmak izi bölgesi karmaşık piklere ve çakışan bantlara karşın domates, hazır kahve ve diğer gıda ürünlerinde taşıma amaçlı analizlerde oldukça güzel sonuçlar vermiştir [39,40]. Yapılan bir çalışmada MIR-spektroskopisinin sütte yapılan taşımanın ortaya çıkarılmasında alternatif bir metot olduğu gösterilmiştir [41].

Tereyağı numunesinin özgünlüğü ile ilgili yapılan bir parmak izi bölgesi incelemesinde, çok değişkenli modelleme tekniği (SIMCA) kullanılarak çok iyi sonuçlar elde edilmiştir [40]. Ayrıca bu çalışmada  $-\text{HC}=\text{CH}-$  grubu moleküler etkileşimler ile C-O asimetrik esneme etkileşimleri gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak, benzer moleküler yapıya sahip örneklerde (lipitler ve polisakkaritler) aynı grup etkileşimlerin parmak izi bölgesinde görülebileceği ön görülmektedir [42]. Son zamanlarda yapılan yeni çalışmalarda parmak izi bölgesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin, atık saptardan elde edilen biokütle çalışmalarında çözünebilir şeker analizi ve hücre duvarı analizi [43].

FT-IR spektroskopisindeki ölçüm teknikleri (katı, sıvı ve gaz);

1. ATR (Attenuated Total Reflectance)
2. DR (Diffuse Reflectance)
3. HTT (High-Throughput Transmission)
4. TC (Transmission Cell)

Bu ölçüm teknikleri arasında gıda kalitesi ve orijinallik çalışmalarında ATR tekniği kullanılmaktadır. Bu teknik ile ilgili çeşitli modüller mevcuttur. Bunlar;

- a. SB-ATR (Single Bounce-ATR),
- b.  $\mu$ ATR (micro-ATR),
- c. HATR (Horizontal ATR).

Örnek olarak, HTT ölçüm tekniği ile yapılan bir çalışmada gıda bozulmalarına neden olan mantarların tespitine yönelik parmak izi bölgesinde bir yöntem geliştirilmiştir [44].

FT-IR spektroskopisi, ülkemizde gıda kontrol laboratuvarlarında ATR ölçüm tekniği kullanılarak plastik malzemelerinin yapı tayininde kullanılmaktadır. Bazı fabrikalarda ise, mal kabul kısmında ham madde yapılarını kontrol etmek için kullanılır. Helal gıda analizlerinde ise, ekstrakte edilen özütte moleküler yapıyı aydınlatarak, moleküler yapı bağları (C-H, C=C, C-O, C=O, vb.) ve işlevsel (NH<sub>2</sub>, COOH, vb.) grupların karakterizasyonunda bizlere önemli bilgiler verecektir.

Gıdaların içerisine katılan jelatin katkı maddesinin varlığı ve hangi hayvan türünden olduğunu belirleyebilmek helal gıda açısından çok önemlidir. FTIR spektroskopisi gıdalardaki et ve jelatinin kaynağının belirlenmesinde kullanılabilir. Jelatin kaynaklarının sınıflandırılması ve ayrılması üzerine yapılan bir çalışmada ATR-FTIR kullanılarak hiyerarşik kümelenme ve temel bileşenler analizi ile elde edilen sonuçlar domuz ve sığır jelatini karışımlarından saf sığır jelatinini başarıyla ayırmıştır [45]. Başka bir çalışmada ise kemometri ile kombine edilmiş FTIR spektroskopisi vasıtası ile kurutulmuş etlerde domuz eti taşıması tespiti kontrol edilmiştir [46]. FTIR spektroskopisi ile farklı metotlar kullanılarak veya yeni metotlar geliştirilerek birçok gıda da taşıma belirlenmesi sağlanmaktadır. Buna örnek olarak taşıma üzerine yapılan çalışmalarda FTIR ve kemometri teknikleri kısmi en az kareler (PLS) ve diskriminant analizi (DA) kullanılarak ticari konserve ton balığı ve diğer ton benzeri balık türlerinin paketleme yağının doğrulanması [47], ekstra sızma zeytinyağına kabak çekirdeği yağı ilavesi [48], hindistan cevizi yağına mısır ve ayçiçeği yağı ilavesi [49] gibi daha ucuz bitkisel yağlarla yapılan taşıma belirlenmesi sağlanmaktadır. Ayrıca FT-NIR ile ucuz nişasta ile taşıma edilen konjak glukomannan tespiti [50], ATR-FTIR kullanılarak sentetik kimyasallar ile sütün taşımasının tespiti [51], MID-FTIR ile bal örneklerinde oksitetrasiklin ve sülfatiazol antibiyotiklerinin kontaminasyonunun ölçümü ve saptanması [52] gibi taşıma üzerine yapılan farklı çalışmalar örnek olarak verilebilir.

## Raman Spektroskopisi

Raman spektroskopisi, tarımsal gıda ürünlerinin kalitesi ve özgünlüğünün analizi için kullanılabilen analitik bir yöntemdir. Bu teknik ile lipitler, karbonhidratlar ve proteinler ile ilgili model bileşiklere dayalı özel matrisler gibi önemli bilgiler elde edilebilirken, eser bileşenler, gıdaların bozulmasına ve kirlenmesine neden olan mikroorganizmaların tanımlanmasındaki hassasiyeti düşüktür [53]. Kızılötesi ve Raman spektroskopilerinin her ikisi de titreşimli olmalarına karşın, kızılötesi spektroskopisinde ışının emiliminin aksine, Raman spektroskopisi bir molekül ile foton arasındaki enerji alışverişine dayanmaktadır. Raman etkisi oluştuğu zaman, radyasyon kaynağından gelen bir fotonla etkileşen molekülün enerjisi sanal bir seviyeye yükselir. Enerjideki artış foton enerjisine eşittir. Uyarılmış molekül temel hale dönerken uyarıcı radyasyonun dalga

boyundan farklı dalga boylarında emisyon yapar. Bu emisyon uyarıcı radyasyondan daha kısa ve daha uzun dalga boylarındadır [54].

Enstrümantasyondaki gelişmeler, gıda endüstrisinde giderek artan sayıda uygulama için Raman spektroskopisini tercih edilen bir araç haline getirmektedir. Yapılan bazı çalışmalar [55-57] farklı Raman spektroskopisi yöntemlerinin belli alanlardaki (tarım ve gıda sektörü gibi) etkinliğinden bahsederek, Raman spektroskopisinin tercih edilen bir araç haline geldiğini doğrulamaktadır.

Raman ve infrared spektroskopisi, gıda ve gıda analizleri için birbirini tamamlayıcı tekniklerdir. Raman spektroskopisinin NIR ve MIR spektroskopileri üzerindeki ana avantajları şunlardır [6]:

- Suyun hiç veya minimum derecede kısıtlama etkisinin olması,
- Sulu çözeltilerin analiz edilebilmesi,
- İnorganik materyallerin daha kolay analiz edilebilmesi ve
- Numunelerin, cam veya polimer ambalajı ile analiz edilebilmesi şeklinde sıralanabilir.

Bu avantajların yanında, Raman spektroskopisinin bazı dezavantajları da vardır [6]:

- Numunenin kendisinden veya kirliliklerden gelebilecek floresans ışına Raman spektrumunu gizleyebilir.
- Yüksek enerjili lazer ışınlarının numuneyi ısıtmasından dolayı numunenin bozunabilmesi veya Raman spektrumunu gizleyebilmesi şeklinde sıralanabilir.

Bu dezavantajlardan dolayı, NIR lazerlerinin kullanımından ve floresan numunelerin analizinden kaçınılması tavsiye edilir. Raman spektroskopisinin Fourier transform tekniği ile birlikte kullanılması hassaslık ve yüksek spektral çözünürlük sağlama yönünden önemlidir. FT-Raman spektroskopisinin, gıdaya katılan yağ asitlerinin doymamışlığını ölçmede güçlü bir teknik olduğu belirtilmiştir [58]. Bu yönüyle FT-Raman spektroskopisi, yağ asitlerinin doymuşluğunun ölçülmesiyle, gıda maddesindeki yağ asidi bazı bulaşma tespiti için elverişli ve güçlü bir yöntemdir.

Gıda taşımasında en yaygın yapılanlardan birisi, zeytinyağının düşük kaliteli yenilebilir yağlarla karıştırılması olarak söylenebilir. Numunedeki doymamış yağ asitlerinin dağılımındaki değişimin belirlenmesi ve zeytinyağının kimlik doğrulanması için Raman spektroskopisi kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır [59]. Bu teknik ayrıca başka bitkisel yağların ucuz yağlarla taşımasının tespitinde de kullanılabilir. Yapılan bir çalışmada Raman spektroskopisi kullanılarak Avustralya fıncığı ve pikan cevizi yağlarının ayçiçeği ve mısır yağı gibi ucuz yağlardan ayrımı yapılmıştır [60]. Bunun dışında, Raman spektroskopisi, kaslı gıdalarda proteinler, su ve lipitler hakkında yapısal bilgiler sağlayabilir ve bu nedenle et orijinalliğinin tespiti için kullanılabilir. Raman

spektroskopisi, farklı et çeşitlerinin duyu özellikleri ile sığır eti örneklerinin yağ dokusunun kompozisyonu ve yağ asidi bileşimini tespit etmede başarıyla uygulanmıştır [61, 62]. Ayrıca, kas lif dokusunu görüntüleme [63], dondurucuda saklama sırasındaki kaslardaki proteinin değişimi [64], balık kasındaki yağ miktarını belirleme [65], kaslı gıdalardaki protein yapısını izleme [66] gibi çeşitli çalışmalar da literatürde yer almaktadır. Raman spektroskopisi, kimyasal ve fiziksel özelliklerin yanı sıra etin mikrobiyolojik bozulmasının tespitinde de kullanılmıştır [53]. Boyacı ve ark. [67] tarafından yapılan çalışmada, Raman spektroskopisi kullanarak karışım etteki at eti ile sığır etinin ayrımı yapılmıştır.

Yüzeyi geliştirilmiş Raman spektroskopisi (SERS) tekniği, geleneksel Raman spektroskopisinin hassasiyetini ve kapasitesini arttırmak için metalik nanosübstütleri kullanarak Raman spektroskopisini ve nanoteknolojiyi birleştirir. Bu yönüyle gıda doğrulamalarında sıklıkla kullanılan SERS tekniği, Wijaya ve ark. [68] tarafından yapılan çalışmada, elma suyunda veya elma yüzeylerinde neonicotinoid böcek ilacı asetamipridinin saptanmasında kullanılmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise baharatlarda Sudan I boyasının taşıyıcısının belirlenmesinde Normal Raman, FT-Raman ve Yüzeyi Geliştirilmiş Raman Spektroskopisi olmak üzere üç Raman spektroskopisi yöntemi kullanılmış ve en etkili yöntemin SERS olduğu belirlenmiştir [69]. Son zamanlarda taşınabilir SERS cihazları, *Escherichia coli* ve *Salmonella* gibi gıda kaynaklı bakteri patojenlerinin yüksek hassasiyette tespiti için kullanılabilir hale gelmiştir [70]. Stimüle Raman saçılımı (SRS) ve rezonans Raman spektroskopisi (RRS) gibi diğer Raman spektroskopik teknikleri henüz gıda endüstrisinde önemli uygulamaya sahip değildir ve laboratuvarından endüstriye geçmeden önce daha fazla değerlendirmeye ihtiyaç duymaktadırlar.

### Üstün Uzaysal Görüntüleme

Üstün uzaysal görüntüleme (HSI), titreşimli spektroskopiye dayanan gıda kalite ve doğrulamasında kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. Bu teknik bir materyalden hem spektral hem de uzaysal bilgi alınmasına olanak sağlar. HSI'nin uzaysal özellikleri, kompleks heterojen örneklerin karakterizasyonunu mümkün kılarken, spektral özellikleri çoklu yüzeyler ve yüzey altı özelliklerin geniş ölçüde tanınmasına imkan tanımaktadır [71]. Daha önce bahsedilen spektroskopik analitik metotlar (NIR, MIR, ve Raman spektroskopileri) iyice açıklanmış, matrikse zarar vermeden ölçüm yapabilen analitik metotlardır.

Bununla birlikte, bu teknikler nokta bazlı tarama teknikleridir ve örneğin yalnızca ilgili küçük bir bölümünü analiz eder; bu nedenle bu teknikler gıda analizi uygulamalarında önem arz eden uzaysal bilgi sağlamada yeterli olmamaktadır [72]. Numune analizleri, üstün uzaysal görüntüleme teknikleri ile kıyaslandığı zaman, daha uygun ve daha hızlı analizlerdir. Çünkü aynı zamanda birden fazla numunenin analizine imkân sağlamaktadır. HSI ise değişik boyutta ve şekilde

örnekler hakkında hiperspektral bilgi toplamada kullanılabilir ve daha esneklerdir. Buna ilaveten, toplanan spektral bölge, uzaysal çözünürlük ve görüntüleme alanı (GA) uygulamaya göre ayarlanabilir. Bu avantaj ve esnekliği ile üstün uzaysal görüntüleme yalnızca gıda-tarım uygulamaları değil eczacılık [73], tıp [74], veterinerlik [75], adli tıp [76] ve çevre [77] uygulamalarında da başarılı bir biçimde kullanılmaktadır.

Kalibre edilmiş hiperspektral görüntü parçalarına ayrılır ve çözündürülür. Kısmi en küçük kareler (PLS) regresyonu spektral veri dizini uygulanır ve ağırlık dalga boyları en uygun dalga boylarında seçilir. Daha sonra, her bir görüntü seçilen dalga boylarında ve regresyon katsayısı ile çarpılmış 2-D matrislere dönüştürmek için açılır. Elde edilen matris görüntünün oluşturulması için tekrar katlanır. Bununla birlikte, hiperspektral görüntü işleme prosedürü farklı analitik metotlar ile yapılabilir.

Üstün uzaysal görüntüleme, elektromanyetik spektrumu ultraviyole, görünür ve NIR (300-2600 nm) bölgelerinde bir nesne hakkında hem mekânsal hem uzaysal bilginin elde edilmesinde kullanılır [78]. Çeşitli üstün uzaysal görüntüleme teknikleri ultraviyole (200-400 nm), görünür (380-800 nm) ve NIR (970-2500 nm) gibi değişik elektromanyetik bölgelerdeki farklı türdeki örneklerin optik tanımlanması için geliştirilmektedir.

Her tekniğin belirli uygulamalar için avantajları olsa da son 3 uygulama gıda-tarım uygulamalarına en uygun yöntemlerdir. Bu teknikler, et ürünlerinde; dilimlenmiş hindi jambonunda pişirmenin sınıflandırılmasında [79], taze sığır etlerinde su tutma kapasitesinin yanı sıra renk, pH ve gevreklik derecesinin belirlenmesinde [79-82], kurutulmuş karideslerin nem içeriklerinin belirlenmesinde [8], ve pişirilmiş tavuk göğüslerinde nem dağılımının belirlenmesinde [83]; tahıllarda; mısır çekirdeğinin sertlik sınıflandırılmasında [84] ve buğday çekirdeklerinde zararlı hasarlarının belirlenmesinde [85]; toz gıda ürünlerinde; karabiber hilesi [86] ve süt tozunda melamin hilesi [87] tespitinde kullanılmaktadır.

Özellikle sebze ve et ürünleri gibi gıda ürünlerinde gıda güvenliği ile ilgili giderek artan en büyük endişe tazelik ve mikrobiyal bozulmadır. Bu alandaki diğer spektroskopik uygulamaları bu tekniklerin nokta-temelli analizler olmalarından dolayı sınırlıdır. Üstün uzaysal görüntüleme paketlenmiş taze ıspanaktaki *E. coli*'nin belirlenmesi dâhil mikrobiyal kontaminasyonun tanımlanmasında [88], mantarların mikrobiyal bozulmasında [89], somon eti [90], ve domuz etinin tespitinde kullanılmaktadır [91].

Bütün bu çalışmalar farklı kemometrik analitik metotlar kullanılarak mantıklı tahmin ya da sınıflandırma sonuçları göstermiştir. Bu örneklere ilave olarak yapılmış çoğu mikrobiyal çalışma göstermiştir ki üstün uzaysal görüntüleme, gıda ürünlerinde mikrobiyal kolonilerin büyümesinin incelenmesinde etkili bir yöntemdir. Ayrıca, üstün uzaysal görüntüleme ile mikroskopun birlikte kullanılması gıda ürünlerinde patojen mikroorganizmaların kesin tanımlanmasına imkân vermektedir. Üstün uzaysal görüntüleme

teknığının kullanıldığı çalışmalar göstermiştir ki, gıda kalite ve doğrulamasında kullanılacak tekniğin verimliliği gıdanın kalite durumu ile doğrudan alakalıdır [71, 78, 81, 92].

Bununla birlikte, bu çalışmaların hiç biri son zamanlarda çeşitli çalışmalarda gıda tarım ürünlerinin analizi için kullanılan floresans üstün uzaysal görüntüleme üzerine değildir. Kim, Chen ve Mehl [93] tarafından gerçekleştirilen çalışma bu alanda ilk çalışmadır. Bu öncü çalışmada, normal elma ve mantar bulaşmış ve yaralanmış elmaların görüntüleri verilmiştir. Buna ilaveten, frekans aralıkları, çeşitli türdeki elmaların fekal kontaminasyonunun belirlenmesinde kullanılmıştır [94]. Floresans üstün uzaysal görüntüleme (fHSI) uygulaması, mısır çekirdeklerinde aflatoksin kontaminasyonunun tanımlanmasında kullanılmıştır [95].

Cho ve ark. [96] üstün uzaysal görüntüleme kullanarak çeri domateslerinde kütikül hasarlarının tespiti için klorofilin floresans özelliklerini kullanmışlardır. Kesin bir sınıflandırma için çeri domateslerin epikarp ve perikarp dokularındaki floroforların farklı konsantrasyon göstermesi bu işlemin uygulanabilirliğini artırmıştır.

Reflektans, transmisyon ve floresans teknikleri ile uygulanan üstün uzaysal görüntüleme gıda kalite ve güvenliği analizleri için uzun yıllardır araştırılmaktadır. Daha yakın yıllarda, Raman üstün uzaysal görüntüleme hedef örneğin kompozisyonu ve morfolojisinin görüntülenmesinde Raman spektroskopisinin avantajları ile üstün uzaysal görüntülemenin birleştirildiği inovatif bir tekniktir. Timlin ve ark. [97], memeli kemiklerinde fosfat türlerinin dağılımının görüntülenmesinde Raman üstün uzaysal görüntüleme kullanarak öncülük etmiştir. Fu ve ark. [98] memeli hücrelerinde çeşitli türlerin kimyasal haritasının çıkarılmasında bu tekniği kullanmıştır. Raman üstün uzaysal görüntülemenin kullanıldığı en güncel çalışma süt tozlarında melamin taşımasının belirlenmesinde kullanılması [99] ve melamin ile disiyandiamid bileşiğinin süt tozlarında tespitinde kullanılmasıdır [100]. Bu teknik düşük konsantrasyonlarda belirli kimyasalların tanımlanmasında oldukça hassas sonuç vermektedir. Örneğin süt tozunda %0,2'ye kadar melaminin tespitinde kullanılmaktadır. Quin ve ark. [101] olgunlaşma esnasında domateslerin likopen içeriklerindeki değişimi Raman üstün uzaysal görüntüleme (RHSI) ile görüntüleyerek domateslerin olgunlaşma prosesini gözlemlemişlerdir. RHSI, gıda-tarım ürünlerinde geniş çapta kullanılsa da, gıda kalitesini belirlemek isteyen araştırmacılar için önemli bir araç olacağı aşikârdır.

