

# GIDA



*THE JOURNAL OF FOOD*

E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 44

SAYI / NUMBER : 3

YIL / YEAR : 2019

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**GIDA** (Gıda Teknolojisi Derneği Yayını)  
**THE JOURNAL OF FOOD** (Published by the Association of Food Technology; Turkey)  
 Cilt / Volume: 44 • Sayı / Number: 3 • 2019  
 İki ayda bir yayımlanır / Published bimonthly  
**E-ISSN 1309-6273, ISSN 1300-3070**

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

<b>Editörler Kurulu / Editorial Board</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
<p><b>Baş Editör/ Editor-in Chief</b>            ÇAKIR, İbrahim; <i>Abant İzzet Baysal University, Turkey</i></p> <p><b>Editörler / Editors</b>            ERİNÇ, Hakan; <i>Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey</i>            HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i>            ÖZDEN, Özkan; <i>Istanbul University, Turkey</i>            TABAN, Birce; <i>Ankara University, Turkey</i></p> <p><b>Yönetim Yeri</b>  <b>Adres / Address</b>            Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey</p> <p><b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711  <b>E-posta/ E-mail:</b> <a href="mailto:dergi@gidadernegi.org">dergi@gidadernegi.org</a>  <b>URL:</b> <a href="http://www.gidadernegi.org">http://www.gidadernegi.org</a></p> <p><b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli</p> <p><b>Hazırlayan/ Prepared</b>            Onay Ofset Matbaacılık            G.M.K. Bulvarı No: 108/1 Maltepe / Ankara Turkey</p> <p><b>Tel:</b> (+90) 312 230 22 09  <b>e-mail:</b> <a href="mailto:onayofset@gmail.com">onayofset@gmail.com</a></p> <p><b>Yayın Tarihi/ Publication Date</b>            15 06 2019</p>	<p>Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i>            Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i>            Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i>            Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i>            Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i>            Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i>            Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i>            El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i>            Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i>            Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i>            Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i>            Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i>            Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i>            Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i>            Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i>            Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i>            Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i>            Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i>            Kaya, Mükerrrem <i>Atatürk University, Turkey</i>            Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i>            Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i>            Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i>            Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Frío, Spain</i>            Mujtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i>            Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i>            Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i>            Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i>            Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i>            Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i>            fiahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i>            fianlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünol,            Zeynep <i>Michigan State University, USA</i>            Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i></p>

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Öztürk, B., Zeyrekçe, B. *Utilization of flavor network analysis for a new recipe in Marmara region / Marmara bölgesinde yeni bir tatlı tarifi için lezzet bileşikleri ağ analizinin kullanımı* ..... 396-408

Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B. *Isolation of phages infecting Listeria monocytogenes / Listeria monocytogenes spesifik fajların izolasyonu* ..... 463-471

Sarıca, E., Coşkun, H., Kemer, İ. C., Samur, E. S., Çifçi, F. M., Aktaş, A., Erer, H., Vergili, E. *A comparative study on the shelf life of the yogurts produced from cow and buffalo milks / İnek ve manda sütünden yapılan yoğurtların raf ömürleri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma* ..... 483-490

Şirinyıldız, D. D., Aydın, E., Öztürk, Y., Avcı, T., Yıldırım, A., Yorulmaz, A. *The level of 3-MCPD fatty acid esters in vegetable oils and margarines collected from Turkish market / Türk piyasasından toplanan bitkisel yağlar ve margarinlerde 3-MCPD yağ asidi esterlerinin düzeyi* ..... 491-497

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Kamiloğlu, S. *Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi / Evaluation of polyphenol bioaccessibility in fresh and frozen apples and apple pomace* ..... 409-418

Kılınçer, F. N., Demir, M. K. *Çimlendirilmiş bazı tahıl ve baklagillerin fiziksel ve kimyasal özellikleri / Physical and chemical properties of germinated some cereals and legumes* ..... 419-429

Salman, S., Azarabadi, N., Özdemir, F. *Siyah çay harmanında partikül boyutu ve demleme süresinin dem özellikleri üzerine etkisi / The effect of particle size and brewing time on the infusion properties of tea blends* ..... 442-452

Hançer, A., Karabulut, İ. *Şeker pancarı besinsel lifinin fonksiyonel özellikleri üzerine farklı ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyonun etkileri / Effects of different extraction treatments and micronization on the functional properties of sugar beet dietary fibre* ..... 498-512

Köten, M., Satouf, M. *Farklı formülasyonlarda kahvaltılık zahter üretimi ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi / Production of breakfast zahter in different formulations and determination of some quality characteristics* ..... 513-522

Öner, Z., Sandağ, A. M. *Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler / The changes during maturation of the white cheese produced from goat milk* ..... 523-533

Atay, E., Altan, A. *Proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin koaksiyal elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen nanopartiküllerin morfolojik özellikleri üzerine etkisi / The effect of process parameters and solution properties on morphological characteristics of nanoparticles obtained by coaxial electrospraying* ..... 534-551

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Ata, Ö., Tavman, Ş. *Kolajen ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması / Comparison of collagen extraction methods* ..... 383-395

Fundagül Erem, F. *Probiyotik fırın ürünleri üretim yöntemleri / Production methods for probiotic bakery products* ..... 430-441

Erk, G., Seven, A., Akpınar, A. *Vegan ve vejetaryan beslenmede probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri / Feature of plant-based probiotic dairy products in vegan and vegetarian nutrition* ... 453-462

Aykın Dinçer, E. Erbaş, M. *Kurutulmuş et ürünlerinin kalite özellikleri / Quality properties of dried meat products* ..... 472-482

## KOLAJEN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

**Özge Ata\*, Şebnem Tavman**

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

Geliş / Received: 08.11.2018; Kabul / Accepted: 03.03.2019; Online baskı / Published online: 03.04.2019

Ata, Ö., Tavman, Ş. (2019). Kolajen ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *GIDA* (2019) 44 (3): 383-395 doi: 10.15237/gida.GD18112

Ata, Ö., Tavman, Ş. (2019). *Comparison of collagen extraction methods. GIDA* (2019) 44 (3): 383-395 doi: 10.15237/gida.GD18112

### ÖZ

Kolajen, memelilerde en bol bulunan proteindir. Gıda, ilaç, kozmetik ve deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan kolajen, ticari olarak, domuz ve sığır gibi memelilerin yan ürünlerinden elde edilmektedir. Şimdiye kadar tespit edilen en az 20 farklı kolajen tipi vardır. Vücuttaki kolajenlerin çoğu tip 1, tip 2 ve tip 3 grubuna aittir. Kolajen özellikleri, uygulanan ön işlem ve ekstraksiyon yöntemine göre değişmektedir. Tuzla çöktürme, asitle hidroliz ve enzimatik hidroliz yöntemleri kolajen ekstraksiyonu için kullanılmaktadır. Bununla beraber, son yıllarda yapılan çalışmalar, ultrason kullanımının ekstraksiyon verimini artırmada etkili olduğunu göstermiştir. Bu derlemede, ön işlemlerin ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin kolajen verimine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kolajen, ekstraksiyon, ultrason

## COMPARISON OF COLLAGEN EXTRACTION METHODS

### ABSTRACT

Collagen is the most abundant protein in mammals. Collagen, commonly used in the food, pharmaceutical, cosmetic and leather industries, is commercially derived from by-products of mammals, such as pig and bovine. There are at least 20 different types of collagen detected so far. Most of the collagen in the body belongs to type 1, type 2 and type 3. Collagen properties vary according to the pre-treatment and extraction method. Salting out, acid hydrolysis and enzymatic hydrolysis methods are used for collagen extraction. In addition, recent studies have shown that the use of ultrasound is effective in increasing the extraction efficiency. In this review, studies on the effect of pre-treatment and different extraction methods on collagen yield were investigated.

**Keywords:** Collagen, extraction, ultrasound

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ ozgeata93@gmail.com,

☎ (+90) 232 388 2395

☎ (+90) 232 342 75 92



## GİRİŞ

Kolajen, deri, kemik, kıkırdak ve tendon gibi farklı bağ dokularında bulunan ve memelilerde toplam proteinin yaklaşık %30'unu içeren lifli bir proteindir. Bağ dokuda son derece önemli yapısal bir protein olan kolajen molekülü, genellikle ağsı veya lifsi yapıdadır (Yang ve Shu, 2014). Ekstraselüler matriksin (ESM) önemli bir kısmını oluşturan kolajen biyolojik yapılardaki bağ rolü nedeniyle birçok canlı organizmada en çok bulunan moleküllerden biridir. Kolajen moleküllerinin ana görevi omurgalılara yapısal ve mekaniksel özellikler sağlamaktır (Ferraro vd., 2017).

Deri, kemik gibi kolajence zengin maddelerden sıcak su ile ekstrakte edilen kolajen, jelatin olarak da bilinir. Jelatinin enzimatik veya asidik hidroliz yoluyla daha ileri derecede parçalanması sonucu ise suda çözünür formdaki kolajen hidrolizatu elde edilir. Kolajen hidrolizatının antioksidan, anti-inflamatuar, antihipertansif, antiosteoporotik, antitümör gibi sağlığa faydalı birçok etkisi bulunur (Song ve Li, 2017). Kolajenin, çeşitli endüstriyel uygulamalara sahip olması kullanışlı biyomateryallerden biri olarak kabul görmesini sağlar (Lafarga ve Hayes, 2014). Yüksek protein içeriği ve su emme kapasitesi, jel oluşumu ve emülsiyonları oluşturma-stabilize etme gibi fonksiyonel özellikleri nedeniyle gıda endüstrisinde kolajen ve jelatin için büyük bir talep vardır (Schmidt vd., 2016). Bununla beraber, geniş hammadde kaynaklarına sahip olması, yenilenebilir, parçalanabilir, biyo- uyumlu ve yapısının ayarlanabilir olması kolajen proteinin sahip olduğu avantajlardandır. Bu nedenle, sağlık ürünlerinde, gıdalarda, kozmetikte, tıbbi malzemelerde yaygın şekilde kullanılır (Yang ve Shu, 2014).