## SONUÇ

Gıda endüstrisi gelişen teknoloji ve hızlı değişen tüketici beklentilerine paralel olarak gün geçtikçe karmaşık bir hal almakta ve bu durum gıda taşıması eğilimini arttırmaktadır. Gıda taşıması tesadüfi veya kasıtlı olabilir; yine de, gıda doğrulama analizine her zaman ihtiyaç duyulmaktadır. İstem dışı taşımanın tespiti nispeten basittir, ancak kasıtlı taşımanın belirlenmesi yabancı madde ve orijinal materyalin genellikle aynı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olması nedeniyle oldukça

karmaşıktır. Gıda taşımasının yanı sıra, gıda kontaminasyonu tüketicinin sağlığını olumsuz yönde etkilediği için gıda endüstrisini ve denetçi kurumları oldukça endişelendirmektedir. Kimyasal kontaminasyonun tüketici sağlığı üzerindeki etkisi genellikle düşük seviyeler uzun süre maruz kaldıktan sonra ortaya çıkmaktadır.

Gıda kalitesinin ve özgünlüğünün saptanması, gıdayı etkin analitik yöntemlerle kapsamlı bir şekilde izlemeyi gerektirir. Son zamanlarda, çeşitli gıda kalite güvencesi dernekleri standartları belirlemede ve gıda ürünlerindeki taşımanın ölçülmesi ve belirlenmesi için çeşitli analitik yöntemler önermektedir. Bu yöntemlerin çoğu yoğunluk, fiziksel özellikler, mikrobiyolojik ve kimyasal analizler üzerine kurulmuştur. Bu yöntemlerden bazıları yeterince etkin değildir ve gıda hilelerini gerçekleştirenler tarafından kolaylıkla manipüle edilebilir, diğerleri zaman alıcı ve zararlı oldukları için rutin kullanım için uygun değildir. Bu nedenle, çeşitli spektroskopik teknikler, gıda sektöründe, kalite kontrolü ve güvencesi için gıdanın bütünlüğünü bozmayan, hassas ve hızlı analitik yöntemler olarak kabul görmüştür.

Spektroskopik tekniklerin, özellikle NIR ve MIR spektroskopisinin, son on yılda hem laboratuvar hem de tarım endüstrisinde değerli analitik yöntemler olduğu kanıtlanmıştır. Raman spektroskopisi ve üstün uzaysal görüntüleme teknikleri tarım endüstrisinde bazı özel uygulamalar bulmuş ve laboratuvarlarda aktif olarak kullanılmaktadır. Nitekim bu teknikler için ölçüm aksesuarları ve kemometrik analitik yöntemler halen gelişmektedir. Son zamanlarda yayınlanan çalışmalar, çeşitli gıda ürünlerinin kalite kontrolünde Raman spektroskopisinin ve üstün uzaysal görüntüleme tekniklerinin potansiyelini göstermektedir; bu da, gıda endüstrisinde bu tekniklerin gelecek vaat ettiğini göstermektedir. Titreşimsel spektroskopik tekniklerin gıdaların kalite ve doğrulama analizlerinde kullanılmasının potansiyel bir ihtiyaç olduğu ve ileri yıllarda doğrulama analizlerinde daha fazla kullanılacağı tahmin edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Nakyinsige, K., Man, Y.B.C., Sazili, A.Q. (2012). Halal authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science*, 91(3), 207-214.
- [2] Vandendriessche, F. (2008). Meat products in the past, today and in the future. *Meat Science*, 78(1), 104-113.
- [3] Hargin, K.D. (1996). Authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science*, 43(1), 277-289.
- [4] Lakshmi, V. (2012). Food adulteration. *International Journal of Science Inventions Today*, 1(2), 101-113.
- [5] Cserhâti, T., Forgács, E., Deyl, Z., Miksik, I. (2005). Chromatography in authenticity and traceability tests of vegetable oils and dairy products: a review. *Biomedical Chromatography*, 19(3), 183-190.
- [6] Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., Cho, B.K. (2015). A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration.

- Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 85-98.
- [7] Rushworth, M.F. (2009). Melamine and food safety in China. *The Lancet* 373, (9661), 353.
- [8] Wu, D., Shi, H., Wang, S., He, Y., Bao, Y., Liu, K. (2012). Rapid prediction of moisture content of dehydrated prawns using online hyperspectral imaging system. *Analytica Chimica Acta*, 726, 57-66.
- [9] Baeten, V., Dardenne, P. (2002). Spectroscopy: developments in instrumentation and analysis. *Grasas y Aceites*, 53, 45-63.
- [10] Luypaert, J., Massart, D.L., Heyden, Y.V. (2007). Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta*, 72, 865-883.
- [11] Andre, M. (2003). Multivariate analysis and classification of the chemical quality of 7-Aminocephalosporanic acid using near-infrared reflectance spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 75, 3460-3467.
- [12] Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P.T. (1993). Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis (2nd ed.). Singapore: Longman Scientific and Technical.
- [13] Newgard E.C. (2004). Near-Infrared Spectroscopy for Analysis of Agricultural Material. Final Reports for Physics Optical Spectroscopy 1-11.
- [14] Blanco, M., Villarroya, I.N.I.R. (2002). NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(4), 240-250.
- [15] Bajcsy, R., Lee, S.W., Leonardis, A. (1996). Detection of diffuse and specular interface reflections and inter-reflectance by color image segmentation. *International Journal of Computer Vision*, 17(3), 241-272.
- [16] Cozzolino, D., Murray, I. (2003). Identification of animal meat muscles by visible and near infrared reflectance spectroscopy. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37(4), 447-452.
- [17] Ding, H.B., Xu, R.J. (2000). Near-Infrared spectroscopic technique for detection of beef hamburger adulteration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2193-2198.
- [18] Gayo, J., Hale, S.A., Blanchard, S.M. (2006). Quantitative analysis and detection of adulteration in crab meat using visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1130-1136.
- [19] Gayo, J., Hale, S.A. (2007). Detection and quantification of species authenticity and adulteration in crabmeat using visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 585-592.
- [20] Alander, J.T., Bochko, V., Martinkauppi, B., Saranwong, S., Mantere, T. (2013). A review on optical nondestructive visual and near-infrared methods for food quality and safety. *International Journal of Spectroscopy* <http://dx.doi.org/10.1155/2013/341402> Article ID 341402, 1-36.
- [21] Twomey, M., Downey, G., McNulty, P.B. (1995). The potential of NIR spectroscopy for the detection of the adulteration of orange juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(1), 77-84.
- [22] Contal, L., Leon, V., Downey, G. (2002). Detection and quantification of apple adulteration in strawberry and raspberry purees using visible and near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 10(4), 289-299.
- [23] Sinelli, N., Casale, M., Egidio, V.D., Oliveri, P., Bassi, D., Tura, D., Casiraghi, E. (2010). Varietal discrimination of extra virgin olive oils by near and mid infrared spectroscopy. *Food Research International*, 43(8), 2126-2131.
- [24] Xie, L.J., Ye, X.Q., Liu, D.H., Ying, Y.B. (2008). Application of principal component radial basis function neural networks (PC-RBFNN) for the detection of water adulterated bayberry juice by near-infrared spectroscopy. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(12), 982-989.
- [25] Riovanto, R., Marchi, M. D., Cassandro, M., Penasa, M. (2012). Use of near infrared transmittance spectroscopy to predict fatty acid composition of chicken meat. *Food Chemistry*, 134(4), 2459-2464.
- [26] Sierra, V., Aldai, N., Castro, P., Osoro, K., Montes, A.C., Oliván, M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared spectroscopy. *Meat Science*, 78(3), 248-255.
- [27] Pasquini, C. (2003). Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of Brazil Chemistry Society*, 14(2), 198-219.
- [28] Garcia-Alvarez, M., Huidobro, J.F., Hermida, M., Rodriguez-Otero, J.L. (2000). Major components of honey analysis by near-infrared transmittance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5154-5158.
- [29] Kelly, J. D., Petisco, C., Downey, G. (2006). Application of Fourier transform midinfrared spectroscopy to the discrimination between Irish artisanal honey and such honey adulterated with various sugar syrups. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6166-6171.
- [30] Ruoff, K., Luginbuhl, W., Bogdanov, S., Bosset, J.O., Estermann, B., Ziolko, T., Amado, R. (2006a). Authentication of botanical origin of honey by near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6867-6872.
- [31] Downey, G., McIntyre, P., Davies, A.N. (2002). Detecting and quantifying sunflower oil adulteration in extra virgin olive oils from the eastern Mediterranean by visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(20), 5520-5525.
- [32] Zhang, L.G., Zhang, X., Ni, L.J., Xue, Z.B., Gu, X., Huang, S.H. (2014). Rapid identification of adulterated cow milk by non-linear pattern recognition methods based on near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 145, 342-348.
- [33] Mamani-Linares, L.W., Gallo, C., Alomar, D. (2012). Identification of cattle, llama and horse meat by near infrared reflectance or transmittance spectroscopy. *Meat Science*, 90(2), 378-385.
- [34] Liu, L. (2006). Geographical classification of wines using Vis-NIR spectroscopy (pp.1-78). China:

- School of Chemical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University. Master thesis.
- [35] Downey, G. (1998). Food and food ingredient authentication by mid-infrared spectroscopy and chemometrics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 17(7), 418-424.
- [36] Sun, D.W. (2009). Infrared spectroscopy for food quality analysis and control (1st ed., pp. 146-173). Elsevier Inc.
- [37] Hsu, C.P.S. (1997). Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry (pp. 247-282). Separation Sciences Research and Product Development Mallinckrodt, Inc.
- [38] Polshin, E., Aernouts, B., Saeys, W., Delvaux, F., Delvaux, F.R., Saison, D., Hertog, M., Nicolai, B.M., Lammertyn, J. (2011). Beer quality screening by FT-IR spectrometry: Impact of measurement strategies, data pre-processings and variable selection algorithms. *Journal of Food Engineering*, 106(3), 188-198.
- [39] Brindet, R., Kemsley, E.K., Wilson, R.H. (1996). Approaches to adulteration detection in instant coffees using infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71(3), 359-366.
- [40] Herringshaw, S. (2009). Application of infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of organic butter and determination of sugar in tomatoes (*Solanum lycopersicum*). Master thesis (pp. 1-54). The Ohio State University.
- [41] Santos, P.M., Pereira-Filho, E.R., Rodriguez-Saona, L.E. (2013). Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis. *Food chemistry*, 138(1), 19-24.
- [42] Halim, Y., Schwartz, S., Baldauf, N., Rodriguez-Saona, L.E. (2006). Direct determination of lycopene content in tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) by attenuated total reflectance infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of AOAC International*, 89(5), 1257-1262.
- [43] Martin, A.P., Palmer, W.M., Byrt, C.S., Furbank, R.T., Grof, C.P. (2013). A holistic high-throughput screening framework for biofuel feedstock assessment that characterises variations in soluble sugars and cell wall composition in sorghum bicolor. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 1-13.
- [44] Shapaval, V., Moretto, T., Suso, H.P., Asli, A.W., Schmitt, J., Lillehaug, D., Martens, H., Böcker, U., Kohler, A. (2010). A high throughput multicultivation protocol for FTIR spectroscopic characterization and identification of fungi. *Journal of Biophotonics*, 3(8-9), 1-10.
- [45] Cebi, N., Durak, M.Z., Toker, O.S., Sagdic, O., Arici, M. (2016). An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. *Food Chemistry*, 190, 1109-1115.
- [46] Kuswandi, B., Putri, F.K., Gani, A.A., Ahmad, M. (2015). Application of class-modelling techniques to infrared spectra for analysis of pork adulteration in beef jerkys. *Journal of Food science and Technology* 52(12): 7655-7668.
- [47] Dominguez-Vidal, A., Pantoja-de la Rosa, J., Cuadros-Rodríguez, L., Ayora-Cañada, M.J. (2016). Authentication of canned fish packing oils by means of Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 190, 122-127.
- [48] Rohman, A., Che Man, Y.B., Nurulhidayah, A.F. (2015). Fourier-Transform Infrared Spectra Combined with Chemometrics and Fatty Acid Composition for Analysis of Pumpkin Seed Oil Blended Into Olive Oil. *International Journal of Food Properties*, 18(5), 1086-1096.
- [49] Rohman, A., Man, Y.B.C. (2011). The use of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. *Food Chemistry*, 129(2), 583-588.
- [50] Zhong, J., Qin, X. (2016). Rapid quantitative analysis of corn starch adulteration in Konjac Glucomannan by chemometrics-assisted FT-NIR spectroscopy. *Food Analytical Methods*, 9(1), 61-67.
- [51] Jha, S.N., Jaiswal, P., Borah, A., Gautam, A.K., Srivastava, N. (2015). Detection and quantification of urea in milk using attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 926-933.
- [52] Hernández, K.U., Velázquez, T.G., Revilla, G.O., Abarca, N.A., Martínez, M.H. (2015). Development of chemometric models using infrared spectroscopy (MID-FTIR) for detection of sulfathiazole and oxytetracycline residues in honey. *Food Science and Biotechnology*, 24(4), 1219-1226.
- [53] Argyri, A.A., Jarvis, R.M., Wedge, D., Xu, Y., Panagou, E.Z., Goodacre, R., Nychas, G.J.E. (2013). A comparison of Raman and FT-IR spectroscopy for the prediction of meat spoilage. *Food Control*, 29(2), 461-470.
- [54] McCreery, R.L. (2001). Raman spectroscopy for chemical analysis. *Measurement science and technology*, 12(5), 653. John Wiley & Sons.
- [55] Li, L., Wang, H., Cheng, J.X. (2005). Quantitative coherent anti-Stokes Raman scattering imaging of lipid distribution in coexisting domains. *Biophysical journal*, 89(5), 3480-3490.
- [56] Freudiger, C.W., Min, W., Saar, B.G., Lu, S., Holtom, G. R., He, C., Tsai, J.C., Kang, J.X., Xie, X.S. (2008). Label-free biomedical imaging with high sensitivity by stimulated Raman scattering microscopy. *Science*, 322(5909), 1857-1861.
- [57] Roeffaers, M. B., Zhang, X., Freudiger, C.W., Saar, B.G., van Ruijven, M., van Dalen, G., Xiao, C., Xie, X.S. (2011). Label-free imaging of biomolecules in food products using stimulated Raman microscopy. *Journal of Biomedical Optics*, 16(2), 1-6.
- [58] Ozaki, Y., Cho, R., Ikegaya, K., Muraishi, S., Kawachi, K. (1992). Potential of near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy in food analysis. *Applied Spectroscopy* 46(10): 1503-1507.
- [59] Zou, M.Q., Zhang, X.F., Qi, X.H., Ma, H.L., Dong, Y., Liu, C.W., Guo, X., Wang, H. (2009). Rapid authentication of olive oil adulteration by Raman spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6001-6006.



- [60] Carmona, M.A., Lafont, F., Jiménez-Sanchidrián, C., Ruiz, J.R. (2015). Characterization of macadamia and pecan oils and detection of mixtures with other edible seed oils by Raman spectroscopy. *Grasas y Aceites*, 66(3), 1-9.
- [61] Beattie, J.R., Bell, S.E., Borggaard, C., Fearon, A., Moss, B.W. (2006). Prediction of adipose tissue composition using Raman spectroscopy: average properties and individual fatty acids. *Lipids*, 41(3), 287-294.
- [62] Beattie, R.J., Bell, S.J., Farmer, L.J., Moss, B.W., Patterson, D. (2004). Preliminary investigation of the application of Raman spectroscopy to the prediction of the sensory quality of beef silverside. *Meat Science*, 66(4), 903-913.
- [63] Bocker, U., Ofstad, R., Wu, Z., Bertram, H.C., Sockalingum, G.D., Manfait, M., Egelanddal, B., Kohler, A. (2007). Revealing covariance structures in Fourier transform infrared and Raman microspectroscopy spectra: a study on pork muscle fiber tissue subjected to different processing parameters. *Applied Spectroscopy*, 61(10), 1032-1039.
- [64] Herrero, A.M., Carmona, P., Careche, M. (2004). Raman spectroscopic study of structural changes in hake (*Merluccius merluccius L.*) muscle proteins during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(8), 2147-2153.
- [65] Marquardt, B.J., Wold, J.P. (2004). Raman analysis of fish: a potential method for rapid quality screening. *LWT-Food Science and Technology*, 37(1), 1-8.
- [66] Herrero, A.M. (2008). Raman spectroscopy for monitoring protein structure in muscle food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6), 512-523.
- [67] Boyacı, I.H., Temiz, H.T., Uysal, R.S., Veliöğlu, H.M., Yadegari, R.J., Rishkan, M.M. (2014). A novel method for discrimination of beef and horsemeat using Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 148, 37-41.
- [68] Wijaya, W., Pang, S., Labuza, T.P., He, L. (2014). Rapid detection of acetamiprid in foods using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). *Journal of Food Science*, 79(4), 743-747.
- [69] Di Anibal, C.V., Marsal, L.F., Callao, M.P., Ruisánchez, I. (2012). Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) and multivariate analysis as a screening tool for detecting Sudan I dye in culinary spices. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 87, 135-141.
- [70] Kumar, C.S. (Ed.). (2012). Raman spectroscopy for nanomaterials characterization. Springer Science & Business Media.
- [71] Gowen, A.A., O'Donnell, C.P., Cullen, P. J., Downey, G., Frias, J.M. (2007). Hyperspectral imaging - an emerging process analytical tool for food quality and safety control. *Trends in Food Science and Technology*, 18(12), 590-598.
- [72] Ariana, D., Lu, R. (2006). Visible/near-infrared hyperspectral transmittance imaging for detection of internal mechanical injury in pickling cucumbers. In ASABE annual international.
- [73] Rocha, W. F.D.C., Sabin, G.P., Marco, P.H., Poppi, R.J. (2011). Quantitative analysis of piroxicam polymorphs pharmaceutical mixtures by hyperspectral imaging and chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 106(2), 198-204.
- [74] Lu, G., Fei, B. (2014). Medical hyperspectral imaging: a review. *Journal of Biomedical Optics*, 19(1), 1-23.
- [75] Chaudhari, A.J., Darvas, F., Banding, J.R., Moats, R.A., Conti, P.S., Smith, D.J., Cherry, S.R., Leahy, R.M. (2005). Hyperspectral and multispectral bioluminescence optical tomography for small animal imaging. *Physics in Medicine and Biology*, 50(23), 5421-5441.
- [76] Daeid, N.N. (2013). IFSMS review papers 2013. In 17th Interpol international forensic science managers symposium, Lyon, France, 1-923p .
- [77] Williams, D.J., Feldman, B.L., Williams, T.J., Pilant, D., Lucey, P.G., Worthy, L.D. (2005). SPIE Proceedings, 5655, 134-141.
- [78] Huang, H., Liu, L., Ngadi, M.O. (2014). Recent developments in hyperspectral imaging for assessment of food quality and safety. *Sensor*, 14(4), 7248-7276.
- [79] ElMasry, G., Iqbal, A., Sun, D.W., Allen, P., Ward, P. (2011a). Quality classification of cooked, sliced turkey hams using NIR hyperspectral imaging system. *Journal of Food Engineering*, 103(3), 333-344.
- [80] ElMasry, G., Sun, D.W., Allen, P. (2011b). Non-destructive determination of waterholding capacity in fresh beef by using NIR hyperspectral imaging. *Food Research International*, 44(9), 2624-2633.
- [81] ElMasry, G., Barbin, D.F., Sun, D.W., Allen, P. (2012a). Meat quality evaluation by hyperspectral imaging technique: an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(8), 689-711.
- [82] ElMasry, G., Sun, D.W., Allen, P. (2012b). Near-infrared hyperspectral imaging for predicting colour, pH and tenderness of fresh beef. *Journal of Food Engineering*, 110(1), 127-140.
- [83] Kandpal, L.M., Lee, H., Kim, M.S., Mo, C., Cho, B.K. (2013). Hyperspectral reflectance imaging technique for visualization of moisture distribution in cooked chicken breast. *Sensors*, 13(10), 13289-13300.
- [84] Williams, P., Geladi, P., Fox, G., Manley, M. (2009). Maize kernel hardness classification by near infrared (NIR) hyperspectral imaging and multivariate data analysis. *Analytica Chimica Acta*, 653(2), 121-130.
- [85] Singh, C.B., Jayas, D.S., Paliwal, J., White, N.D. (2010). Identification of insect-damaged wheat kernels using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 73(2), 118-125.
- [86] September, D.J.F. (2011). Detection and quantification of spice adulteration by near infrared hyperspectral imaging. Graduate thesis. Stellenbosch University.
- [87] Fu, X., Kim, M. S., Chao, K., Qin, J., Lim, J., Lee, H., Garrido-Varo, A. Perez-Marin, D., Ying, Y.

- (2014). Detection of melamine in milk powders based on NIR hyperspectral imaging and spectral similarity analyses. *Journal of Food Engineering*, 124, 97-104.
- [88] Siripatrawan, U., Makino, Y., Kawagoe, Y., Oshita, S. (2011). Rapid detection of *Escherichia coli* contamination in packaged fresh spinach using hyperspectral imaging. *Talanta*, 85(1), 276-281.
- [89] Gaston, E., Frias, J.M., Cullen, P.J., O'Connell, C.P., Gowen, A.A. (2011). Hyperspectral imaging for the detection of microbial spoilage of mushrooms. Conference paper in Dublin Institute of Technology.
- [90] Wu, D., Sun, D.W. (2013a). Potential of time series-hyperspectral imaging (TS-HSI) for non-invasive determination of microbial spoilage of salmon flesh. *Talanta*, 111, 39-46.
- [91] Barbin, D.F., ElMasry, G., Sun, D.W., Allen, P., Morsy, N. (2013). Non-destructive assessment of microbial contamination in porcine meat using NIR hyperspectral imaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 180-191.
- [92] Wu, D., Sun, D.W. (2013b). Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: a review- Part II: applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 15-28.
- [93] Kim, M.S., Chen, Y.R., Mehl, P.M. (2001). Hyperspectral reflectance and fluorescence imaging system for food quality and safety. *Transactions-American Society of Agricultural Engineers*, 44(3), 721-730.
- [94] Kim, M.S., Lefcourt, A.M., Chen, Y.R., Kim, I., Chan, D.E., Chao, K. (2002). Multispectral detection of fecal contamination on apples based on hyperspectral imagery: Part II. Application of hyperspectral fluorescence imaging. *Transactions-American Society of Agricultural Engineers*, 45(6), 2039-2048.
- [95] Yao, H., Hruska, Z., Kincaid, R., Brown, R., Cleveland, T., Bhatnagar, D. (2010). Correlation and classification of single kernel fluorescence hyperspectral data with aflatoxin concentration in corn kernels inoculated with *Aspergillus flavus* spores. *Food Additives and Contaminants*, 27(5), 701-709.
- [96] Cho, B.K., Kim, M.S., Baek, I.S., Kim, D.Y., Lee, W.H., Kim, J., Lee, W.H., Kim, J., Bae, H., Kim, Y.S. (2013). Detection of cuticle defects on cherry tomatoes using hyperspectral fluorescence imagery. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 40-49.
- [97] Timlin, J.A., Carden, A., Morris, M.D., Bonadio, J.F., Hoffler, C.E., Kozloff, K.M., Goldstein, S.A. (1999). Spatial distribution of phosphate species in mature and newly generated mammalian bone by hyperspectral Raman imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 4(1), 28-34.
- [98] Fu, D., Holtom, G., Freudiger, C., Zhang, X., Xie, X.S. (2013). Hyperspectral imaging with stimulated Raman scattering by chirped femtosecond lasers. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(16), 4634-4640.
- [99] Qin, J., Chao, K., Kim, M.S. (2010). Raman chemical imaging system for food safety and quality inspection. *Transactions of the ASABE*, 53(6), 1873-1882.
- [100] Qin, J., Chao, K., Kim, M.S. (2014). High-throughput Raman chemical imaging for evaluating food safety and quality. In *SPIE Sensing Technology+ Applications* (pp. 91080F-91080F). International Society for Optics and Photonics.
- [101] Qin, J., Chao, K., Kim, M.S. (2011). Investigation of Raman chemical imaging for detection of lycopene changes in tomatoes during postharvest ripening. *Journal of Food Engineering*, 107(3), 277-288.
- 
-

## Bakteriyel Biyofilmlerdeki Antimikrobiyel Direnç Mekanizması

Emel Ünal Turhan<sup>1</sup>, Zerrin Erginkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadiri Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Bölümü, Kadiri, Osmaniye  
<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Balcalı, Adana

Geliş Tarihi (Received): 21.03.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 06.06.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [emelunalturhan@gmail.com](mailto:emelunalturhan@gmail.com) (E. Ünal Turhan)

☎ 0 328 888 00 90 📠 0 328 888 00 91

### ÖZ

Biyofilm, mikroorganizmaların canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri ekzopolimerik yapıda jelsi bir tabaka içine gömülü halde birbirlerine, bir katı yüzeye ya da bir ara yüzeye tutunarak oluşturdukları topluluk olarak tanımlanır. Gıda endüstrisinde biyofilm oluşumu gıdalarda bozulmalara, gıda işleme ekipmanlarında hasarlara ve patojen kontaminasyonları ile hastalıklara neden olduğu için istenmeyen bir durumdur. Biyofilmler antimikrobiyel maddelere karşı planktonik hücrelerden daha dirençlidirler. Biyofilmlerdeki bakterilerin antimikrobiyellere karşı gösterdikleri dirençten birçok olası mekanizma sorumludur. Biyofilmlerdeki direnç mekanizmasını etkileyen başlıca faktörler ekzopolisakkarit matriksi, enzimler, heterojenlik, hücresel persistans, metabolik aktivite, genetik adaptasyon, kitle algılama, stres cevapları, dış membran yapısı ve sızdırma pompaları'dır. Direnç mekanizmalarının tam olarak anlaşılması biyofilm oluşumunun önlenmesi ve kontrol edilmesinde fayda sağlayacaktır. Sonuç olarak etkili bir biyofilm kontrolü için araştırmacılar öncelikle direnç mekanizmaları üzerinde yoğunlaşmalı ve daha sonra koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu derlemede, gıda endüstrisindeki bakteriyel biyofilmlerin antimikrobiyel maddelere karşı gösterdikleri direnç mekanizması üzerinde durulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, Antimikrobiyel direnç, Gıda endüstrisi

### Mechanism of Antimicrobial Resistance in Bacterial Biofilms

#### ABSTRACT

Biofilm is defined as a community in which microorganisms adhere to a living or inanimate surface, embedded in a gelatinous layer in a self-produced matrix of extrapolymeric substances, adhered to each other, to a solid surface or to an interface. In food industry, biofilm formation is undesirable as they cause food spoilage, damages in food processing equipment and diseases due to pathogenic contamination. Biofilms are more resistant to antimicrobial agents than planktonic cells. There are various possible mechanisms responsible for antimicrobial resistance of the bacteria in biofilms. The main factors that affect resistance mechanism in biofilms are characterized as exopolysaccharide matrix, enzymes, heterogeneity, cellular persistence, metabolic activity, genetic adaptation, quorum sensing, stress responses, outer membrane structure and efflux pumps. A whole understanding of resistance mechanisms can provide benefits to prevent and control biofilm formation. As a result, researchers should initially focus on the mechanisms of resistance for effective biofilm control and then protective measures must be taken. In the present review, the resistance mechanisms of bacterial biofilms in food industry against antimicrobial agents are focused.

**Keywords:** Biofilm, Antimicrobial resistance, Food industry

## GİRİŞ

Mikrobiyologların çoğunluğu çalışmalarını mikroorganizmaların planktonik hücreleri üzerinde yoğunlaştırmışlardır. Ancak son zamanlarda biyofilmlerdeki tutunan bakteri formları üzerinde de durulmaya başlanmış ve ilgi çekici sonuçlar elde edilmiştir. Biyofilm konusu günümüzde mikrobiyolojideki en popüler konulardan biridir. Biyofilmler bakterileri koruyucu bir tabaka gibi sarar ve onlara direnç kazandırır [1-3]. Şimdiye kadar ağırlıklı olarak biyofilm kontrolü ile ilgili çalışmalar üzerinde durulmuş ancak biyofilm direnç mekanizması üzerinde pek durulmamıştır. Yeni antibiyofilm stratejileri geliştirilirken direnç mekanizmaları ile ilişkilendirilmesi elzemdir [1].

Biyofilmler ile ilgili daha önceki araştırmalarda çoğunlukla, su dağıtım sistemleri, atık su arıtma ve dış plakları üzerinde durulmakta ve bu konularla sınırlı tutulmaktaydı. Ancak gıda güvenliğini doğrudan ilgilendiren bir konu olması bakımından gıda endüstrisinin de ilgisini çekmektedir [4]. Gıda işleme ekipmanlarında ve gıda ile temas eden yüzeylerde oluşan biyofilmler gıda ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesini ve güvenliğini tehdit eden kontaminasyon kaynağı olarak rol oynamakla birlikte gıda kaynaklı hastalıklara ve ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bu nedenle, biyofilm kontrolü ve önlenmesi gıda endüstrinin önceliği olmuştur [5-7]. Gıda endüstrisinde sıklıkla *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. ve *Vibrio* spp. tarafından oluşturulan biyofilmler izole edilmiştir [8-10].

Biyofilmlerdeki bakteriler yüksek konsantrasyonda ve birbirlerine yakın temasta bulunurlar. Biyofilm matrisi hücre etkileşimlerini kolaylaştırarak besin ve bileşikler konsantrasyonunu abiyotik ve biyotik muamelelerden bakteriyi korur. Biyofilmler genetik elementlerin transferini, bakteriyel dayanım ve kalıcılığı geliştiren ideal koruyucu yapılar sağlayabilir, nitekim bu elementlerde biyofilm oluşumunu destekleyebilir. Sonuçta, biyofilmler bakterileri antimikrobiyellere karşı korudukları için antimikrobiyel direncin ortaya çıkmasında ve yayılmasında rol oynayabilirler [11].

Biyofilm kontrolü ve önlenmesinde geleneksel antimikrobiyel protokoller çoğunlukla başarılı olamamaktadır. Bakterilerin geçen zamanla birlikte evrim göstermesi ve stres faktörlerinde hayatta kalmak için bir takım mekanizmalar geliştirmesi biyofilm kontrolünü zorlaştırmıştır [12]. Biyofilmlerin antimikrobiyel ajanlara karşı daha dirençli olmalarını sağlayan belli başlı özellikleri; ekzopolisakkarit (EPS), ekzopolimerlerle etkileşimler, popülasyondaki fizyolojik heterojenlik, direnç geni transferi ile dirençli fenotiplerin gelişimi, antimikrobiyellerin çapraz direnci, biyofilmlerin persister hücreleri, tutunan hücrelerin yavaş gelişme hızı vb. şeklinde sıralanabilir [13-15].

Bakteriyel biyofilmlerin antimikrobiyel muamelesine karşı gösterdikleri artan direnç, biyofilm kontrolünde yeni yöntemlerin uygulanmasını gerektirir. Bu sebepten ötürü

her bir biyofilm sorunu ele alınırken oluşumları ve direnç mekanizmaları göz önünde bulundurulmalıdır [16]. Bu derlemede, gıda endüstrisindeki biyofilm oluşumu ve biyofilmlerdeki antimikrobiyel direnç mekanizmaları araştırılmıştır.

## GIDA ENDÜSTRİSİNDEKİ BİYOFİMLER

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka (EPS) içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir [17-19].

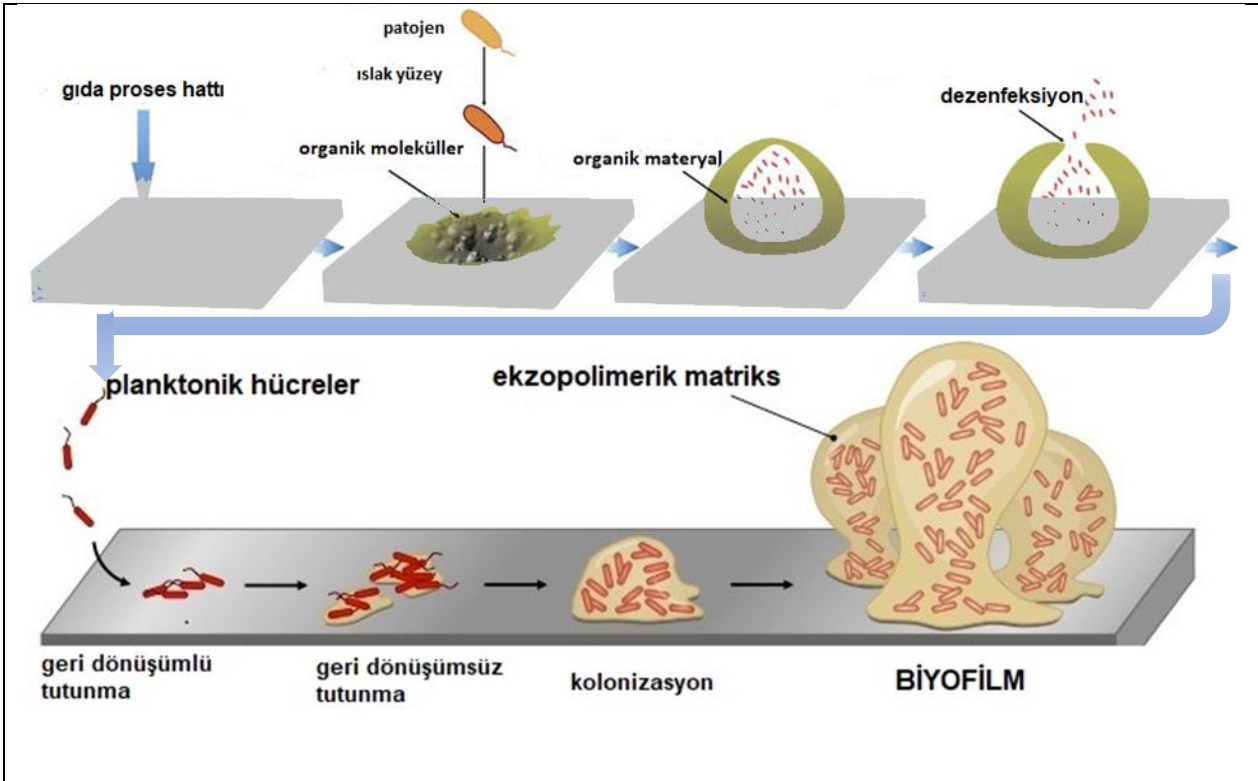
Gıda endüstrisindeki biyofilm oluşumu Şekil 1'de özetlenmiştir. Gıda endüstrisindeki biyofilm oluşumu genellikle gıda işleme hatlarında kullanılan alet ekipmanının yüzeyinde biriken organik moleküllerin bakterileri cezbetmesiyle başlar. Organik moleküllerden dolayı alet ekipmana bulaşan bakterilerin dayanıklı hücreleri (persisterler) temizlik ve dezenfeksiyon işlemleri gibi stres faktörlerine direnç göstererek hayatta kalırlar (stres cevabı) ve alet ekipmanının yüzeyine geri dönüşümlü olarak tutunurlar. Geri dönüşümlü tutunmada bakteri yüzeyin yakınındadır, ancak henüz yüzeye tam olarak temas etmemiştir. Bakterinin yapmış olduğu zayıf bağların kalıcıya dönüşmesi ile ise dönüşümsüz tutunma gerçekleşir. Dönüşümsüz tutunmada bakteri hücreleri flagella ve pili gibi organelleri ile ve EPS oluşturarak yüzeylere tutunur. Geri dönüşümsüz tutunan hücreler, hücre-hücre adezyonu ve hücre gen ekspresyonu ile yüzeyde koloniler oluşturup çoğalırlar. Oluşan mikrokoloniler ise kitle (quorum) algılama sistemleri ile bakteriyel biyofilmleri oluştururlar [8, 20-23].

Biyofilm oluşumu canlı hücrelerde veya cansız yüzeylerde meydana gelebilir [14, 20]. Biyofilm oluşumu; diğer bakterilerin varlığı, besin miktarı, sıcaklık, oksijen miktarı ve pH gibi faktörlerden etkilenir [6]. Biyofilmler tek bir mikroorganizma türü tarafından oluşturulabileceği gibi birden fazla türü de yapısında barındırabilir. Farklı türlerden oluşan biyofilmlerde her tür kendi mikro kolonisini oluşturur ve bu mikro koloniler birbirlerinden su kanalları aracılığı ile ayrılmışlardır. Su kanalları içinde devam eden su akışı besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu sağlar [21, 22]. Biyofilm bileşiminin %98'i sudan oluşmaktadır ve bileşiminde bulunan diğer maddeler ekstrasellüler matris yapı ile birbirlerine tutunmaktadır. EPS'ler biyofilmlerin morfolojik, yapısal ve fizikokimyasal özelliklerinden sorumludur. EPS'nin bileşimi polisakkarit, protein, nükleik asit, teikoik asit, fosfolipit ve diğer polimerik maddelerden oluşmakta ve biyofilmlerin %75-90'ını oluşturmaktadır [8, 20, 23]. Biyofilm yapısında bulunan su, bakterinin oluşturduğu EPS'ye bağlanmaktadır [24]. EPS'ler biyofilm oluşturarak mikroorganizmaların koloni oluşmasına ve yüzeye bağlanmasına yardımcı olmaktadır. Hücrelerin çoklu katmanları ve EPS antimikrobiyellerin nüfuz etmesini ve iç katmanlara ulaşmasını zorlaştıran kompleks bir yapı oluşturabilirler [15, 25]. Böylece organizmayı osmotik strese, faj bulaşmasına, toksik bileşiklere, dezenfektanlara ve antibiyotiklere karşı koruyabilmektedirler [22]. Biyofilmlerdeki mikroorganizmalar antimikrobiyel bileşenlere karşı

planktonik formlarından 10-1000 kat daha dirençlidirler [12, 14, 15, 17].