Kolajen yapısına göre lifli, lifsiz (ağ oluşturucu,) fibril, mikrofibril (ipliksi) ve membran olarak sınıflandırılan en az 20 farklı kolajen tipi vardır. Her kolajen tipi ayırt edici amino asit sekansı ile moleküler yapısına sahiptir ve her biri dokuda benzersiz bir rol oynar (Cheng vd., 2009). Genellikle, kolajenlerdeki amino asit sekansları, enerji depolama kapasitesi, sertlik veya esneklikle ilgili fonksiyonel özelliklerden sorumludur

(Ehrlich vd., 2018). Kolajen yapısında on dokuz farklı amino asit bulunur ve ortalama olarak kolajendeki toplam amino asitlerin %57'sini glisin, prolin ve hidroksiprolin oluşturur (Li ve Wu, 2018).

Molar kütleinin, yapının, bileşimin dağılımı ve kolajenin fonksiyonel özellikleri, elde edildiği hammaddenin işlem koşullarına ve ekstraksiyon sürecinde kullanılan enzimin özgünlüğüne bağlıdır. Bu nedenle, yüksek verim ve en iyi kolajen özelliklerini elde etmek için her hammaddeye uygun ekstraksiyon sürecinin belirlenmesi gereklidir (Schmidt vd., 2016). Bu çalışmada, kolajen kaynakları, ön işlemlerin ve farklı ekstraksiyon proseslerinin kolajen verimine etkisi ile ilgili yapılan çalışmaların araştırılması amaçlanmıştır.

## KOLAJEN

Kolajen, hayvanlarda bulunan farklı bağ dokuların temel yapısal proteindir. Çoğunlukla tendonlar ve ligamentler gibi lifli dokularında bulunan kolajen ayrıca kornea, kıkırdak, kemik, kan damarları, bağırsak ve omurlar arası disklerde de bol miktarda bulunur (Sibilla vd., 2015).

Kolajen molekülleri, sarmal yapıda üç polipeptit zincirden meydana gelir. Polipeptit alt birimler olan  $\alpha$ -zincirler, kolajen molekülünün üçlü sarmalını oluşturur. İki  $\alpha$  zinciri,  $\beta$ -peptit zinciri olarak bilinen bir peptit zincir dimerine dönüşürken, üç  $\alpha$  zinciri,  $\gamma$ -peptit zinciri (tropokolajen molekülü) olarak bilinen peptit zincir trimerine dönüşür (Yang ve Shu, 2014). Her bir peptit zinciri yaklaşık 100 kDa'lık molar kütle ile ortalama 300 nm uzunluğunda, 1.5 nm çapındadır ve karakteristik üçlü bir sarmalda birbiri etrafında sarılmış tam 1050 aminoasit kalıntısı içerir (Lodish vd., 2000). Genel olarak, kolajendeki aminoasit dizisi tekrarlayan tripeptit birimidir (Gly-X-Y). Gly, glisin, X sıklıkla prolin, Y ise hidroksiprolindir. İnsanlarda bulunan ve literatürde rapor edilen en az yirmi farklı kolajen tipi vardır (Gelse vd., 2003; Ricard-Blum, 2011; Mohammadi vd., 2016; Ferraro vd., 2017; Avila-Rodríguez vd., 2018; Bhagwat vd., 2018; Ehrlich vd., 2018). Ancak vücuttaki kolajenlerin %80-90'ı tip 1, tip 2 ve tip 3 grubuna aittir. Diğer kolajen

tipleri çok düşük miktarlarda, özellikle kalp kası, bağırsak mukozası, bazal membran ve akciğer gibi spesifik organlarda bulunur (Schmidt vd., 2016). Başlıca kolajen tipleri aşağıda özetlenmiştir:

Tip I kolajen  $[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)$  insan vücudunda en çok bulunan ve en dayanıklı olan kolajen tipidir. İki eşdeğer  $\alpha 1$  ve bir  $\alpha 2$  zincirinden oluşur. Başlıca deride, tendonlarda, kemikte, ligamentlerde ve bağ dokusunda bulunur (Krishnamoorthivd., 2017).

Tip II kolajen  $[\alpha 1(II)]_3$ , kıkırdak dokusunun başlıca kolajenidir. Üç  $\alpha 1(II)$  zincirinden oluşur. Kıkırdaktaki toplam protein içeriğinin %90-95'ini oluşturur (Jeevithan vd., 2015). Etki mekanizması itibariyle, osteoartrit/romatoid artrit gibi eklem hastalıklarının tedavisinde kullanılır.

Tip III kolajen  $[\alpha 1(III)]_3$  ağ yapılı liflerden oluşmaktadır ve ekstraselüler matrisin temel bileşenidir. Üç  $\alpha 1(III)$  zincirinden oluşur. Genellikle tip I kolajenle beraber bulunur. Cildin elastikiyetini ve sıklığını sağlar. Kan damarında, yaralarda ve belirli tümörlerde bulunur (Liu vd., 2001).

Kolajen, yapısı ve üç boyutlu organizasyonu temel alındığında, fibril oluşturan kolajenler, ağ oluşturuvcu kolajenler, kesintili üçlü sarmallı fibril ilişkili kolajenler (FACIT), ankraj fibrilleri, transmembran, bazal membran, mikrofibriler kolajen ve multipleksin olarak gruplandırılır. Çizelge 1'de farklı kolajen yapılarına ait kolajen tipleri ve dokudaki dağılımları listelenmiştir.

Çizelge 1. Farklı yapıdaki kolajen tipleri (Gelse vd., 2003)

Familya	Tip	Bulunduğu yer
Fibril oluşturan kolajenler	I	tendon, ligamentler, kemik, dermis
	II	kıkırdak, camsı cisim
	III	deri, retiküler lif
	V	akciğer, plasenta, kornea
	XI	camsı cisim, eklem kıkırdağı
Ağ oluşturuvcu kolajenler	VIII	endotel hücreleri
	X	hipertrofik kıkırdak
FACIT kolajenler	IX	kıkırdak, kornea, camsı cisim
	XII	perikondrium, ligamentler, tendon
	XIV	dermis, tendon, plasenta, akciğer
	XIX	rabdomiyosarkom hücresi
	XX	embriyonik deri, sternal kıkırdak, tendon
	XXI	kan damarı duvarı
Ankraj fibrilleri	VII	oral mukoza, deri
Transmembran kolajenler	XIII	epidermis, saç folikülü, endomisyum
	XVII	dermal - epidermal eklemler
Bazal membran kolajenler	IV	bazal membran
Mikrofibriler kolajen	VI	deri, kıkırdak, plasenta, omurlar arası disk
Multipleksin	XV	fibroblastlar, düz kas hücreleri, böbrek
	XVI	fibroblastlar, amniyon, keratinositler
	XVIII	karaciğer, akciğer

Toplam kolajenin yaklaşık %90'ını oluşturan en bol ve yaygın kolajen familyası, fibril oluşturan kolajenlerdir (Gelse vd., 2003). Kolajen fibrilleri, dokuya bağlı olarak yaklaşık 12-500 nm aralığında değişmektedir (Kadler vd., 2007). Kolajen fibrilleri, kolajenlerin ve kolajen olmayan proteinlerin veya proteoglikanların makromoleküler alaşımları olarak düşünülebilir (Ricard-Blum vd., 2011). FACIT yapıdaki kolajenler, nispeten kısa kolajenlerdir. Üçlü sarmal alanda kesintiye uğrarlar ve kolajen fibrillerinin yüzeylerinde bulunabilirler (Kadler vd., 2007). Ağ oluşturuvcu kolajen yapısındaki tip X ve VIII kolajenler yapısal olarak kısa zincirli kolajenlerdir. Bu kolajen tipleri altıgen ağlar oluşturur. Kolajen ağları, hücre ve dokuları destekleyici yapılar olarak işlev görür. Bununla beraber, gelişmekte olan embriyoları içerir ve korur; komşu hücreler için ankraj işlevi görür (Balasubramanian vd., 2012). Ankraj fibriller büyük ölçüde tip VII kolajenden oluşur. Tip VII kolajen, ESM fonksiyonu ve stabilitesi için çok önemlidir (Karsdal ve Mortensen, 2016). Membran kolajenleri, bazal membran ve transmembran olmak üzere 2 farklı formda bulunur. Hücre etkileşiminde önemli rol oynayan Tip IV kolajen, bazal membranın ana bileşenidir. Transmembran kolajen tipleri ise genellikle deride ve deri altı bağ yerlerinde bulunur. ESM'de geniş lifleri bir araya getiren mikrofibriller yapıdaki tip VI kolajen derinin önemli bir kolajen bileşenidir. Kolajen proteini, özel bir amino asit bileşimine sahip olmasıyla diğer proteinlerden farklıdır. Yapısında on dokuz farklı amino asit bulunduran kolajen, zorunlu

amino asitlerden histidin, izolösin, lösin, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, tirozin ve valini içerir. Kolajenin amino asit karakteristiği olan hidroksiprolin, kolajenin termal stabilitesini belirler ve kolajenin kantitatif tayininde kullanılır (Włodarczyk vd., 2017). Bununla birlikte, hidroksiprolinin, hayvanların çoklu dokularında glisin sentezi, bağ doku yapısının onarımı, hücrel redoks reaksiyonlarının düzenlenmesi gibi birçok fonksiyonu vardır (Li ve Wu, 2018).

## KOLAJEN EKSTRAKSİYONU

### Kolajen Kaynakları

Kolajen ekstraksiyonu için en sık kullanılan hammaddeler, deri veya postlar, kemikler, tendonlar ve kıkırdaklardır (Gómez-Guillén vd., 2011). Ticari kolajenlerin birçoğu, özellikle sığır ve domuz gibi memeli hayvanların yan ürünlerinden elde edilir (Arumugam vd., 2018). Ancak, sığırlarda görülen deli dana hastalığı (BSE), ayak-ağız hastalığı (FMD) ve inanca dayalı kısıtlamalar gibi problemler, araştırmacıları kolajen için farklı hammaddeler arayışına yönlendirmiştir. Bu gibi nedenlerle, son yıllarda yapılan çalışmalarda, balık yan ürünleri kolajen eldesi için alternatif ve güvenli bir kaynak olarak görülmektedir. Özellikle deri, pul ve yüzgeç gibi kolajence zengin olan yan ürünlere ilgi artmaktadır (Dun vd., 2008). Bununla beraber, kümes hayvanı kesim atıklarından kolajen ekstraksiyonuyla ilgili çalışmalar da literatürde mevcuttur. Çizelge 2'de kolajen ekstraksiyonunda kullanılan bazı hammaddeler görülmektedir.