Gıda endüstrisinde biyofilm oluşumu genellikle yetersiz veya eksik temizleme işlemlerinden kaynaklanmaktadır. Organik moleküller her türlü yüzeyde birikebilir ve üretimde kullanılan su mikrobiyel gelişim için iyi bir ortam sağlayabilir. Ayrıca substratın fiziksel karakteristikleri de biyofilm oluşumundaki ilk aşama olan tutunmayı etkilemektedir [22, 26]. Endüstriyel tesislerin proses hatlarında kir birikme ihtimalinin olduğu contalar, çıkmaz uçlar, eklemeler, valfler, köşeler, kırıklar veya çatlaklar gibi biyofilm oluşumunu tetikleyecek kritik noktalar mevcuttur. Biyofilm oluşumu endüstriyel düzeyde kullanılan alet ekipmanın zarar görmesine veya etkinliğinin azalmasına yol açarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır [7, 21]. Ayrıca halk sağlığını tehdit eden patojen ve gıdaların bozulmasına neden olan mikroorganizmaların birikimine neden olması ile de

istenmeyen bir durumdur. Biyofilmler genellikle, geliştikleri ortam koşullarına, yani sıcaklık, pH ve mevcut besin türüne göre değişen çeşitli bakteri türleri tarafından oluşturulabilmektedir [27]. Gıda endüstrisinde biyofilm oluşumuna neden olan mikroorganizma türleri üretim alanına göre değişmektedir. Süt endüstrisinde; *Enterobacter* spp., *Listeria* spp., *Lactobacillus* spp., *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., balık işleme endüstrisinde; *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Bacillus* spp., *Aeromonas*, *Pseudomonas* spp., kümes hayvanları endüstrisinde; *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., et ensütrisinde *E. coli* O157:H7, *Acinetobacter calcoaceticus* ve son olarak hazır gıda endüstrisinde; *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 mikroorganizmalarının neden olduğu biyofilm oluşumlarına rastlanılmıştır [28].



Şekil 1. Gıda endüstrisinde biyofilm oluşum aşamaları [22, 23 ve 28'den modifiye edilerek uyarlanmıştır]

## BİYOFİLM KONTROLÜ

Mikrobiyel kontrolün amacı, mikroorganizmaların ve bunların aktivitelerinin kabul edilebilir bir düzeye getirilmesinin yanı sıra proses ekipmanı üzerinde biyolojik birikim oluşumunun önlenmesi ve kontrol edilmesidir [26, 27]. Gıda endüstrisinde hijyen sağlamaya yönelik odaklanma antimikrobiyellerin aşırı kullanımıyla sonuçlanmış ve bu durum antimikrobiyel direncin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Dezenfeksiyonda uygulanan yanlış işlem parametreleri (dezenfektan konsantrasyonu, sıcaklık ve muamele süresi) bakterilerin inhibisyonunu zorlaştırmış ve bu bakterilerin direnç kazanmasına neden olmuştur. Antimikrobiyel direncin ortaya çıkışı gıda endüstrisi için

ekonomik sorun olarak değerlendirilir ve gerek halk sağlığı açısından gerekse üretici açısından istenmeyen bir durumdur. Etkili bir dezenfeksiyon ve temizleme sistemi ile antimikrobiyel direnç sorununun üstesinden gelinbilir [26]. Biyofilm oluşumunun engellenmesinde birincil ve en önemli nokta hücrelerin yüzeye tutunmalarını engellemek için düzenli ve etkin temizlik/dezenfeksiyon işlemlerinin yapılmasıdır [22]. Biyofilm kontrolünde çoğunlukla kimyasal bazı antimikrobiyel madde kullanımına başvurulmakla birlikte son yıllarda enzim, bakteriyosin, faj, ultrasonikasyon vb. uygulamaları gibi yeni kontrol yöntemleri üzerinde de durulmaya başlanmıştır [28-30]. Biyofilmleri yok etmek veya ortadan kaldırmak için kullanılan antimikrobiyel kimyasal maddeler EPS'e nüfuz etmelidir ve mikrobiyel

hücreye geçişi sağlanmalıdır [22, 25]. Biyofilmlerin yok edilmesinde bakterisidal aktivitenin biyofilm çevreleyen ortamdan da etkilendiği bilindiği için doğru bir temizlik planı yapılması gerekir. Antimikrobiyel maddelerin aktivitesi üzerinde pH, su sertliği, ortamda diğer katkı maddelerinin bulunması ve sıcaklık gibi çevresel faktörler ile antimikrobiyel konsantrasyonu, maruz kalma süresi, organik bileşiklerin varlığı, mikroorganizmaların türü ve gelişme hızı gibi diğer faktörler etkili olmaktadır [27]. Logaritmik fazdaki hücreler antimikrobiyel maddelere durgun fazdaki hücrelere göre daha duyarlıdır [17]. Biyofilm hücreleri biyofilmlerin hücrelere difüzyonunu engelleyen fizyolojik heterojenliklerinin ve EPS varlığının bir sonucu olarak stres faktörlerine karşı daha dirençlidirler [25].

Biyofilm gelişimi mikroorganizmaya bir takım avantajlar sağlamıştır. Bu avantajlar; (i) antimikrobiyel ajanlardan koruma, (ii) mikroorganizma gelişimi için gerekli olan besinleri sağlama, (iii) su moleküllerinin daha çok bağlanmasını sağlama ve böylece kuruma ihtimalinin düşmesi ve (iv) plazmit transferini kolaylaştırması olarak sıralanabilir. Biyofilmin mikroorganizmaya sağlamış olduğu tüm bu avantajlar ise mikrobiyel inaktivasyonu zorlaştırmıştır [4].

### ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ MEKANİZMASI

Antimikrobiyel direnç mikrobiyel gelişimi durdurmaya veya yok etmeye yönelik olarak uygulanan antimikrobiyel bir maddeye karşı bir mikroorganizmanın gösterdiği dirençtir. Mikroorganizmalar çok çeşitli mekanizmalarla direnç gösterebilmektedirler [21]. Antimikrobiyel etki mekanizmasında mikroorganizmada minimum inhibitör konsantrasyonu ve bunun sonucunda oluşan biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler dikkate alınmaktadır. Antimikrobiyel etki, aktif madde ile mikrobiyel hücredeki spesifik hedefler (hücre duvarı, sitoplazmik membran, membran enzimleri, sitoplazma ve genetik materyal) arasındaki etkileşim olarak tanımlanabilir. Hücre duvarından kaynaklanan ek bir korumaya sahip olan gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilere göre antimikrobiyel maddelere karşı daha dirençlidirler [27]. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerdeki potansiyel hedef bölgeleri; hücre duvarı, dış membran, stoplazmik membran, fonksiyonel ve yapısal proteinler, DNA, RNA ve diğer sitozolik bileşiklerdir [24].

Bakteriler zararlı bir stres ortamına maruz kaldıklarında canlılıklarını sürdürmek için tüm imkânlarını kullanacaklardır. Çevresel koşullar gibi dış stres faktörlerinin farklı mikroorganizmalar üzerinde farklı inhibisyon ve/veya inaktivasyon etkileri vardır. Normal çevre koşullarındaki herhangi bir eksiklik mikrobiyel gelişme hızının düşmesine neden olur. Biyofilmler antimikrobiyellerin sub-letal dozlarına maruz kaldıklarında sadece minör hücre hasarları görülür. Bakteriyel hücrelerin fenotiplerindeki bu değişiklikler ve gen ekspresyonunun tetiklenmesi daha dirençli türlerin ortaya çıkmasıyla sonuçlanır [26]. Direnç mekanizmaları, canlı mikroorganizmaların hayatta kalmak için sürekli değişen çevreye cevap vermek zorunda oldukları araçlardır. Direnç bir

mikroorganizmanın belirli koşullar altında belli bir kimyasal muameleye nisbi duyarsızlığı, canlılığı veya çoğalması olarak da tanımlanabilir. Direnç çeşitleri içsel veya doğal (fenotipik), kazanılmış (genotipik) ve mutasyon olmak üzere üçe ayrılır. Doğal veya içsel direnç, mikroorganizmanın kalıtsal özelliklerinden kaynaklanan cins veya türe özgü antimikrobiyel maddelere dayanabilme yeteneğidir. Genellikle plazmitlerin aracılık ettiği kazanılmış dirençte ise bakteriler yatay gen transferi ile antibiyotik direnci kazanabilirler. Bu direnç mekanizması ile bakterinin sahip olduğu genetik materyal aynı türe ait başka bir bakteriye hatta farklı türdeki bakterilere dahi taşınabilir. Son olarak mutasyonlar ise direnç gelişiminde pek fazla rol oynamamakla birlikte genomda bulunan birçok bölgede genetik değişikliklere neden olabilirler [24, 27].

Bağlı hücreler planktonik hücreler ile karşılaştırıldığında antimikrobiyellere karşı daha dirençli bir fenotipe sahiptirler [5, 27]. Yani biyofilm hücreleri antimikrobiyel ajanlara karşı planktonik hücrelerden daha dirençli olup antimikrobiyel ajanlarla teması engelleyen ya da azaltan bariyere sahiptirler [10, 22, 31]. Planktonik hücrelerin dezenfektanlara duyarlılığını belirlemede yayınlanan iyi bilinen standartların (EN 1040,NF T 150) aksine biyofilm hücrelerinin dezenfektanlara duyarlılığını değerlendirmede standart bir yöntemle rastlanamamıştır. Ancak planktonik hücreler için hazırlanan standartlar biyofilmlere uyarlanabilir [14, 32]. Biyofilm hücrelerindeki direnç; planktonik veya biyofilm popülasyonunda aynı düzeyde indirgemeyi (inhibisyonu) sağlamak için gereken antimikrobiyel madde konsantrasyon oranı ( $D_k$ ) (Eşitlik 1) veya süre oranı ( $D_s$ ) (Eşitlik 2)ölçülerek değerlendirilebilir, ya da aynı zaman periyodunda aynı konsantrasyona maruz bırakıldıktan sonraki elde edilen indirgeme (inhibisyon) karşılaştırılarak değerlendirilebilir. Literatürlerden edinilen bilgiye göre mikroorganizma türüne ve kullanılan antimikrobiyel çeşidine göre bu oran  $D_k$  için 1'den 1000'e ve  $D_s$  için 20'den 2160'a kadar uzanmaktadır.

$D_k$ = Biyofilm inhibisyonu için gerekli antimikrobiyel madde konsantrasyonu/planktonik hücre inhibisyonu için gerekli antimikrobiyel madde konsantrasyonu (1)  
 $D_s$ =Biyofilm inhibisyonu için gerekli süre/ planktonik hücre inhibisyonu için gerekli süre (2)

Biyofilmlerin antibiyotiklere olan direnç mekanizması ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve iyi bilinmektedir ancak gıda koruyucuları, dezenfektanlar ve antiseptiklere direnç ile ilgili çalışma sayısı nispeten azdır ve hala tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır [24, 32]. Biyofilmlerin antimikrobiyellere karşı oluşturdukları yaygın direnç mekanizmaları "ekzopolisakkarit matriksi, enzimler, heterojenlik, hücresel persistans, metabolik aktivite, genetik adaptasyon, kitle algılama, stres cevapları, dış membran yapısı ve sızdırma pompaları" şeklinde sıralanabilir [27].

### EPS Matriksi-Glikokaliks

Biyofilm tabakası dezenfektan madde geçirgenliğine engel olarak biyofilm içerisindeki bakterinin direnç kazanmasına yardımcı olmaktadır. Biyofilm yapısındaki

bu jelimsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen “ekzopolisakarit” ya da “ekzopolimer” (EPS) adı verilen polisakarit bazlı ağ yapısıdır [24]. Biyofilm tabakasında EPS yerine de kullanılan kapsül veya kılıf gibi terimlerle de ifade edilen glikokaliks de görev almaktadır [16].

Lifli polisakaritler veya globüler glikoproteinler ve sudan oluşan glikokaliks (kapsül) biyofilmlerin ayrılmaz bir parçasıdır ve kimyasal olarak aktif bir bariyer gibi düşünülebilir. Bakterilerin antibiyotiklere ve diğer antimikrobiyel ajanların bileşenlerine karşı direnci glikokaliks matrisi tarafından desteklenir [33, 34, 35]. Glikokaliks antimikrobiyel ajanları adsorbe ederek mikrobiyel direnci artırır. Glikokaliks tabakası ağırlığının %25'ine kadar antibakteriyel molekülü adsorbe edebilir. Matrisin adsorpsiyon alanı biyositlerin ulaşımını sınırlandırır ve ekzoenzimleri tutar. Ekzoenzimler biyositleri indirgeyerek antimikrobiyel aktivitelerini yavaşlatır [36].

Mikroorganizmaların inaktive edilebilmeleri için yeterli konsantrasyonda antimikrobiyel madde ile muamele edilmeleri gerekmektedir. Ancak biyofilmlerdeki EPS matrisi antimikrobiyel maddelerin hedef bölgeye istenen konsantrasyonda ulaşmasına engel olmakta ve bir bariyer görevi görerek mikroorganizmaya direnç kazandırmaktadır [14]. Anyonik EPS matrisi toksik katyonik ağır metalleri, katyonik antimikrobiyel peptitleri ve pozitif yüklü antibiyotikleri (aminoglikozitler) bağlayabilir. Ancak beta-laktam gibi nispeten yüksüz antibiyotiklerde böylesi bir bağlanma söz konusu değildir. Genelde, antibiyotikler EPS matrisine ya çok az nüfuz ederler ya da hiç giremezler. Bundan dolayı antibiyotiklerin EPS matrisindeki düşük penetrasyonu antibiyotik direncinde EPS matrisinin çok da etkili olmadığını düşündürmüştür [1].

### Enzim Kaynaklı Direnç

Bakteriler, bazı antimikrobiyel maddeleri yıkacak ya da inaktive edecek enzim salgılayabilirler. Daha az reaktif veya yüksüz antimikrobiyel moleküllerin enzimler ile inaktivasyonu biyofilmlerin direnç kazanmasına yol açar. Enzim kaynaklı difüzyon kısıtlaması ile, glikokalikste enzimler konsantre hale gelmekte ve duyarlı antimikrobiyeller nötralize edilmektedir [13]. Biyofilmlerdeki enzim varlığı ile aynı zamanda aromatik fenolik ve diğer ağır metaller gibi toksik bileşikler indirgenerek detoksifikasyon gerçekleştirilir ve biyofilmlerin toksik bileşenlere karşı dayanımı sağlanır [14]. Özetle antimikrobiyel bileşikleri indirgeyen enzimlerin üretimi biyofilmlere enzim kaynaklı direnç özelliği sağlar [16]. Gram negatif bakterilerde bulunan beta laktamaz enzimi beta laktam antibiyotiğini hidrolize ederek bu antibiyotiğe olan duyarlılığı ortadan kaldırır. Bir diğer antibiyotik grubu olan aminoglikozitler; asetiltransferaz, nükleotidiltransferaz ve fosfotransferazlar ile enzimatik degradasyona maruz bırakılarak mikroorganizmanın bu gruptaki antibiyotiklere karşı dirençli olmasını sağlamıştır. Enzimatik degradasyon ile antibiyotikler bağlanma kapasitelerini kaybederler ve böylece antimikrobiyel aktivite sergileyemezler [21].

### Fizyolojik Heterojenlik

Bakterilerin biyofilmlerdeki yoğunlukları biyofilm tabakasındaki besin maddeleri ve oksijen konsantrasyonuna göre değişmektedir. Biyofilmin en dış kısımlarında yerleşen bakteriler besin maddelerine ve oksijene derinlerdeki bakterilere göre daha rahat ulaşabilmekte ve bu durum bakteri popülasyonu içinde bir heterojenliğe yol açmaktadır [26, 27].

Mikrobiyel popülasyondaki genotipik ve fenotipik heterojenliğin kaynağı biyofilmlerin üç boyutlu yapısından ileri gelmektedir. Heterojenlik; antimikrobiyel stres gibi istenmeyen koşullara maruz kalma durumunda mikrobiyel popülasyonların adaptasyon yeteneğini artırarak hücrelerin dayanıklılık kazanmasını sağlar [10, 14]. Biyofilm tabakasına nüfuz eden oksijen ve besin miktarı kimyasal heterojenliğe neden olarak bakterinin gelişme hızı ve metabolizmasını etkilemektedir. Besinlerin iç tabakaya zayıf difüzyonu bakterideki metabolik potansiyelin sınırlandırılmasına ve biyofilm matrisinin içinde gelişimin azalmasına sebep olur [37]. Biyofilm tabakasına nüfuz eden bileşenlerden kaynaklanan kimyasal heterojenliğin bir sonucu olarak biyofilmlerde fizyolojik heterojenlik ortaya çıkar. Fizyolojik heterojenlik biyofilmlerin iç tabakasında görülen oksijen ve besin eksikliği durumunda özel bir koruyucu faktörün ortaya çıkmasına ve biyofilmlerin direnç kazanmasına neden olur [1, 33]. Biyositler metabolik olarak aktif bakterileri inhibe eder, ancak durağan gelişme fazındaki bakteri antimikrobiyel ajanlara daha az duyarlıdır ve bu durum onları antimikrobiyel etkiden korur. Sonuçta, antimikrobiyel ajanlara karşı bakteriyel biyofilmlerdeki artan direnç metabolik gelişme hızı heterojenliği fikrini güçlendirmiştir [32].

### Hücresel Persistans (Dayanım)

Persisterler antimikrobiyel ajanlara toleranslı popülasyonlardır ve şiddetli kronik hastalıklardan sorumludurlar. Persisterler stres koşullarında hayatta kalmak için fenotipik olarak değişim gösterirler ve dormant (durağan) forma geçerler [12]. Persister hücrelere durgun fazdaki planktonik kültürlerin bazılarında ve biyofilmlerde rastlanılmaktadır. Durgun fazdaki bakteri stres koşullarında persister hücreleri ile kendilerini korumaya alırlar. Biyofilmlerde aynı durgun fazdaki hücre gibi kendisini korumaya almak için persister üretir. Biyofilmlerdeki persister hücreler fenotipik değişiklikler gösterip dezenfektanların hedef bölgelerini bloke edebilir ve dezenfektanlara karşı direnci ortaya çıkarabilir [14].

Bakterilerin gelişme fazlarıyla kontrol edilen persister hücrelerin oluşumu hızla yayılır ve persisterler ölümcül dozlardaki antimikrobiyel ajanların varlığında bile hayatta kalır. Durgun fazdaki bakteri yüksek düzeylerde persister hücre üretmiştir ve bu durum biyofilmlerdeki artan dirençle ilişkilendirilmiştir [1, 17]. Glikokaliks matrisi immün sistemi korumak için biyofilm persisterlerine yardım eder. Tutunan bakteriyel popülasyonda antibiyotiklerin sonlandırılmasının ardından, persister hücreler bakteriyel biyofilmlerin

gelişimini tekrardan tetiklemeye başlarlar. Persisterler çoklu ilaç direnci proteinlerinin üretimi için antibiyotiklerle rekabet eder. Antibiyotikler inhibisyonun ziyade hedef hücrelerin fonksiyonlarını bozarak bakterisidal etki gösterirler. Persisterlerin tolerans olayı aynı zamanda programlı hücre ölümüyle ilişkilendirilmiştir buna karşın antimikrobiyal bileşiklerin etkisi hücrelerde zarara yol açar ancak tam bir hücre ölümü gerçekleşmez programlı hücre ölümünü dolaylı olarak tetikler [32, 38].

### Metabolik Aktivite - Durgun Faz Fizyolojisi

Bakteriler antimikrobiyal maddelerin hedef aldığı metabolik yolları iç değişikliklerle modifiye ederek stres koşullarında kendilerini korumaya alırlar. Bakterinin yaptığı bu fenotipik değişiklikler antimikrobiyal maddenin hedef bölgeye ulaşmasını engelleyerek bakteriyeye direnç kazandırmış olur [39-43].

Biyofilmler bilindiği üzere çok katmanlı yapılardan oluşmaktadır ve biyofilmlerin merkezine doğru gidildikçe oksijen miktarı, gelişme hızı, protein sentezi ve metabolik aktivite değişiklik göstermektedir. Biyofilmin yüzeyinde mikrobiyal aktivite yüksek seviyede iken derinlere yani merkeze doğru ilerledikçe mikrobiyal aktivite düşmekte veya tamamen durmaktadır yani durgun faz durumuna geçmektedir. Biyofilmlerde antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılığın azalmasındaki sebeplerden biri de budur [39].

Biyofilm direnci biyofilme biyofilm spesifik gelişmenin zorlanması ile açıklanmıştır. Mikrobiyal hücrelerin fizyolojik durumuna yani gelişme fazlarına ve buldukları ortamın özelliklerine göre bakterisitlere karşı gösterdikleri duyarlılık değişebilmektedir. Besinlerin sınırlı düzeyde bulunması bariyer bileşimini etkiler ve bakteriyel hücre zarfını (hücre zarı ve hücre duvarı) değiştirir. Biyofilmler bakterisitlerin öldürücü dozlarına maruz kaldıktan sonra, dirençli hücre popülasyonu fenotipik adaptasyon gösterir [1]. Örneğin, *E. coli*'deki sıcaklık ve besin eksikliği stresleri UV ışınlarına veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı direnci tetikler. Enterokokal hücrelerde oksidatif stresten sonra antioksidatif enzimler artan, prooksidatif enzimler ise azalan yönde eğilim gösterir. Ancak enterokokların fenotipik olarak dirençli oldukları bakterisitlerin ortadan kalkmasıyla birlikte enzimlerde görülen bu eğilim kaybolmaya başlar. Özetle biyofilmdaki besin eksikliğinin yavaş gelişmeye ve açlık durumuna neden olduğu ve direnç mekanizmasını tetiklediği ileri sürülmüştür [28, 32].

### Genetik Adaptasyon

Bakteriler genetik adaptasyon ile antimikrobiyal maddelere karşı direnç kazanabilirler. Bakterinin sahip olduğu genetik materyal aynı türe ait başka bir bakteriyeye hatta farklı türdeki bakterilere dahi taşınabilir. Bakterilerdeki genetik adaptasyon mekanizması, genlerde birbirini takip eden mutasyon ve rekombinasyonlar ile yeni genetik materyal kazanarak veya mevcut olan genetik materyalin sunumu ile işlemektedir. Bakterilerin ortama genetik adaptasyon göstererek, büyüme ve çoğalmasını devam ettirebilmek

için oluşturdukları biyofilmler, bakterinin adaptasyonu ile ilgili en önemli örnektir [28, 31, 34, 43].

Genetik adaptasyon; biyofilmlerdeki duyarlılığı azaltmak ve farklı fenotiplere uyum sağlamak için istenir. Stres koşulları altında yavaş gelişen veya durağan (dormant) mikrobiyal popülasyonlar genetik adaptasyon ile dirençli hale gelirler [1, 12]. Biyofilmlerdeki genetik transfer oranı planktonik hücre türlerine göre daha yüksektir [20]. Özellikle oksidatif strese maruz kalan mikrobiyal hücreler genetik adaptasyon ile çoklu ilaç direnci göstermektedirler [39]. Çoklu antibiyotik direnci operonları, *E. coli*'de çeşitli genlerin ortaya çıkışını kontrol eden ve çoklu ilaç direnci (antibiyotikler, organik çözücüler ve diğer dezenfektanlar) fenotipini destekleyen geniş çaplı düzenleyicilerdir. *E. coli*'de "kodlayıcı katalizörler; süperoksit dismutazları, hidroperoksit redüktazları ve alkil glutatyon redüktazları yanı sıra DNA onarım enzimleri" gibi çeşitli savunma genleri mevcuttur. Bakterilerin çoğu fermentatif olmakla birlikte yükseltgen maddelere maruz kaldıklarında enzimleri indirgeyip tamir eden oksidantlar üreterek stres cevabı verirler. Burada "oxyR ve soxR" gibi çeşitli düzenleyici genler bahsedilen stres cevabını aktif hale getirir ve intraselüler redoks potansiyelini belirlerler [32]. Başka bir çalışmada ise *Streptococcus mutans*'ın farklı yüzey koşullarında biyofilm oluşumlarının genetik adaptasyon ile mümkün olduğu bildirilmiştir [44].

### Kitle (quorum) Algılama

Bakteriler sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurarlar ve belli bir yoğunluğa (yeterli çoğunluk) ulaştıklarında toplu davranış şekli sergileyip her zamankinden farklı fenotipik özellikler gösterirler. Bakterilerin yeterli sayıda çoğunluğa ulaştıklarında göstermiş oldukları bu fenotipik değişiklikler onları olumsuz koşullara karşı daha dirençli hale getiren "kitle algılama" mekanizması ile açıklanmaktadır. Bu mekanizma sayesinde bakterilerde iş birliğinin devamı, enzimatik aktivitelerin düzenlenmesi, virülans özelliklerin ortaya çıkarılması ve planktonik formda iken sahip olmadıkları yeni özelliklerin kazanılması mümkün olmaktadır [43].

Bakterilerin kitle algılama ile kurmuş oldukları interaksyonlar biyofilm yapısının şekillenmesinde rol oynamaktadır. Biyofilmlerdeki bakterilerin haberleşmesini sağlayan hücre-hücre interaksyon prosesi kitle (quorum) algılama ile bakterinin fonksiyonunu düzenler [16, 23].

Bakterilerdeki iletişim mekanizması çoğunlukla düşük moleküler ağırlıklı sinyal moleküllerinin üretimine bağlıdır. Bakterilerin hücre yoğunluğu düşük olduğunda sinyallerin hücre dışı konsantrasyonu da düşük olacak ve ortaya çıkamayacaktır. Ancak biyofilm popülasyonundaki hücre yoğunluğu arttıkça, bakterinin algılayıp cevap verebileceği sinyal moleküllerine olanak sağlayan kritik sinyal konsantrasyonuna ulaşılacaktır [6, 7]. Biyofilm oluşumunun ilk aşamasındaki tutunma safhasına dahil olan Pili (fibril-fimbriae) ve flagella gibi hücre dışı uzantılar aynı zamanda hücre-yüzey ve hücre-hücre interaksyonunda rol oynamakta ve bu durum sinyal molekülleri ile düzenlenmektedir [40].



Kitle algılama olarak adlandırılan sistemde, bir bakteri başka bir bakteri ile oto uyarıcıları ve sinyal moleküllerini kullanarak iletişim kurmaktadır [20, 39]. Bakterilerde tür içi ve türler arası olmak üzere iki çeşit kitle algılama sistemi bulunmaktadır. Türler arası iletişimde değişik otouyarıcılar tanımlanmıştır. Gram negatif bakterilerde genellikle N-açıl-homoserin-laktonlar sinyal molekülü olarak kullanılırken, gram pozitif bakteriler sinyal molekülü olarak küçük peptitlerden yararlanmaktadır [12, 33, 40]. Tür içi iletişimde ise hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler oto uyarıcı-2, furanosil borat diester'i kullanır [1, 40].

Biyofilm oluşumunda sinyal molekülü aracılı kitle algılama birçok bakteri türü tarafından gösterilmiştir. Özel birtakım genlerin induksiyonu ile bakteri artan hücre popülasyonu yoğunluğuna cevap verebilir [10]. Kitle algılama sistemleri biyofilmlerin heterojen yapısını etkilemektedirler. Biyofilmlerdeki bakteri yoğunluğunun az olması sinyal moleküllerinin de az olmasına neden olacaktır. Kitle algılamanın eksikliği daha zayıf biyofilm oluşumuna ve daha az EPS üretimine neden olur ve böylesi bir mutant veya yetersiz oluşan biyofilm kanamisin antibiyotiğine duyarlılık gösterir. [32]. Çoklu tür biyofilmler tekli tür biyofilmlere göre antimikrobiyel ajanlara karşı daha dirençlidirler [41]. Sinyal moleküllerinin eksikliği bakterilerin virülans faktör üretmemesine non-virülant özellik göstermesine yol açar [39].

### Stres Cevapları

Biyofilm oluşmasıyla birlikte ortaya çıkan direncin gelişmesinde rol alan bir diğer mekanizma ise stres cevaplarının etkinleşmesidir [21, 22, 27]. Bakteriyel hücreler kuruma, antimikrobiyel ajanlar, yüksek ve düşük sıcaklık gibi çeşitli çevresel streslerden kendilerini korumak için bir takım fizyolojik değişiklikler göstererek stres cevabı gösterirler. Böylece bu hücreler sıcaklık şokunun, soğuk şokunun, pH'daki değişimlerin ve kimyasal ajanların zararlı etkilerinden korunurlar [4, 37].

Biyofilmdeki stres cevabı hücrel stres direncini arttıran bakteriyel fizyoloji ve morfolojideki çeşitli değişikliklerle karakterize edilir. Stres cevabı tamirden ziyade hücrel zarar için önleyici bir faktör gibi çalışır. Durgun faz bakteri gelişimine neden olan besin eksikliği, düşük veya yüksek sıcaklık, daha yüksek ozmolalite ve daha yüksek asitlik gibi çeşitli faktörler stres geni induksiyonundan sorumlu tutulmuştur [1, 12, 15]. Bakterilerdeki genel stres cevabı genlerinin düzenleyicileri SigB ve RpoS gibi sigma faktörleridir ve bu faktörler biyofilmlerin dezenfektanlara karşı direnç kazanmasını sağlarlar [4, 15]. Stres cevabı ile birlikte metabolik aktivitenin düşmesi bakterinin durgun faza geçmesine ve antimikrobiyel ajanlara karşı toleransın artmasına neden olmuştur [14, 32].

### Dış Membran Yapısı

Bakterilerde, antimikrobiyel maddelerin inaktivasyon etkilerini gösterebilmeleri için hedef bölgeye bağlanmaları gerekmektedir. Bakterilerin hücre duvarı veya zarındaki yani hedef bölgedeki değişim

bakterilerde direnç gelişimini tetikler [43, 45]. Antimikrobiyel ajanlar hedef bölgeye ulaşmak için içeri girmeye zorlandıkça, bakteriyel hücre direncinden sorumlu olan hücre zarının (hücre zarı ve hücre duvarı) modifikasyonu veya adaptasyonu ile karşılaşırlar. Hidrofilik antimikrobiyel ajanların dış membrana girişleri çoğunlukla lipopolisakkarit tabakası ve uzanan fosfolipitler tarafından önlenirken hidrofobik ajanların içeri girişleri ise dış membran proteinleri tarafından engellenmektedir [32].

### Sızdırma (Efflux) Pompaları

Dezenfektan direnci daha çok hücre duvarı ve hücre zarındaki geçirgenlikten ve artan "efflux"tan kaynaklanmaktadır. Bakterilerdeki "sızdırma" sisteminden sorumlu genler genellikle plazmidler tarafından kodlanmaktadır. Sızdırma sistemleri geniş spektrumlu olup, yapısal olarak birbiri ile ilişkisiz olan birçok dezenfektan maddeyi hücre dışına atabilmektedir [24, 42].

Gram pozitif ve negatif bakterilerde bulunan sızdırma pompaları; bakteriyel hücrelerin metabolitlerini ve yan ürünlerini dışarı atmada kullanılan taşıyıcı sistemlerdir. Ancak zamanla antimikrobiyel ajanlar gibi diğer zararlı molekülleri de dışarı atma yönünde eğilim göstermişlerdir. Sızdırma sistemleri zor koşullarda bakteriyel canlılığa yardım ederler [1, 15]. Sızdırma pompalarının ortaya çıkışı özellikle biyosistlerin subletal konsantrasyonlarına maruz kalma durumunda tetiklenir. Sızdırma sistemleri üç bileşenli bir organizasyonla karakterize edilir. Bunlar; -stoplazmik membranla ilişkili olan membran füzyon proteini, -substratı membranın içinden dışına taşıyan taşıyıcı protein, -substratı dış membrana ulaştırılan dış membran proteindir. Burada kanal iç ve dış membranları geçer, ancak substrat doğrudan stoplazmadan dış ortama püskürtülür [15].

Sızdırma sistemleri antimikrobiyel ajanlara karşı hem doğal hem de kazanılmış direnç gösterirler. Sızdırma pompasının aşırı üretimi çoklu ilaç direncine neden olabilir. Bakteriyel sızdırma pompaları hedef modifikasyon ve antibiyotik inaktivasyonu gibi diğer direnç mekanizmaları ile kombine edilen çoklu ilaç direnci fenotipine eğilim gösterirler [37]. Bakteriyel biyofilmler bazı antibiyotiklerin (kloramfenikol ve tetrasiklin gibi) ve ksenobiyotiklerin (salisilat ve klorlanmış fenoller gibi) düşük konsantrasyonlarına maruz bırakıldıklarında çoklu ilaç direnci operonları ile sızdırma pompalarının (mar ve acr AB) açığa çıkarılmasını tetiklerler [13].

Sızdırma pompaları ilaç keşfindeki en önemli engeldir ve gram negatif bakterilerin çoklu ilaç direncindeki temel rol oynayırlardır. Sızdırma pompalarının anlaşılmasındaki son gelişmeler bakterideki ilaç keşif platformunu sağlayabilir [32].

### SONUÇ

Biyofilmler antimikrobiyel etkisine karşı planktonik formları ile karşılaştırıldığında daha koruyucu ve dirençlidirler. Biyofilmlerdeki antimikrobiyel direnç

karmaşık ve çok yönlüdür. Etkin bir biyofilm kontrolü yapılmak isteniyorsa ilk olarak direnç mekanizmaları üzerinde durulmalı daha sonra gerekli önlemler alınmalıdır. Biyofilmlerdeki antimikrobiyel dirençte farklı mekanizmaların etkili olması biyofilm kontrolüne yönelik önlem alınırken birden fazla stratejinin birlikte uygulanmasını düşündürmüştür. Biyofilmlerin ekolojisini ve fizyolojisini algıladıkça daha etkin ve spesifik antibiyofilm bileşiklerinin ortaya çıkarılması mümkün olacaktır. Özellikle de glikokaliks veya sinyal molekülleri biyosentezini hedef alan antimikrobiyel ajanların geliştirilmesi önerilmektedir. Gıda endüstrisindeki biyofilmlerin önemi bilgi eksikliğinden dolayı hala tam olarak anlaşılamamıştır. Özellikle de gıda endüstrisindeki gerek işletme hijyen ve sanitasyonu gerekse gıda güvenliği açısından biyofilmler ile ilgili çalışmalarda farklı antimikrobiyellerin direnç mekanizmaları üzerindeki etkinlikleri detaylı olarak incelenmelidir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Dufour, D., Leung V., Lévesque C.M. (2012). Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 22, 2–16.
- [2] Sereno, M.J., Ziech, R.E., Druziani, J.T., Pereira, J.G., Bersot, L.S. (2017). Antimicrobial susceptibility and biofilm production by salmonella sp. strains isolated from frozen poultry carcasses. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19(1), 103-108.
- [3] Xu, D., Jia, R., Li, Y., Gu, T. (2017). Advances in the treatment of problematic industrial biofilms. *World Journal of Microbiological Biotechnology*, 33, 97
- [4] Trachoo, N. (2003). Biofilms and the food industry. *Journal of Science and Technology*, 25(6), 807-815.
- [5] Meyer, B. (2003). Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 249-253.
- [6] Houdt R.V., Michiels, C.W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology*, 109: 1117–1131.
- [7] Tan, S.Y.E., Chew, S.C., Tan, S.Y.Y., Givskov, M., Yang, L. (2014). Emerging frontiers in detection and control of bacterial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 1–6.
- [8] Shi, X., Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 407-413.
- [9] Simoes, V., Simoes L.C., Vieira V.J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 573–583.
- [10] Bridier, A., Vizuete, P.S., Guilbaud, M., Piard, J.C., Naitali, M., Briandet, R. (2015). Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiology*, 45, 167-178.
- [11] Cahill, S.M., Desmarchelier, P., Fattori, V., Bruno, A., Cannavan, A. (2017). Global perspectives on antimicrobial resistance in the food chain. *Food Protection Trends*, 37(5), 353–360.
- [12] Paraje, M.G. (2011). Antimicrobial resistance in biofilms. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, Edited by A. Mendez Vilas, Formatex.
- [13] Gilbert, P., McBain, A.J., Rickard, A.H. (2003). Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 245-248.
- [14] Jahid, I.K., Hu, S.D. (2012). A review of microbial biofilms of produce: future challenge to food safety. *Food Science and Biotechnology*, 21(2), 299-316.
- [15] Myszka, K., Czaczyk, K. (2011). Bacterial biofilms on food contact surfaces – a review. *Polish Journal of Food and Nutritional Science*, 61(3), 173-180.
- [16] Kumar, C.G., Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 9–27.
- [17] Turhan, E.U., Metselaar, K.I., Abee, T. (2016). *Listeria monocytogenes*'in asit dirençli türlerinin benzalkonyum klorür direnci ve biyofilm oluşumu. Türkiye 12.Gıda Kongresi, Trakya Üniversitesi, 05-07 Ekim, 2016, Edirne, S136, 13s.
- [18] Turhan, E.U., Erginkaya, Z., 2016. Gıda endüstrisindeki biyofilmlerin önlenmesinde biyolojik yaklaşımlar. 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress (IMSEC 2016), 26-28 October 2016, Adana/Turkey.
- [19] Turhan, E.U., Erginkaya, Z., Uney, M.H., Ozer, E.A. (2017). Inactivation effect of probiotic biofilms on growth of *Listeria monocytogenes*. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(4), 541-546.
- [20] Cappitelli, F., Polo, A., Villa, F. (2014). Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. *Food Engineering Reviews*, 6, 29–42.
- [21] Verraes, C., Boxstael S.V., Meervenne, E.V., Coillie, E.V., Butaye, P., Catry, B., Schaetzen, M.A., Huffel, X.V., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., Block, J.D., Dewulf, J., Herman, L. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10, 2643-2669.
- [22] Akan, E., Kınık, Ö. (2014). Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 14, 42-51.
- [23] Gün, İ., Ekinci, F.Y. (2009). Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyel yaşam. *Gıda*, 34(3), 165-173.
- [24] Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V., Brissonnet, F.D. (2011). Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling*, 27(9), 1017-1032.
- [25] Akbas, M.Y., Cag, S. (2016). Use of organic acids for prevention and removal of *Bacillus subtilis* biofilms on food contact surfaces. *Food Science and Technology International*, 22(7), 587–597.
- [26] Langsrud, S., Sidhua, M.S., Heir, E., Holck, A.L. (2003). Bacterial disinfectant resistance a challenge for the food industry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 283-290.