Çizelge 2. Kolajen ekstraksiyonu ile ilgili çalışmalarda kullanılan materyal

Memeli hayvanlar	Kullanılan Materyal	
	Kümes hayvanları	Balık
Sığır derisi (De Moraes ve Cunha, 2013)	Tavuk ayağı (Liu vd., 2001; Cheng vd., 2009; Hashim vd., 2014; Zhou vd., 2016;	Deri (Ninan vd., 2014; Sionkowska vd., 2015; Sun vd., 2017; Ali vd., 2018; Arumugam vd., 2018; Li vd., 2018)
Sığır kemiği (Ferraro vd., 2017)	Dhakal vd., 2018)	Hava kesesi (Kaewdang vd., 2014)
Sığır tendonu (Ran ve Wang, 2014)	Tavuk kemiği (Dong vd., 2014)	Pul (Chuaychan vd., 2015; Chen vd., 2016; Mahboob, 2015; Bhagwat ve Dandge, 2016; Huang vd., 2016)
Domuz testisi (Simões vd., 2014)	Tavuk derisi (Lin vd., 2013;	Balık Kılçığı (Liu ve Huang, 2016; Tsutaya vd., 2018)
Domuz derisi (Yang ve Shu, 2014)	Oechsle vd., 2016)	Kıkırdak (Liang vd., 2014; Jeevithan vd., 2015; Bu vd., 2017)
Koyun kemikleri (Gao vd., 2017)		İskelet (Jeevithan vd., 2014)

Kolajen ekstraksiyonunda kullanılan hammaddelerin genelde deri, kemik, ayak ve pul gibi insan tüketimi amacıyla kullanılmayan hayvansal yan ürünlerden oluştuğu gözlenmiştir. Bu yan ürünlerin kullanılarak katma değeri yüksek olan kolajen üretilmesi, hayvansal atıkların da verimli bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

### Ön İşlemler

Kolajen ekstraksiyonu için hammaddeye göre farklılık gösteren bir asit veya alkali çözelti kullanılarak birtakım ön işlemler gerçekleştirilir. Ön işlemler, kolajen olmayan maddeleri uzaklaştırmak ve yüksek verime ulaşmak amacıyla uygulanır. Alkali işlemler, genel olarak kemik ve deri gibi kararlı ve son derece çapraz bağlanmış malzemeler için kullanılır (See vd., 2015). Alkali işlemlerde hammadde, sodyum hidroksit (NaOH), magnezyum oksit (MgO) ve kalsiyum hidroksit (Ca(OH)<sub>2</sub>) gibi bazik bir çözelti ile muamele edilir. Özellikle NaOH muamelesi deride önemli bir şişmeye sebep olarak doku matriksindeki kütle transfer hızını artırır ve kolajen ekstraksiyonunu kolaylaştırır (Liu vd., 2015a). Alkali işlemin ardından asit ile nötralizasyon işlemi, kolajen olmayan proteinleri uzaklaştırmakla birlikte iyi bir jel özelliği ve yüksek verimle sonuçlanabilecek nötr ya da zayıf asit ekstraksiyon ortamı da sağlar (Zhou ve Regenstein, 2005). Kullanılan asidin türü ve konsantrasyonu, şişme özelliklerine ve kolajenin çözünmesine büyük ölçüde etki eder (Manjula vd., 2015). Bununla birlikte, yüksek yağ içeriğine sahip deriler için, lifler yağ uzaklaştırma işlemiyle yumuşatılarak kolajen saflığı ve ekstraksiyon verimi artırılabilir. Xu vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, geliştirilmiş ön işlemlerin (yağ uzaklaştırma ve ağartma) güney yayın balığı (*Silurus meridionalis Chen*) derisinden ekstrakte edilen kolajenin saflığı ve verimi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Elektroforez, hidroksiprolin içeriği ve ekstraksiyon hızının değerlendirilmesi sonucu, %0.5 hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) çözeltisinde (pH 10) ağartma işlemi gerçekleştirilmiş ve yağdan arındırılmış deriden ekstrakte edilen kolajenin diğer ağartma koşullarına kıyasla daha yüksek verim ve saflık gösterdiği gözlenmiştir.

Uygulanan ön işlemler ile kullanılan kimyasalların türü ve konsantrasyonu ekstraksiyonun fonksiyonel etkinliği için önemlidir. Kolajen özellikleri, ön işlemlere bağlı olarak değişmektedir. Bu sebeple, ürün verimi ve kalitesi açısından kullanılacak olan kimyasalların türü ve konsantrasyonu iyi belirlenmelidir.

### Ekstraksiyon Yöntemleri

Kolajen özellikleri hammaddeye ve ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişir. En çok kullanılan ekstraksiyon yöntemleri kolajenin nötr tuzlu çözeltiler, asit çözeltileri ve enzimlerin eklendiği asit çözeltilerindeki çözünürlüğüne dayanır (Schmidt vd., 2016).