- [27] Araujo, P., Lemos, M., Mergulhão, F., Melo, L., Simões, M. (2011). Antimicrobial resistance to disinfectants in biofilms. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, Edited by A. Mendez Vilas, Formatex Research Center, Badajoz.
- [28] Srey, S., Jahid, I.K., Ha, S.D. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31, 572-585.
- [29] Turhan, E.U, Kalkan, S., Erginkaya, Z. (2017). The use of phages for the removal of biofilms in the food industry. in: Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs, Edited by A. Méndez-Vilas, Formatex Research Center, Badajoz, pp.351-357.
- [30] Ünal E., Kalkan S., Erginkaya Z. (2010). "Use of Lactic Acid Bacteria Biofilms as Biocontrol Agents". Science and Technology Against Microbial Pathogens. Research, Development and Evaluation. Edited by A. Méndez-Vilas, Formatex Research Center, Badajoz.
- [31] Kubota, H., Senda, S., Tokuda, H., Uchiyama, H., Nomura, N. (2009). Stress resistance of biofilm and planktonic *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* JCM 1149. *Food Microbiology*, 26, 592-597.
- [32] Singh, S., Singh, S.K., Chowdhury, I., Singh, R. (2017). Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. *The Open Microbiology Journal*, 11, 53-62.
- [33] Brooks, J.D., Flint, S.H. (2008). Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 2163-2176.
- [34] Kubota, H., Senda, S., Tokuda, H., Uchiyama, H., Nomura, N. (2008). Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106(4), 381-386.
- [35] Ibusquize, P.S., Herrera, J.J.R., Cabo, M.L. (2011). Resistance to benzalkonium chloride, peracetic acid and nisin during formation of mature biofilms by *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 28, 418-425.
- [36] Davidson, P.M., Harrison, M.A. (2002). Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers, and other process controls. *Food Technology*, 56(11), 69-78.
- [37] Mah, T.F.C., Otoole, G.A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9(1), 34-39.
- [38] Stewart, P.S., Costerton, J.W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*, 358, 135-138.
- [39] Hoiby, N., Bjarnsholt T., Givskov, M., Molin, S., Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, 322-332.
- [40] Simoes, M., Simoes, L.C., Vieira, M.J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology* 43: 573-583.
- [41] Pan, Y., Breidt, F., Kathariou, J., Kathariou, S. (2006). Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7711-7717.
- [42] Çağlar, K. (2005). Dezenfektanlara Direnç Gelişim Mekanizmaları? Dezenfeksiyon İşlemini Ne Kadar Tehdit Etmektedir? 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 20-24 Nisan 2005, Samsun/Türkiye.
- [43] Meral, H., Korukluoğlu, M., 2014. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç mekanizmaları. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 71-82.
- [44] Shemesh, M., Tam, A., Aharoni, R., Steinberg, D. (2010). Genetic adaptation of *Streptococcus mutans* during biofilm formation on different types of surfaces. *BMC Microbiology*, 10, 51.
- [45] Özel B., Şimşek, Ö. (2017). Nisinin sinerjistik antimikrobiyel etkisi. *Akademik Gıda*, 15(3), 288-299.
- [46] Afnor Official Distributor of Standards, (2006). EN 1040, NF T 150. <https://www.boutique.afnor.org>.

## Tarımsal Atıklardan Selüloz Nanokristallerinin Eldesi, Karakteristik Özellikleri ve Uygulama Alanları

Seda Bilek<sup>1</sup> , Arzu Yalçın Melikoğlu<sup>1</sup> , Serap Cesur<sup>2</sup> 

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

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir

*Geliş Tarihi (Received): 14.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 15.10.2018*

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): seda.ersus@ege.edu.tr (S. Bilek)*

☎ 0 232 311 20 61 📠 0 232 342 75 92

### ÖZ

Selüloz nanokristalleri 5-70 nm çapında, 100 nm ile birkaç mikrometre boyutunda, kristallik derecesi yüksek, çubuk şeklinde parçacıklar olup, lignoselülozik hammadde kaynaklarından elde edilmektedir. Son yıllarda selüloz nanokristallerinin eldesinde, tarım ürünlerinin işlenmesi sırasında ortaya çıkan kök, sap, saman, yaprak ve kabuk vb. atıkların lignoselülozik hammadde kaynağı olarak kullanımının ekonomik ve çevresel nedenlerden dolayı hız kazandığı görülmektedir. Mısır koçanı, şeker kamışı küspesi, pirinç ve buğday samanı vb. tarımsal atıklardan selüloz nanokristallerinin eldesi; (i) ön işlemler-yıkama, öğütme (ii) saflaştırma (hemiselüloz ve ligninin uzaklaştırılması) ve saf selüloz liflerinin eldesi, (iii) kimyasallarla muamele-asit hidrolizi olmak üzere üç temel adımda gerçekleştirilmektedir. Selüloz nanokristallerin karakteristik özelliklerinin elde edildiği bitkinin türüne, ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Selüloz nanokristalleri kompozit malzemelerin üretiminde sentetik takviye ajanlarına alternatif, malzemenin mekaniksel ve bariyer özelliklerinin geliştirilmesine katkı sağlayan, doğada kendiliğinden bozunan, yenilenebilir bir malzemedir. Bu nedenle gıda ambalaj sektörü, otomotiv ve ilaçbilim başta olmak üzere, endüstrinin birçok dalındaki uygulamalar için sürdürülebilir ve çevre dostu bir malzeme olarak hizmet eder. Bu makalede; tarımsal ürünlerden selüloz nanokristallerinin eldesi, hammadde kaynağının karakterizasyon özelliklerine etkisi ve uygulamalarının incelendiği çalışmalar incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Tarımsal atıklar, Selüloz, Selüloz nanokristalleri, Selüloz saflaştırma, Kimyasal hidroliz

### Production of Cellulose Nanocrystals from Agricultural Waste, Their Characteristics and Application Areas

#### ABSTRACT

Cellulose nanocrystals (CNs) are rod-shaped particles with a high degree of crystallinity that can be measured from 100 nm up to several micrometers, and can have a diameter of between 5 to 70 nm. CNs can be obtained from lignocellulosic raw materials. In recent years, agricultural wastes such as roots, stems, straw, leaf and skin of agricultural products have been used as a lignocellulosic raw material source for the production of CNs. New sources have been significantly increased due to the economic and environmental reasons. The production of CNs from agricultural waste such as corn cob, bagasse, rice and wheat straw, etc. is carried out mostly in three main steps: (i) pretreatment – washing, milling, (ii) purification – the removal of hemicellulose and lignin, and the isolation of pure cellulose fibers, and (iii) chemical treatment (acid hydrolysis). The properties of CNs vary depending on their source and extraction conditions. CNs are edible and self-degradable, and can be used as an alternative to synthetic reinforcing agents in the production of composite materials, while also contributing to the improvement of the mechanical and barrier properties of materials. Therefore, they can be served as a sustainable and environmentally

friendly material for various applications in a large number of industrial areas such as food packaging, automobile and pharmaceuticals. In this article, the production of CNs from agricultural products, the effect of raw material sources on the properties of CNs and their applications in different areas are investigated.

**Keywords:** Agricultural wastes, Cellulose, Cellulose nanocrystals, Cellulose purification, Chemical hydrolysis

## GİRİŞ

Ülkemiz, karasal yüzölçümünün yaklaşık %27.7'sini oluşturan tarım alanları ile dünyada en fazla tarım alanına sahip 15 ülke arasında 4. sırada yer almaktadır. Türkiye'nin toplam tarımsal alanının yaklaşık %38.4'ünü ekili alan, %44.1'ini orman, %10.4'ünü nadas alanı, %7.1'ini ise meyve ve sebze ekili alanları oluşturmaktadır [1]. Bir tarım ülkesi olan Türkiye, tarımsal ürün atığında ciddi potansiyele sahiptir. Türkiye'deki toplam tarımsal katı atık miktarı 40-53 milyon ton civarındadır. Tarımsal üretim sonucu hububat ürünlerinin işlenmesi sırasında ortaya çıkan atıklardan; mısırın 3.8-4.8 milyon ton, şeker pancarının 1.3-1.5 milyon ton ve pamuğun 522-617 bin ton olduğu bilinmektedir [2]. Ülkemizde tarım ürünlerinin işlenmesi sırasında ortaya çıkan atıklar; hayvan yemi olarak ve/veya yakılarak enerji üretimi için değerlendirilirken, bir bölümünün ise depolama, taşıma ve işçilik maliyetleri nedeniyle değerlendirilemediği ve tarlada bırakıldığı bilinmektedir. Özellikle tarım ürünlerinin işlenmesi sırasında ortaya çıkan organik atıklar, fabrikaların kullanım sahasında büyük alanlar işgal ederek çalışma düzenini bozmakta, depolama sorunları yaratmakta ve bazı durumlarda ise yüzey sularına verilerek ciddi çevre sorunlarına yol açmaktadır [3, 4]. Oysaki tarımsal atıklar yenilenebilir biyokütle kaynağıdır ve lignoselülozik bileşiklerce zengin bu atıkların değerlendirilmesi endüstriyel açıdan, ülke ekonomisi ve atıkların çevreye olan olumsuz etkilerinin giderilmesi açısından önemlidir.

Tarımsal faaliyetler sonucu ortaya çıkan kök, sap, saman, yaprak ve kabuk vb. atıkların selüloz kaynağı olduğu ve hali hazırda selüloz kaynağı olarak kullanılan oduna, sisal bitkisi, rami bitkisi, keten pamuğu vb. kaynaklara alternatif olacağı bildirilmektedir. Özellikle araştırmacıların, pirinç kabuğu [5], şeker kamışı küspesi [6], mısır sapı [7], şeker pancarı sapı [8], buğday samanı [9] ve pamuk sapından [10] doğal selüloz liflerinin eldesine dair çalışmalar yaptığı görülmektedir. Özellikle tarımsal atıklardan elde edilen selüloz liflerinin, mikro ve nano selüloz partiküllerinin ayrılmasında yüksek potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir [11]. Tarımsal atıkların; (i) kolay ulaşılabilir, miktar açısından fazla, düşük maliyetli ve çevre dostu olması, (ii) yüksek selüloz, düşük lignin içeriğine sahip olması ve lignini uzaklaştırmak amacıyla daha az kimyasala gereksinim duyulması, nanoselüloz üretimindeki en önemli avantajlarıdır [12].

Nanoselüloz, ekstraksiyon yöntemleri, elde edildiği bitkinin türü ve yapısına bağlı olarak selüloz nanokristalleri ve mikrofibrillenmiş selüloz olmak üzere temelde iki gruba ayrılır. Selüloz nanokristalleri,

saflaştırılmış selüloz elyaflarından kimyasal hidroliz ile elde edilirken, mikrofibrillenmiş selüloz ise selüloz liflerinin ön muamele sonrası yüksek basınç altında mekanik parçalaması sonucu elde edilmektedir. Selüloz nanokristalleri ve mikrofibrillenmiş selüloz endüstride kompozit malzemelerin üretiminde takviye ajanı olarak kullanım olanağı bulunmaktadır. Ancak selüloz nanokristallerinin matris arayüzey etkileşimi sonucu malzemenin mukavemet özelliklerinin artırılmasında göstermiş olduğu üstün performans endüstriyel uygulamalarda tercih edilebilirliğini arttırmaktadır [13-14].

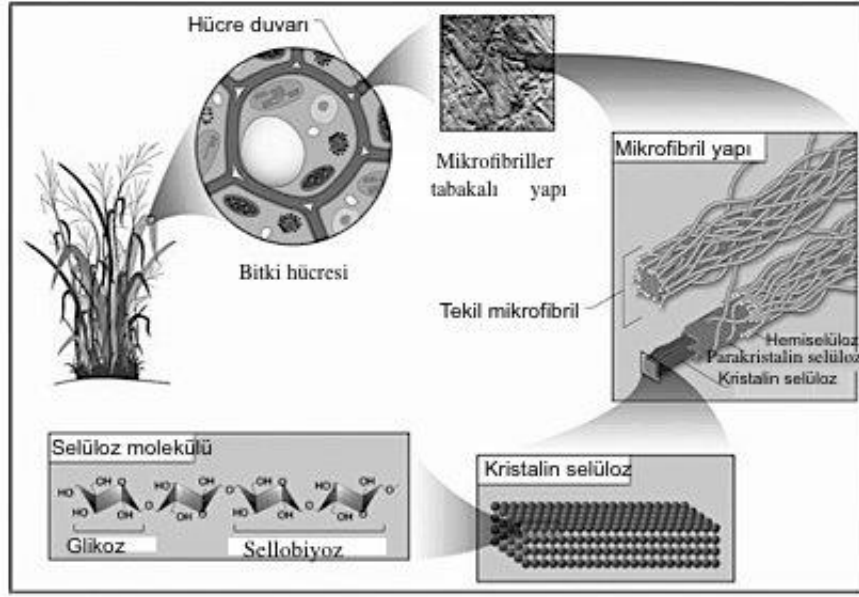
Bu çalışmada, (i) tarımsal atıklardan nanokristalin selüloz ekstraksiyonu, (ii) hammadde kaynağına göre malzemenin karakteristik özelliklerindeki değişimler ve (iii) nanokristalin selülozun kullanıldığı endüstriyel uygulamaların incelenmesi amaçlanmaktadır.

## SELÜLOZ

Bitki hücre duvarının temel bileşeni olan selüloz, dünyada en çok bulunan biyopolimerdir. Selülozun antik çağlardan beri insanlar tarafından kullanıldığı, eski Mısırlıların papürüs bitkisini kağıt malzemesi olarak hatta ip, sandalet ve sepet yapımında kullandıkları bildirilmektedir. Bugün bildiğimiz şekliyle kağıt yapım süreci eski Çin'de geliştirilmiş olup, selülozun kimyasal yapısı Fransız kimyager Payen tarafından 1838'de tanımlanmıştır [15].

Selüloz; birçok mikroorganizma tarafından etkin bir şekilde parçalanabilen, kendi kendini yenileyebilen, toksik olmayan, ucuz, yüksek güç ve ısı dayanıma sahip doğal çevre dostu bir polimerdir. Selüloz glikoz ünitelerinin  $\beta$ -1,4 bağları ile bağlanması sonucu oluşmuş bir homopolimerdir. Her bir monomer üç hidroksil grubuna sahip olup, selülozun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesinde, yapısındaki hidroksil gruplarının varlığı ve hidrojen bağı oluşturma kapasiteleri önemli rol oynar [16-19].

Selüloz moleküllerinin demetler biçiminde bir araya gelerek oluşturduğu büyük yapıya fibril denir. Aynı yöne uzanan 40 selüloz molekülünün bir araya gelmesi sonucu oluşan çapı 3.5 nm olan en küçük demet ise elementer fibril olarak adlandırılmaktadır. Elementer fibriller bir araya gelerek mikrofibrilleri, mikrofibriller bir araya gelerek lamelleri meydana getirmektedir. Elektron mikroskopu ile görülebilen en küçük yapısal birim mikrofibrildir (Şekil 1). Mikrofibriller arasında genişliği 10 nm olan dar aralıkları lignin ve diğer ara maddeler doldurmaktadır [21].



Şekil 1. Selülozun yapısı [20]

Selüloz öncelikle orman kaynaklarından, odunsu olmayan lignoselülozlar (kenevir, keten, jüt, rami, kenaf ve pamuk) ile tarımsal atık ve/veya yan ürünlerden (mısır koçanı, pirinç kabuğu ve şeker kamışı küspesi) elde edilir [22]. Bitki, ot ve ağaçların temel yapı taşı olan selülozun en önemli görevi bitkilere sağlamlık, diklik ve destek sağlamaktır. Odunun ağırlıkça %40'ını, ketenin %60-85'ini, pamuk liflerinin %85-90'ını selüloz oluşturur [23]. Bitkisel liflerde selülozdan sonra ana bileşikler hemiselüloz ve lignindir. Selüloz yarı kristal bir polimer

olmasına rağmen hemiselüloz ve lignin amorf yapıdadır. Bitkisel materyallerdeki selüloz, lignin ve hemiselüloz ve lignin lignoselülozik yapı olarak adlandırılmaktadır ve bu yapı, selüloz, hemiselüloz ve lignin'in nano-ölçekli alanları arasındaki eşsiz etkileşimin sonucunda ortaya çıkan bir biyo-nanokompozit olarak değerlendirilmektedir [24]. Selüloz, hemiselüloz ve ligninin lignoselülozik yapı içerisindeki içeriği türlere göre değişkenlik göstermektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Lignoselülozik materyallerin içeriği [25-27]

Materyal	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)
Sert odun	40-55	24-40	18-25
Yumuşak odun	45-50	25-35	25-35
Jüt	61-71.5	13.6-20.4	12-13
Keten	71	18.6-20.6	2.2
Kenevir	70.2-74.4	17.9-22.4	3.7-5.7
Rami bitkisi	68.6-76.2	13.1-16.7	0.6-0.7
Sisal bitkisi	67-78	10-14.2	8-11
Mısır koçanı	33.7-41.2	31.9-36	6.1-15.9
Şeker kamışı küspesi	40-41.3	27-37.5	10-20
Buğday samanı	32.9-50	24-35.5	8.9-17.3
Pirinç kabuğu	36.2-47	19-24.5	9.9-24
Mısır sapı	35-39.6	16.8-35	7-18.4
Arpa samanı	33.8-37.5	21.9-24.7	13.8-15.5
Pamuk sapı	38.4-42.6	20.9-34.4	21.45
Muz atığı	13	15	14
Kahve hamuru	33.7-36.9	44.2-47.5	15.6-19.1
Fındık kabuğu	25-30	22-28	30-40
Sorgum samanı	32-35	24-27	15-21
Yulaf samanı	31-35	20-26	10-15

Tablo 1'den görüldüğü üzere gıda atıkları içerisinde %13 (muz kabuğu) ile %47 (pirinç kabuğu) oranları arasında değişen miktarlarda selüloz bulunduğu görülmektedir. Bu yüksek oranlardaki selüloz içeren ürünlerin hammadde olarak selüloz eldesinde kullanılması, çevre açısından fayda sağlayacağı gibi bunun yanında

ekonomik olarak da kayda değer bir verimliliğe yol açacaktır.

## NANOSELÜLOZ

"Nanoselüloz" kelimesi genel olarak 100 nm altında partikül boyuta sahip olan selülozik malzemeleri ifade

eder. Selüloz esaslı nanomalzemeler; selüloz nanokristalleri ve mikro fibrillenmiş selüloz olmak üzere temelde iki sınıfa ayrılmaktadır [28, 29]. Selüloz esaslı nanomalzemeler; elde edildiği selüloz kaynağı, ekstraksiyon yöntemi ve lif boyutlarına göre temelde iki sınıfa ayrılır; (i) selüloz nanokristalleri, selüloz nanokristalitler veya nanokristalin selüloz (ii) selüloz

nanofibriller; mikrofibrillenmiş selüloz ve nanofibrillenmiş selüloz olarak adlandırılır (Tablo 2) [15, 20, 30]. Ancak selüloz esaslı nanomalzemeleri tanımlamak amacıyla çok farklı terminolojilerin kullanıldığı ve bunların da belirsizliklere yol açtığı düşünülmektedir [20]. Tablo 2'de selüloz esaslı nanomalzemeler ve özellikleri yer almaktadır [15, 20].