### Tuzla Çöktürme

Genel olarak tuz ile çöktürme yöntemi, ekstraksiyon ve çöktürme olarak 2 aşamadan meydana gelir. Tuzun konsantrasyonunu kontrol etmek, bu yöntemdeki kilit noktadır. Bir protein çözeltisine düşük tuz konsantrasyonlarında nötral tuz ilave edildiğinde, tuz molekülleri proteinlerin çözünürlüğünü arttıran moleküller arasındaki elektrostatik enerjiyi azaltarak protein moleküllerinin çözünürlüğünü artırır (tuzla çözdürme=salting in). Yüksek tuz konsantrasyonlarında nötral tuz ilave edildiğinde ise, hidrofobik gruplar etrafındaki su molekülleri tuz molekülleri tarafından uzaklaştırılır; bu durumda hidrofobik etki artar, çözünürlük azalır ve proteinler çöker (tuzla çöktürme= salting out). Tuzla çöktürme yönteminde, öncelikle çözünürlük artırılarak proteinler ekstrakte edilir, sonrasında ise çözünürlük azaltılarak proteinlerin çökmesi sağlanır (Duong-Ly ve Gabelli, 2014). Çöktürme işleminde genellikle, NaCl (sodyum klorür), Tris-HCl (Tris (hidroksimetil) aminometan hidroklorür), fosfat veya sitrat çözeltisi gibi nötr tuz çözeltileri kullanılır (Yang ve Shu, 2014).

Kolajen ekstraksiyonunda tuzla çöktürme yönteminin prensibi esas olarak çözünür kolajeni dokulardan ekstrakte etmektir. Zhou vd. (2016) çalışmasında, tavuk ayaklarından tuzda (sodyum klorür), asitte (asetik asit) ve enzimde (pepsin) çözünür kolajen ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Ön işlemleri tamamlanmış tavuk ayakları, tuzla

ekstraksiyon işleminde (0.05 mol/L Tris-HCl içinde 0.45 mol/L NaCl, pH 7.5) tuz çözeltisi içinde; asitle ekstraksiyon işleminde 0.5 mol/L asetik asit çözeltisinde; enzimle ekstraksiyon işleminde % 0.1 (w/v) pepsin içeren 0.5 mol/L asetik asit çözeltisinde 48 saat bekletilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonunda elde edilen her bir kolajenin verimi kıyaslandığında; tuzda çözünür kolajenin en düşük verime (%1.13 kuru ağırlık bazında) sahip olduğu gözlenmiştir.

Duan vd. (2013) NaCl'nin kolajen çözeltisinin reolojik özelliklerini de etkilediğini bildirmiştir. Düşük NaCl konsantrasyonlarında (0-0.1mol/L) salting in etkisi ve çözeltilerin psödoplastik davranışının zayıfladığı tiksotropinin ise güçlendiği görülürken; yüksek NaCl konsantrasyonlarında (0.1-0.3 mol/L) salting out etkisi ve çözeltilerin psödoplastik davranışının güçlendiği ancak tiksotropide belirgin bir değişim olmadığı gözlenmiştir. Hayvan dokularında, protein moleküllerinin birbirine çapraz bağlı olmasından dolayı çözünür kolajen miktarı da azdır, bu durum genellikle düşük kolajen verimi ve saflığına yol açar (Liu vd., 2015b). Bu yüzden tuzla ekstraksiyon yönteminin kullanımı sınırlıdır.

#### **Asitle Hidroliz**

Asit hidrolizi, asetik asit, sitrik asit ve laktik asit gibi organik asitler ve hidroklorik asit gibi inorganik asitler kullanılarak gerçekleştirilir. Organik asitler çapraz bağlanmamış kolajenleri çözme yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda kolajen içindeki zincirler arası çapraz bağların bir kısmını kırarak ekstraksiyon sırasında kolajenin daha fazla çözünmesini sağlar (Liu vd., 2015a). Asetik asit, kolajen ekstraksiyonu için en yaygın kullanılan organik çözügendir. Chen vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada tatlısu çipurasının (*Oreochromis niloticus*) pul ve derisinden asit-çözünür kolajen ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ön işlemleri tamamlanmış pul ve deriler, 0.5mol/L asetik asit ile 4°C'de 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Deri ve pullardan ekstrakte edilen asit-çözünür kolajen (ASC) verimi sırasıyla 27.2g /100 g ve 3.2g /100 g (kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir. Wang vd. (2008), asetik asit konsantrasyonunun (0.3, 0.5 ve 0.8 mol/L), sıcaklığın (10, 20 ve 30 °C) ve ekstraksiyon süresinin (12, 24 ve 36 saat)