Tablo 2. Selüloz esaslı nanomalzemelerin özellikleri

Nanoselüloz türü	Elde edildiği kaynak	Proses	Özellikler
Selüloz nanokristalleri	Odun, pamuk, kenevir, keten, buğday sapı, dut kabuğu, çim elyafı, rami, bakteri veya yosun bazlı selüloz	Asit hidroliz	Çap: 5-70 nm Uzunluk: 100-250 nm (bitkisel selüloz), 100 nm-birkaç µm (bakteri veya yosun bazlı selüloz)
Mikrofibrillenmiş selüloz	Odun, şeker pancarı, patates, kenevir, keten, buğday samanı, soya fasulyesi kabuğu, sisal lifi	Odun hamurunun mekanik etki altında kimyasal veya enzimatik muamele öncesi ve/veya sonrası parçalanması (delaminasyon)	Çap:5-60 nm Uzunluk: birkaç µm

### Mikrofibrillenmiş Selüloz

Mikrofibrillenmiş selüloz, nanofibrillenmiş selüloz veya selüloz nanofibril olarak adlandırılan nano malzemelerin kaynağı odundur. Mikrofibrillenmiş selüloz genellikle odun hamurunun kimyasal veya enzimatik muameleden önce ve/veya sonra mekanik basınç ile delaminasyonu ile üretilir [31]. Mikrofibrillenmiş selüloz ile ilgili ilk çalışmalar Turbark ve Synder (1938) ve Herrick ve ark. (1938) tarafından gerçekleştirilen çalışmalara dayanmaktadır. Odun hamurunun selüloz lif süspansiyonunun yüksek basınçlı homojenizatörden geçirilmesiyle elde edilen jelimsi yapı mikrofibrillenmiş selüloz olarak isimlendirilir [21]. Mikrofibrillenmiş selüloz, uzun ve esnek mikro elyaflardır ve yaklaşık 20 nm genişliğinde, birkaç mikrometre uzunluğunda, kristal ve amorf alanlardan oluşurlar [14]. Mikrofibrillenmiş selüloz üretiminin en büyük dezavantajlarından biri, muamele yöntemleri nedeniyle yüksek enerjiye ihtiyaç duyulmasıdır [15]. Özellikle son yıllarda araştırmacıların mikrofibrillenmiş selüloz üretiminde; gerek üretim maliyetlerini düşürmek, gerekse çevresel kaygıları göz önüne alarak mısır, buğday, pirinç, sorgum, arpa, şeker kamışı, ananas, muz ve patates gibi odun dışı bitkilerin özellikle yan ürünlerini doğal lif kaynağı olarak kullandığı görülmektedir. Oduna nazaran daha az lignin içerdikleri için bu bitkisel yan ürünlerin ağartma işlemine gerek kalmaksızın mikrofibrillenmiş selüloz üretiminde kullanılabilirliği bildirilmektedir [21].

### Selüloz Nanokristalleri

Selüloz nanokristalleri 5-70 nm çapında, kristallik derecesi yüksek, çubuk şeklinde parçacıklar olup karakteristik özellikleri bitkinin türüne, yetiştirildiği toprak özelliklerine, olgunluk derecesine, ekstraksiyon yöntemlerine göre farklılık göstermektedir. Lignoselülozik kaynaklardan elde edilen selüloz nanokristalleri kristal yapı ve çok büyük yüzey alanı ile karakterize edilir [32-34]. Lignoselülozik hammadde

kaynağından selüloz nanokristallerinin eldesi; (i) ön işlemler-yıkama, öğütme (ii) saflaştırma- selüloz eldesi ve (iii) kimyasallarla muamele- asit hidrolizi hidroliz olmak üzere 3 temel adımda gerçekleştirilir (Şekil 2). İlk aşamada ağaç ve bitki vb. lignoselülozik hammadde kurutulur ve öğütülür. İkinci aşamada hemiselülozlar ve lignin alkali ekstraksiyonu ve ağartma yöntemleriyle tamamen uzaklaştırılarak selülozik liflerin eldesi sağlanır. Üçüncü ve son aşamada ise selüloz lifleri kimyasallarla hidroliz edilir ve selüloz molekülündeki amorf bölgelerin uzaklaştırılarak selüloz nanokristallerinin eldesi sağlanır [22, 35].

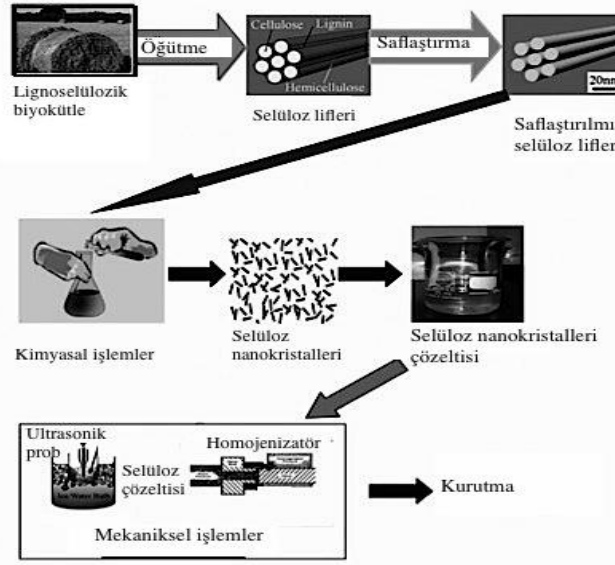
Selüloz elyafları ve mikrofibriller düzenli bir yüzey göstermemektedir ve bu durum kristalin alanların yanı sıra selülozun da kristallenmemiş şekilde (amorf) meydana geldiğini göstermektedir. Selüloz amorf bölgeleri, nano kristalli bölgelere kıyasla daha düşük bir yoğunluğa sahip spagetti benzeri bir düzende rastgele yönlendirilmiştir. Selüloz sert yapıdadır, suda çözünmez ve moleküller arası hidrojen bağı içerir. Ancak amorf bölgeler asit saldırısına duyarlıdır ve kontrollü koşullar altında kristal bölgeler bozulmadan ayrılabilir [36, 37]. Bu nedenle saf selülozdan nanokristalin selüloz eldesinde asit hidroliz aşaması oldukça önemlidir.

### Ön İşlemler

Lignoselülozik hammadde kaynağı, kirlerden ve suda çözünür maddelerden uzaklaştırılması amacıyla destile su ile yıkanır. Yıkama işlemi aynı zamanda, hücre duvarlarının dış yüzeyini örten kirin yanı sıra muhtemel maddelerin uzaklaştırılmasına da yardımcı olur. Ayrıca hammaddeden yağların ve vaksların uzaklaştırılması amacıyla toluen, etanol karışımı çözücü kullanılarak Soxhlet cihazı içerisinde çözündürülmesi de sağlanabilir [38, 39]. Temizlenmiş ham lifler öğütme ve kesme gibi mekanik işlemlerle küçük parçalara ayrılırlar. Ham lignoselülozik malzemelerin, kimyasal olarak işlenmeye ve suyun şişme kapasitesini arttırmaya uygun

olan yaklaşık 0.4 mm boyutunda toz haline gelene kadar öğütülmesi sağlanır. Öğütme işlemi sonucu elde edilen küçük boyutlu ince liflerin artan arayüzeyleri sonucunda

saflaştırma aşamasında yer alan alkali ve ağartma işlemlerinde etkinliği artmaktadır [38-40].



Şekil 2. Lignoselülozik hammadde kaynağından selüloz nanokristallerinin eldesinin şematik gösterimi [22].

### Saflaştırma-Selüloz Liflerinin Eldesi

Öğütülen lignoselülozik hammadde kaynakları daha sonra alkali ekstraksiyonuna ve ağartma işlemlerine tabi tutulur. Bu adımda lignin, hemiselüloz ve diğer selüloz olmayan maddelerin kimyasal ve mekaniksel işlemler sonucu uzaklaştırılması ve selüloz parçalarının bozunmadan kalması sağlanır. Temel olarak; NaOH, Na<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaHSO<sub>3</sub> ve SO<sub>2</sub> vb. reaktifler kimyasal olarak lignin, hemiselüloz ve diğer karbonhidratların uzaklaştırılmasında kullanılır. Alkali ekstraksiyonu ağartma işlemi öncesinde ve/veya sonrasında hemiselülozun uzaklaştırılması için uygulanan bir metottür. Birçok alkali reaktifi arasında, NaOH, hemiselülozu uzaklaştırmak, yüksek saflıkta ve parlaklıkta selüloz eldesi için yaygın olarak kullanılmaktadır [41]. Ayrıca alkali konsantrasyonu, süresi ve sıcaklık selüloz verimini etkileyen önemli unsurlardır. Atık pamuk saplarından selüloz ve selüloz nanokristalleri eldesinin optimizasyonu üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada araştırmacılar; örnekleri farklı konsantrasyonlarda NaOH (%5-17.5), sıcaklıkta (25-160°C) ve sürede (1-3 saat) alkali ile muameleye tabi tutmuştur. Pamuk saplarından en yüksek verimle (%68.5) selüloz eldesinin 160°C'de 1 saat boyunca %12.5 NaOH konsantrasyonunda gerçekleştirildiği bildirilmiştir [12].

Lignoselülozik hammaddeden nanoliflerin ayrılması için kullanılan bir diğer yöntem "buhar patlama yöntemi"dir. Yöntemin ilkesi herhangi bir kimyasal kullanmadan, lignoselülozik biyokütlenin yüksek-basınçlı buhar ile hızlı bir şekilde ısıtılarak parçalanması esasına dayanır. Bu işlemde, biyokütle numunesi önce öğütülür ve daha sonra 200-270°C sıcaklıkta ve 14-16 bar basınç altında

kısa süre (20 sn- 20 dk) yüksek basınçlı buhara tabi tutulur. Basınç buharın tahliye edilmesiyle birlikte hızla düşürülür ve malzeme normal atmosferik basınçta maruz bırakılarak patlamaya maruz kalır ve bu da lignoselülozik yapının parçalanmasına neden olur. Buhar patlama yönteminde; hemiselüloz ve ligninin ayrışması ve ekstraksiyonla alınabilecek en düşük molekül ağırlıklı fraksiyona dönüştürülmesi sağlanır. Bu nedenle hemiselülozların suda çözünür fraksiyonlarının çoğu su ekstraksiyonu ile uzaklaştırılabilir. Aynı zamanda, ligninin düşük moleküler ağırlıklı kısmının bir kısmı da çıkarılır. Hammadde içerisindeki lignin içeriğinin tamamen uzaklaştırılması için ise kimyasal işlemlerin uygulanması gereklidir [42].

### Hidroliz

Selüloz nanokristallerinin saf selülozdan eldesi için tercih edilen yöntem, ortaya çıkan süspansiyonların kararlılığı nedeniyle kontrollü H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hidrolizine dayanmaktadır [32]. Hidroliz sırasında amorf alanlar tercihen hidrolize edilirken, kristal bölgeler asit saldırısına karşı daha yüksek direnç gösterir [43]. Asit hidrolizini santrifüj ve ultrasonikasyon işlemleri takip etmektedir. Hidrolizden sonra, asit ve bozulmuş materyalleri, selüloz nanokristalleri süspansiyonundan uzaklaştırmak amacıyla santrifüj işlemi uygulanır. Ayrıca santrifüj yerine filtre kağıdı ve/veya cam mikrofiber filtresi de kullanılabilir. Selüloz nanokristallerinin morfolojik yapısı ve verimi, asidin cinsine, asit konsantrasyonuna, sıcaklığa, süreye ve özellikle lignoselülozik hammadde kaynağına göre değişiklik göstermektedir. Tablo 3'te bazı tarımsal atıkların lif özellikleri yer almaktadır.



Tablo 3. Bazı tarımsal atıkların lif özellikleri [44].

Lif tipi	Lif uzunluğu (mm)	Lif genişliği (µm)
Yağlık palmiye	0.33-50.31	8.30-20.5
Şeker kamışı	1.22-1.59	19.35-20.96
Muz kabuğu	0.9-4	80-250
Hindistan cevizi	0.3-1	92-314
Mısır sapı	0.4-3.4	4-16
Ananas kabuğu	3-9	20-80
Pirinç kabuğu	0.4-3.4	4-16
Jüt	3-3.5	60-110
Kenaf	0.66-0.82	17.7-26.70
Sisal bitkisi	0.85-1	100-300

Arzu edilen morfolojiye sahip selüloz nanokristallerinin üretimi için asit hidroliz koşullarının incelenmesi ve sürekli kontrol edilmesi gereklidir. Örneğin, HCl kullanıldığında selüloz yüzeyinin zayıf bir şekilde negatif yükü yüklediği, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ise glikoz birimlerinin yaklaşık onda birinde sülfat ester grupları oluşması nedeniyle negatif yükü arttırdığı bildirilmektedir. Özellikle H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile hazırlanan selüloz nanokristallerinde yüzey yükü fazla olduğu için taneciklerin birbirini itme kuvveti fazla olmakta ve koloidal bir süspansiyon oluşmaktadır. Oluşan selüloz kristallerinin boyutu hidroliz süresi ile de doğrudan ilişkilidir. Daha düşük sıcaklık ve daha düşük asit konsantrasyonu koşullarında, hidroliz sırasında yetersiz reaksiyonu telafi etmek için hidroliz için harcanan süre daha uzun olmaktadır ve bu durum selüloz nanokristallerinin boyutunu düşürmektedir. Kumar ve ark. (2014) [45], tarımsal bir atık olan şeker kamışı küspesinden elde ettikleri selüloz nanokristallerinin karakteristik özelliklerini inceledikleri çalışmada; alkali (KOH) ve ağartma (NaClO<sub>2</sub>) uygulamaları sonucu beyaz renkli saf selüloz elde etmişlerdir. Saf selülozdan selüloz nanokristallerinin eldesi ise %64'lük H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (w/w) çözeltisinde 45°C'de örneklerin manyetik karıştırıcıda 60 dk muamele edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar tarafından şeker kamışı küspesinden uzunlukları 250-480 nm, çapı 20-60 nm arasında değişen çubuk şeklinde selüloz nanokristallerinin elde edildiği bildirilmektedir. Bir başka çalışmada ise; pirinç kabuğundan elde edilen selüloz nanokristallerinin fiziksel özellikleri üzerine hidroliz süresinin etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar tarafından elde edilen saf selüloz, farklı sürelerde (30-45 dk) %64'lük H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile hidrolize edilmiş ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile lif uzunlukları belirlenmiştir. 45 dk'lık hidroliz işlemine tabi tutulan örneklerden elde edilen selüloz nanokristallerinin uzunluğunun 117 nm ancak 30 dk hidrolize maruz kalan örneklerin uzunluğunun ise 270 nm olduğu bulgulanmıştır [46].

## SELÜLOZ NANOKRİSTALLERİNİN UYGULAMA ALANLARI

Son yıllarda tarımsal atıklar gibi sürdürülebilir ve yenilenebilir kaynaklardan elde edilen selüloz esaslı nanomalzemelerin, takviye ajanı/dolgu maddesi olarak endüstriyel ve biyomedikal uygulamalar için geliştirilen biyokompozitlerin üretiminde yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Özellikle endüstride cam ve karbon gibi sentetik takviye ajanlarıyla kıyaslandığında tarımsal kaynaklardan elde edilen liflerin maliyet avantajı

sağladığı, doğada biyolojik olarak parçalanmasının plastik atıkların yarattığı çevre kirliliğinin önlenmesinde oldukça etkili olduğu bildirilmektedir [28, 47-49].

Selüloz nanokristallerinin morfolojik yapısının, biyokompozit ambalaj malzemelerinin üretiminde mekanik ve bariyer özelliklerin geliştirilmesinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Xu ve ark. (2018) [50] tarafından gerçekleştirilen çalışmada pirinç kabuğundan elde edilen selüloz nanokristalleri ile kitosandan, çözücü döküm tekniği ile kitosan/selüloz nanokristalleri içeren biyokompozit malzeme üretilmiştir. Araştırmacılar %5 nanokristal selüloz ilavesinin biyokompozit malzemenin çekme mukavemetini 22.5 MPa'dan (kontrol örneği), 38.4 MPa'ya yükselttiğini bildirmiştir. Benzer şekilde sarımsak sapından 35 nm çapında selüloz nanokristalleri izole edilerek gerçekleştirilen nişasta esaslı biyokompozit malzemede selüloz nanokristalleri %2.5-15 içerecek şekilde ilave edilmiş ve maksimum çekme mukavemeti (MPa) ve Modülüse (MPa) %5 selüloz nanokristalleri içeren biyokompozit malzemede ulaşıldığı bildirilmiştir [51].

Ayrıca selüloz nanokristallerin yapısında bulunan -OH gruplarının varlığı nedeniyle hidrofilik yapıda olmasına rağmen aljinat, kitosan, nişasta gibi hidrofilik matris içeren nano biyokompozit ambalaj filmlerinin su buharına karşı bariyer özelliklerinin geliştirilmesinde etkili olduğu belirlenmiştir [52-56]. Nitekim Silverio ve ark. (2013) [57] mısır koçanından elde ettikleri selüloz nanokristallerini PVA esaslı biyokompozit malzemenin su buharına karşı bariyer özelliği üzerine etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar tarafından selüloz nanokristallerinin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak nanokompozit malzemenin subuharına karşı bariyer özelliğinin arttığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada Barbados kirazı (açerola), polisakarit bazlı ve selüloz nanokristalleri dolgu yenilebilir film ile kaplanarak 7 günlük depolama süresi boyunca kalite karakteristiklerindeki değişim incelenmiştir. Aljinat, barbados püresi katkıyla yenilebilir filme selüloz nanokristalleri ilavesinin yenilebilir filmin su buharı geçirgenliğinin azaltılmasında etkili olduğu ve bu durumun barbados kirazında 7 günlük depolama süresi sonunda ağırlık kaybını, çürümeyi azalttığı ve askorbik asit kaybını engellediği saptanmıştır [58]. Dong ve ark. [59] tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise %5 nanoselüloz içeren kitosan/nanoselüloz yenilebilir film ile çilekler kaplanarak 20°C'de 7 gün depolanmıştır. Araştırmacılar depolama süresi sonunda çileklerde, toplam fenolik madde ve antosiyanin içeriğindeki

kayıpların kaplanmamış çilek örneklerine nazaran oldukça düşük olduğunu, nanoselüloz katkılı yenilebilir film ile kaplamanın çileklerde toplam fenolik madde ve antosiyanin içeriğinin korunmasında etkili olduğunu bildirmiştir.

Biyokompozit filmlerin geliştirilmesi ve yeni formülasyonların oluşturulması son yıllarda üzerinde çok fazla çalışılan bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle sentetik plastiklerin üretiminde kullanılan petrolün yenilenebilir ve sürdürülebilir bir kaynak olmaması, hammadde fiyatlarındaki artış, plastik ambalaj atıklarının yarattığı çevresel sorunlar, çevre dostu yenilenebilir kaynaklardan elde edilen biyokompozit malzemelerin kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Günümüzde ambalaj atıklarının yarattığı çevresel kirliliğin önlenmesi amacıyla; kaynak azaltma, hafiflik, biyobaz içeriğine sahip malzeme ve biyobozunur ürünlerin kullanımına yönelik pek çok ülkenin yasal önlemler aldığı bilinmektedir. Bu kapsamda selüloz, nanoselüloz gibi biyobazlı katkı/dolgu/takviye malzemelerinin plastik esaslı ambalaj filmlerine biyobozunurluk özelliği kazandırması, mekanik ve gaz geçirgenlik özellikleri üzerine etkisinin bulgulanması önemlidir. Ayrıca nanoselüloz katkılı ambalaj filmlerinin gıdaya temasının uygunluğu, migrasyon ve toksisite açısından da değerlendirilmesi/incelenmesi, bu malzemelerin sektörde kullanım potansiyelinin bulgulanması açısından da önem arz etmektedir.

## SONUÇ

Son yıllarda çevre koruma bilincinin artmasıyla birlikte bitkisel kaynaklardan elde edilen çevre dostu bir polimer olan selülözün kullanımı artmaktadır. Özellikle araştırmacıların, bitkisel liflerden nanoselüloz eldesi üzerine birçok çalışma gerçekleştirdiği ve başarılı sonuçlara ulaştığı da görülmektedir. Selüloz nanokristallerinin eldesinde proses koşulları ve lignoselülozik hammadde kaynağı, nanokristallerin en, boy, genişlik vb. fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde oldukça etkilidir. Bu nedenle selüloz nanokristallerinin eldesinde, her aşamada kimyasal cinsi ve konsantrasyonu, uygulama süresi ve sıcaklığı, mekaniksel işlemler vb. uygun proses koşullarının belirlenmesi gerekir. Selüloz nanokristallerinin kompozit malzemelerin üretiminde geniş bir uygulama alanına sahip olduğu görülmektedir. Özellikle biyopolimerlerin zayıf olan mekaniksel özelliklerinin ve gaz bariyer özelliklerinin geliştirilmesinde, tarımsal atıklardan üretilen selüloz nanokristallerinin oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Biyokompozit malzeme üretiminde tarımsal atıklardan elde edilen selüloz nanokristalleri gibi doğal takviye ajanlarının sentetik takviye ajanlarına alternatif olacağı, gıda ambalaj endüstrisinin yanı sıra, otomotiv ve beyaz eşya sektöründe de kullanım potansiyelinin artacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

[1] Anonim. (2017). Biyokütle Potansiyeli Olarak Tarımsal Atıklar. [http://biyoder.org.tr/?page\\_num=4589](http://biyoder.org.tr/?page_num=4589) (Son erişim tarihi; 11.02.2018).

- [2] Ertuğrul, B., Güler, T. (2014). Biyokütle enerjisi potansiyelimiz. *Sakarya Ticaret Borsası*, 49, 10-11.
- [3] Baran, A., Çaycı, G. ve İnal, A. (1995). Farklı tarımsal atıkların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 1(2-3), 169-172.
- [4] Bahçegül, E. (2011). Tarımsal atıkların çevre dostu plastiklere dönüşümü. *Bilim ve Teknik*, 521, 68-74.
- [5] Huang, C., Han., L., Liu, X., Ma, L. (2011). The rapid estimation of cellulose, hemicellulose, and lignin contents in rice straw by near infrared spectroscopy. *Energy Sources*, 33, 114-120.
- [6] Sun, J.X., Sun, X.F., Zhao, H., Sun, R.C. (2004). Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. *Polymer Degradation and Stability*, 84, 331-339.
- [7] Balea, A., Meroya, N., Fuente, E., Delgado-Aguilar, M., Mutje, P., Blonco, A., Negro, C. (2016). Valorization of corn stalk by the production of cellulose nanofibers to improve recycled paper properties. *BioResources*, 11(2), 3416-3443.
- [8] El-Tayebi, T.S., Abdelhafez, A.A., Ali, S.H., Ramadan, E.M. (2012). Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1523-1525.
- [9] Liu, R., Huang, Y. (2005). Structure and morphology of cellulose in wheat straw. *Cellulose*, 12, 25-34.
- [10] Li, L., Zhao, L. (2015). Nature cellulose fibre extracted from different cotton stalk sections by degumming. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 23(6): 37-40.
- [11] Kopania, E., Wietecha, J., Cienchaska, D. (2012). Studies on isolation of cellulose fibres from waste plant biomass. *Fibres & Textiles in Eastern*, 20(96), 167-172.
- [12] Zhou, L., He, H., Jiang, C., Ma, L., Yu, P. (2014). Cellulose nanocrystals from cotton stalk for reinforcement of poly(vinyl alcohol) composites. *Cellulose Chemistry and Technology*, 51(1-2), 109-119.
- [13] Iwatake, A., Nogi, M., Yano, H. (2008). Cellulose nanofiber-reinforced polylactic acid. *Compos. Sci. Technol.* 68(9), 2103-2106.
- [14] Lu, J., Askeland, P., Drzal, L.T. (2008). Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxycomposite applications. *Polymer*, 49, 1285-1298.
- [15] Klemm, D., Heublein, B., Fink, H.P., Bohn, A. (2005). Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie International Edition*, 44, 3358-93.
- [16] Johar, N., Ahmad, I., Dufresne, A. (2012). Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 93-99.
- [17] Lu, P., Xiao, H., Zhang, W., Gong, G. (2014). Reactive coating of soybean oil-based polymer on nanofibrillated cellulose film for water vapor barrier packaging. *Carbohydrate Polymers*, 111, 524-529.
- [18] Liu, S., Yu, T., Wu, Y., Li, W., Li, B. (2014). Evolution of cellulose into flexible conductive green electronics: A smart strategy to fabricate

- sustainable electrodes for supercapacitors. *RSC Advances*, 4(64), 34134–34143.
- [19] Stenstad, P., Andresen, M., Tanem, B.S., Stenius, P. (2008). Chemical surface modifications of microfibrillated cellulose. *Cellulose*, 15, 35-45.
- [20] Siqueira, G., Bras, J., Dufres, A. (2010). Cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties and applications. *Polymers*, 2, 728-765.
- [21] Tozluoğlu, A., Çöpür, Y., Özyürek, Ö., Çıtlak, S. (2015). Nanoselüloz üretim teknolojisi. *Turkish Journal of Forestry*, 16(2), 203-219.
- [22] Ng, H.M., Sin, L.T., Tee, T.T., Bee, S.T., Hui, D., Low, C.Y., Rahmat, A.R. (2015). Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers. *Composite*, 75, 176-200.
- [23] Kurtuluş, M. (2010). Lignoselülozik materyallerden termokatalitik işleme suda çözündürülen polisakkaritlerin moleküler yapılarının incelenmesi. Çukurova Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Adana, 104 s.
- [24] Hon, D.N.S., Shiraishi, N. (2001). Wood and cellulose chemistry, Marcel Dekker, New York and Basel.
- [25] Anwar, Z., Gulfranz, M., Irshad, M. 2014. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 7, 163-173.
- [26] Bulut, Y., Erdoğan, Ü.H. (2011). Selüloz esaslı doğal liflerin kompozit üretiminde takviye materyali olarak kullanımı. *The Journal of Textiles and Engineers*, 82, 26-35.
- [27] Adıgüzel, A.O. (2013). Lignoselülozik materyallerden biyoetanol üretimi için kullanılan ön-muamele ve hidroliz yöntemleri. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17(3), 381-397.
- [28] Jonoobi, M., Oladi, R., Davoudpour, Y., Oksman, K., Dufresne, A., Hamzesh, Y., Davoodi, R. (2015). Different preparation methods and properties of nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review. *Cellulose*, 22, 935–969.
- [29] Nascimento, P., Marim, R., Carvalho, G., Mali, S. (2016). Nanocellulose produced from rice hulls and its effect on the properties of biodegradable starch films. *Materials Research*, 19(1), 167-174.
- [30] Moon, R.J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J., Youngblood, J. (2011). Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*, 40, 3941–3994.
- [31] Hua, K. (2015). Nanocellulose for Biomedical Applications. Modification, Characterisation and Biocompatibility Studies. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 1320. 80 pp. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis.
- [32] Elazzouzi-Hafraoui, S., Nishiyama, Y., Putaux, J. L., Heux, L., Dubreuil, F., Rochas, C. (2008). The shape and size distribution of crystalline nanoparticles prepared by acid hydrolysis of native cellulose. *Biomacromolecules*, 9(1), 57–65.
- [33] Csiszar, E., Nagy, S. (2017). A comparative study on cellulose nanocrystals extracted from bleached cotton and flax and used for casting films with glycerol and sorbitol plasticisers. *Carbohydrate Polymers*, 174, 740–749.
- [34] Cavaille, J.Y., Ruiz, M.M., Dufresne, A., Gerard, J.F., Graillat, C. (2000). Processing and characterization of new thermoset nanocomposites based on cellulose whiskers. *Compos Interface*, 7, 117–131.
- [35] Brinchi, L., Cotana, F., Fortunati, E., Kenny, J.M. (2013). Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: technology and applications. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 154-169.
- [36] Saxena, I.M., Brown, R.M.J. (2005). Cellulose biosynthesis: current views and evolving concepts. *Ann. Bot.* 96, 9-21.
- [37] De Souza Lima, M.M., Borsali, R. (2004). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25, 771-787.
- [38] Rosa, M.F., Medeiros, E.S., Malmonge, J.A., Gregorski, K.S., Wood, D.F., Mattoso, L.H.C. (2010). Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydrate Polymers*, 81, 83-92.
- [39] Frone, A.N., Panaitescu, D.M., Donescu, D., Spataru, C.I., Radovici, C., Trusca, R. (2011). Preparation and characterization of PVA composites with cellulose nano-fibers obtained by ultrasonication. *BioResources*, 6(1), 487-512.
- [40] Sundari, M.T., Ramesh, A. (2012). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from the aquatic weed water hyacinth-Eichhornia crassipes. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1701-1705.
- [41] Liu, C.F., Sun, R.C. (2010). Cellulose. In: Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels (edited by R.C. Sun). Amsterdam, the Netherland: Elsevier, 131–167p.
- [42] Cherian, B.M., Leao, A.L., de Souza, S.F., Thomas, S., Pothan, L.A., Kottaisamy, M. (2010). Isolation of nanocellulose from pineapple leaf fibres by steam explosion. *Carbohydrate Polymers*, 81, 720–725.
- [43] Habibi, Y., Lucia, L.A., Rojas, O.J. (2010). Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical Reviews*, 110, 3479-3500.
- [44] Dungani, R., Karina, M., Subyakto, A., Hermawan, D., Haydiyana, A. (2016). Agricultural waste fibers towards sustainability and advanced utilization: a review. *Asian Journal of Plant Sciences*, 15(1-2), 42-55.
- [45] Kumar, A., Negi, Y.S., Choudhary, V., Bhardwaj, N.K. (2014). Sugarcane bagasse: characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, 2(1), 1-8.
- [46] Lu, P., Hsieh, Y. (2012). Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from rice straw. *Carbohydrate Polymers*, 87, 564–573.
- [47] Magalhaes, W.L.E., Cao, X., Lucia, L.A. (2009). Cellulose nanocrystals/cellulose core-in-shell

- nanocomposite assemblies. *Langmuir*, 25(22), 13250–13257.
- [48] Peresin, M.S., Habibi, Y., Zoppe, J.O., Pawlak, J.J., Rojas, O.J. (2010). Nanofiber composites of polyvinyl alcohol and cellulose nanocrystals: Manufacture and characterization. *Biomacromolecules*, 11(3), 674–681.
- [49] Zoppe, J.O., Peresin, M.S., Habibi, Y., Venditti, R.A., Rojas, O.J. (2009). Reinforcing poly(epsilon-caprolactone) nanofibers with cellulose nanocrystals. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 1(9), 1996–2004.
- [50] Xu, K., Liu, C., Kang, K., Zheng, Z., Wang, S., Tang, Z., Yang, W. (2018). Isolation of nanocrystalline cellulose from rice straw and preparation of its biocomposites with chitosan: Physicochemical characterization and evaluation of interfacial compatibility. *Composite Science and Technology*, 154, 8-17.
- [51] Agustin, M.B., Ahmmad, B., De Leon, E.R., Buenaobra, J.L., Salazar, J.R., Hiriso, F. (2013). Starch-based biocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals from garlic stalks. *Polymer Composites*, 34(8), 1325-1332.
- [52] Reddy, J.P., Rhim, J.W. (2014). Characterization of bionanocomposite films prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, 110, 480–488.
- [53] Abdollahi, M., Alboofetileh, M., Behrooz, R., Rezaei, M., Miraki, R. (2013). Reducing water sensitivity of alginate bio-nanocomposite film using cellulose nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 166–173.
- [54] Khan, A., Khan, R.A., Salmieri, S., Le Tien, C., Riedl, B., Bouchard, J., Chauve, G., Tan, V., Kamal, M.R., Lacroix, M. (2012). Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1601–1608.
- [55] Chen, Y., Liu, C., Chang, P.R., Cao, X., Anderson, D.P. (2009). Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nanowhiskers hydrolyzed from pea hull fibre: effect of hydrolysis time. *Carbohydrate Polymers*, 76, 607–615.
- [56] Cho, M.J., Park, B.D. (2011). Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. *Journal of Industria and Engineering Chemistry*, 17, 36–40.
- [57] Silverio, H.A., Neto, W.P.F., Pasquini, D. (2013). Effect of incorporating cellulose nanocrystals from corncob on the tensile, thermal and barrier properties of poly(vinyl alcohol) nanocomposites. *Journal of Nanomaterials*, 1-9.
- [58] Azeredo, H.M.C., Miranda, K.W.E., Ribeiro, H., Rosa, M.F., Nascimento, D.M. (2012). Nanoreinforced alginate–acerola puree coatings on acerola fruits. *Journal of Food Engineering*, 113, 505–510.
- [59] Dong, F., Li, S., Liu, Z., Zhu, K., Wang, X., Jin, C. (2015). Improvement of quality and shelf life of strawberry with nanocellulose/chitosan composite coatings. *Bangladesh Journal of Botany*, 44(5), 709-717.
-

## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

**Akademik Gıda** dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayımlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com) web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekilde kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Çalışmanın özgünlüğü ve çalışma ile ilgili her türlü etik hususdan yazar(lar) sorumludur.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını,

makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

### Hızlandırılmış Makale Basımı

Dergide "yayımlanmak üzere kabul edilen makalelerin", derginin takip eden ilk sayısında yayımlanmasını talep eden yazar(lar)ın yayıncı kuruluşa makale başına 750 TL ücret ödemesi gerekmektedir. Bu durum hızlandırılmış basım talebi olmayan makaleler için geçerli olmayıp, Akademik Gıda dergisinde makale basımı için yazar(lar)dan herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

### Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz, Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

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

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

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) \*.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayınlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağında (mümkün olduğunca Resmi web

sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

#### **Makale**

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

#### **Kitap**

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

#### **Kitap Bölümü**

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

#### **Kongre-Sempozyum Bildirisi**

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

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak en geç bir ay içerisinde yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Bu süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com). Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com).

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- Authors are responsible from the originality of the study and all kinds of ethical issues related to their study.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

### Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

### Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

### Accelerated publication of an article

Articles accepted for publication can be published in the first coming issue of the journal at the charge of €200 per manuscript if the authors request accelerated publication.

### Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as \*.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

#### Article

- [1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

#### Book

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

#### Book Chapter

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

#### Proceedings of the Congress-Symposium

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

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office via e-mail within a month.

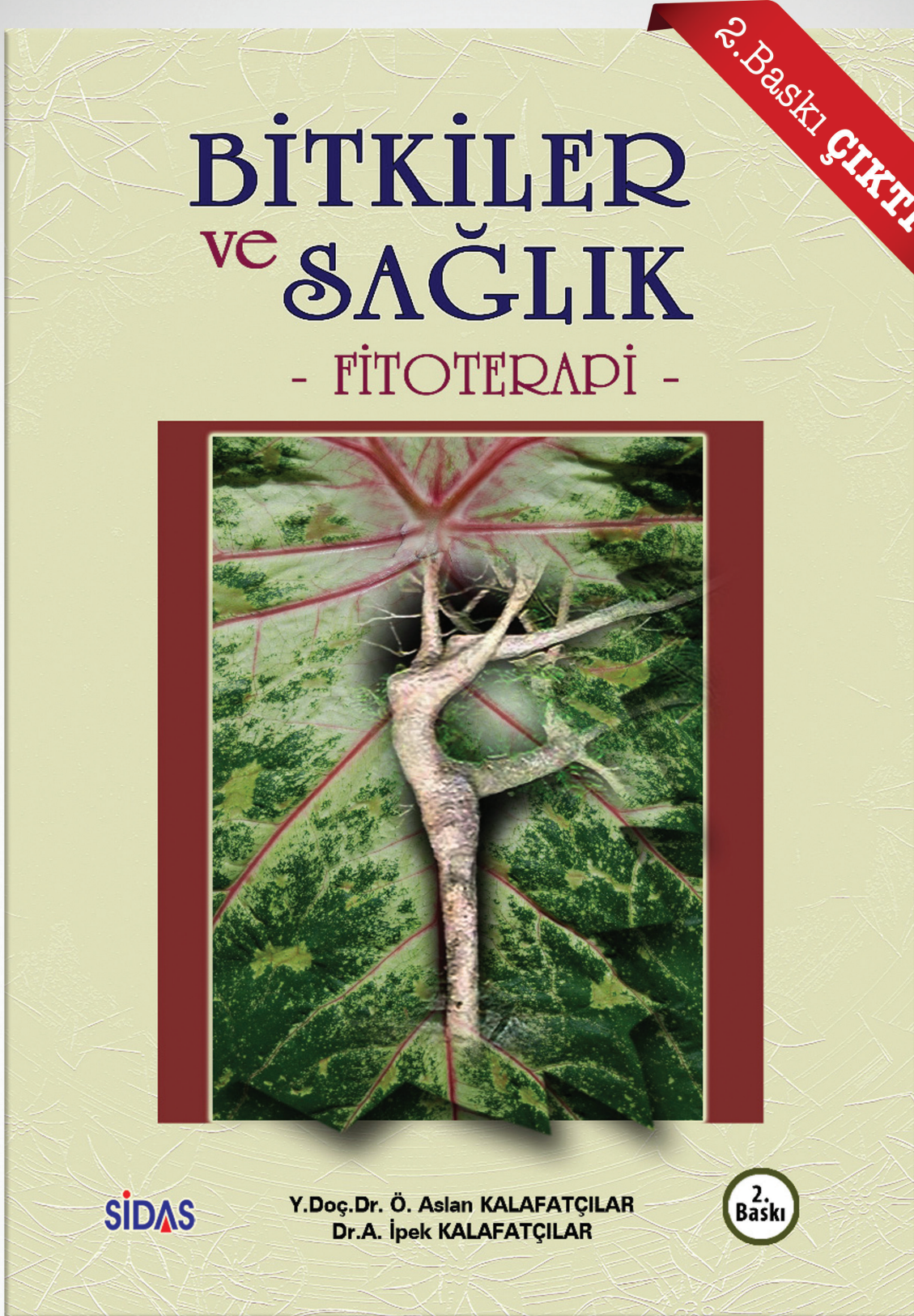
13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

---

---



[www.gidakitaplari.com](http://www.gidakitaplari.com)



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



# 2. ULUSAL SÜTÇÜLÜK KONGRESİ

[www.usko2019.com](http://www.usko2019.com)



**25-26**  
**NİSAN**  
**2019**  
**İZMİR**

Ege Üniversitesi  
Ziraat Fakültesi  
Prof. Dr. Feyzi Önder  
Konferans Salonu



**ZOOTEKNI**  
FEDERASYONU 2013

Kongre Organizasyon: **SİDAS MEDYA TANITIM LTD. ŞTİ.**

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi Kat:3 D:302 Çankaya / İZMİR

Tel: 0 232 441 60 01 Faks: 0 232 441 61 06 E-mail: [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

**SİDAS MEDYA**