ekstraksiyon verimine etkisini değerlendirerek, ot sazını (*Ctenopharyngodon idella*) derisinden ASC ekstraksiyon koşullarını optimize etmiştir. Test edilen üç değişkenin de kolajen ekstraksiyonunu belirgin şekilde etkilediği gözlenmiştir. Sıcaklığın ve asetik asit konsantrasyonunun artışıyla verim belirli bir değere kadar artış göstermiş, daha sonra ise azalmıştır. Ot sazını derisinden en yüksek verimle ASC elde etmek için optimum koşullar; asetik asit konsantrasyonu 0.54 mol/L, sıcaklık 24.7°C ve süre 32.1 saat olarak belirlenmiştir. Liu vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada, tavuk ayaklarından kolajen ekstraksiyonu için farklı asitlerin etkisi değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, ekstraksiyon işlemi %5 oranında 4 farklı asit (asetik asit, sitrik asit, hidroklorik asit ve laktik asit) kullanılarak tavuk ayağı/çözelti oranı 1:8 (w/v) olacak şekilde farklı sürelerde (12, 24, 36 ve 48 saat) gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, kolajen verimi (%), kolajen (%), saf kolajen (g /100g) ve kolajen kaybı (%) miktarları kıyaslandığında optimum koşul 36 saat laktik asit uygulaması olarak belirlenmiştir. Laktik asit ve asetik asit, kolajen ekstraksiyonu için etkin çözücülerdir. Gómez-Guillén ve Montero (2001), güçlü bir asitin (yüksek  $k_a$  ve düşük pH değeri) kolajen ekstraksiyon hızını artırdığını belirtmiştir. Ancak, pH değeri (<2.0) olan asitlerin, ekstraksiyon sırasında kolajen denatürasyonu ve sindirime yol açtığı belirtilmiştir (Cheng vd., 2009). Bununla beraber, kuvvetli asitlerin (pH<2.0) yarattığı düşük pH ortamının, kolajen ekstraksiyon verimini azalttığını bildiren çalışmalarda literatürde mevcuttur (Liu vd., 2001; Cheng vd., 2009; Lin vd., 2013; Liu ve Huang., 2016).

Asit ile hidroliz yönteminde konsantrasyon, pH değeri, sıcaklık ve işlem süresi gibi değişkenler ekstraksiyon verimini etkiler. Bununla birlikte, asit ve enzimle hidroliz işlemleri beraber uygulandığında daha yüksek verimlere ulaşıldığı bilinmektedir (Chuaychan vd., 2015; Mahboob, 2015; Ali vd., 2017; Zhang ve Duan, 2017).

#### **Enzimatik Hidroliz**

Enzimatik hidroliz, kompleks moleküllerin monomerlerine ayrıştırılmasının enzimlerin eklenmesiyle gerçekleştirildiği bir işlemdir.

Proteinlerin enzimatik hidrolizi, proteinlerin fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için önemli bir biyoproses olarak görülmektedir (Sarbon vd., 2018). Proteazlar, proteinlerdeki peptit bağlarını hidrolize ederler ve bu amaçla gıda endüstrisinde de yaygın olarak kullanılırlar (Temiz, 2014). Pepsin, papain, ve tripsin kolajen ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılan proteaz enzimleridir (Jung vd., 2014; Yasothai ve GiriPrasad, 2015; Liu vd., 2016; Yu vd., 2018). Genellikle telopeptitleri parçalayarak

kolajen ekstraksiyonunu kolaylaştıran enzimler bununla birlikte, kolajenin üçlü sarmal yapısını da korur (Chuaychan vd. 2015; Gao vd., 2017). Ali vd. (2018) ve Riaz vd. (2018), Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) sonuçlarına dayanarak elde ettikleri bulgularla, pepsinin kolajenin üçlü sarmal yapısını koruduğunu göstermişlerdir. Enzimatik hidroliz, kolajen ekstraksiyonu için kullanılan ideal yöntemlerden biri olarak görülür. Çizelge 3’de kolajenin enzimatik hidroliz yöntemiyle ekstraksiyonuna dair çalışmalar verilmiştir.

Çizelge 3. Kolajenin enzimatik hidroliziyle ilgili bazı çalışmalar

Materyal	Yöntem	Sonuç	Referans
Kalamar Derisi	0.5 mol/L asetik asitte, deri/çözelti oranı 1:250 (w/v) olacak şekilde ve %0.1 pepsin (w/w) kullanılarak 4 °C’de 72 saat boyunca karıştırma işlemi	Kolajen verimi %75.3 (kuru ağırlık bazında) olarak belirlenmiştir. ASC verimine (%6.27) kıyasla, kolajen veriminin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir	Kittiphattanabawon vd. (2015)
Tavuk ayağı	Papain ve pepsin enzimlerinin ekstraksiyon verimine etkisini incelemek amacıyla, %0.1 (w/v) enzim içeren 0.5 mol/L asetik asitte 4 °C’de 24 saat boyunca karıştırma işlemi	Papain ve pepsinle ekstrakte edilen kolajen verimleri sırasıyla %18.16 ve %22.94 (kuru ağırlık bazında) olarak belirlenmiştir	Hashim vd. (2014)
Tavuk derisi	1:10 (w/v) oranında 0.5 mol/L organik asit (laktik asit, asetik asit, sitrik asit) ve %0.1 (w/v) pepsin kullanılarak 4°C’de 24 saat karıştırma işlemi	Asetik asit/pepsin kombinasyonunda en yüksek kolajen verimine (%3.68±0.27); sitrik asit/pepsin kombinasyonunda ise en düşük kolajen verimine (% 1.99±0.28) ulaşılmıştır.	Lin vd. (2013)
Koyun kemikleri	ASC ve pepsinde çözünür kolajen (PSC) özelliklerini kıyaslama amacıyla, ASC ekstraksiyonu için, 1:10 (w/v) oranında 0.5 mol/L asetik asitte, PSC ekstraksiyonu için pepsin içeren 0.5 mol/L asetik asitte 4°C’de 3 gün boyunca karıştırma işlemi	Denatürasyon sıcaklıkları (T <sub>d</sub> ) karşılaştırıldığında, PSC’nin daha düşük denatürasyon sıcaklığına sahip olduğu gözlenmiştir. Amino asit içeriklerinde anlamlı bir fark gözlenmezken, kolajenin önemli bir bileşeni olan hidroksiprolin miktarının PSC’de biraz daha fazla olduğu görülmüştür.	Gao vd. (2017)

Enzimatik hidroliz yöntemi diğer yöntemlere göre daha maliyetli olmasına rağmen; yüksek kolajen verimi ve saflığı sunar. Bununla beraber, proses kontrolünü kolaylaştırır ve son ürünün özelliklerini iyileştirerek ürün kalitesini artırır (Iltchenco vd., 2017).

### **Kolajen Ekstraksiyonunda Ultrason Kullanımı**

Ultrason sözlük anlamı itibariyle, 20 kHz'in üzerinde bir frekansta herhangi bir sese karşılık gelir. Düşük ve yüksek şiddetli ultrason olarak sınıflandırılır. Düşük şiddetli ultrason, bir maddenin yapısı, bileşimi, fiziksel durumu gibi fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi için kullanılırken; yüksek şiddetli ultrason, hücre yıkımı, emülsifikasyon, enzimatik inaktivasyon ve kimyasal reaksiyonları desteklemek için kullanılır (Song vd., 2018). Ultrason, sıvı sistemlerde kavitasyon olarak adlandırılan bir etki yaratır. Bu olay sıvı içinde kabarcık oluşumu, büyümesi ve sönmesiyle ilgilidir (Tavman vd., 2009). Ultrason frekansı arttıkça, sıvı içinde kavitasyonun yoğunluğu ve üretimi azalır (Chemat vd., 2017).

Ultrasonikasyon, işlem süresini kısaltmak, ürün kalitesini artırmak ve gıda ürünlerinin güvenliğini korumak için tasarlanan ve hızla gelişen tekniklerden biri olarak görülmektedir. Son yıllarda kurutma, karıştırma, homojenizasyon ve ekstraksiyon işlemlerindeki kütle transferini hızlandırmak amacıyla yüksek şiddetli ultrasonun kullanıldığı çalışmalar artış göstermiştir (Majid vd., 2015). Ultrasonikasyon işlemi, protein konjugatlarının üretilmesinde ve proteinlerin enzimatik hidrolizinin iyileştirilmesinde etkili bir yöntem olarak görülmektedir (Chen vd., 2011). Kolajen ekstraksiyonunda ultrason kullanımıyla ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermeye başlamıştır. Ali vd. (2017), ultrasonun sazan balığı (*Probarbus jullieni*) derisinden asitte ve pepsinde çözünür kolajen ekstraksiyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ultrason uygulamasıyla beraber (20 kHz) kolajen veriminin önemli ölçüde arttığı, işlem süresinin ise kısaldığı görülmüştür. Dairesel dikroizm (CD) ve FTIR sonuçları, ultrason uygulamasıyla elde edilen kolajenlerin üçlü sarmal yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Kolajenlerin elektroforez modelleri incelendiğinde, ultrasonun

protein yapısı ve kolajenin ana bileşenleri olan  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  ve  $\beta$  zincirlerini değiştirmediği görülmüştür. Kim vd. (2013) japon levreği (*Lateolabrax japonicus*) derisinden kolajen ekstraksiyonu için farklı asetik asit konsantrasyonlarında (0.01, 0.05, 0.1 mol/L) 0-24 saat aralığında ultrason (20 kHz, darbeli mod 20/20 saniye) destekli ekstraksiyon gerçekleştirmişlerdir. Kontrol örneği ise aynı koşullar altında 0.5 mol/L asetik asitle ekstrakte edilmiştir. Sonuçlar, ultrason uygulamasının düşük asit konsantrasyonu (0.01 M) kullanıldığında bile, 0.5 mol/L asetik asitli geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre daha verimli olduğunu göstermiştir. Li vd. (2009) sığır tendonundan pepsinde çözünür kolajen eldesi için ultrason destekli ekstraksiyon (40 kHz, 120 W, darbeli mod 30/30 dakika) gerçekleştirmişlerdir. Pepsin uygulamasında, örnekler 0.5 mol/L asetik asit çözeltisi içinde pepsin ile 2 gün boyunca ekstrakte edilmiştir. Ultrason+pepsin uygulamasında ise ekstra ultrason basamağı haricinde, prosedür pepsin uygulamasıyla tamamen aynıdır. Sonuçlar, ultrason uygulamasının kolajen verimini %124'e kadar arttırdığını ve işlem süresini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Sonuçlar, ultrason uygulamasının enzim aktivitesini ve kolajen substratının çözünmesini arttırarak kolajen fibrillerini açtığı, dolayısıyla enzimatik hidrolizi kolaylaştırdığını göstermiştir.

Ultrason teknolojisi, sürdürülebilir 'yeşil' kimyası hedefine ulaşmada önemli bir rol oynar (Chemat vd., 2017). Ultrasonun diğer yöntemlere göre güvenli, ucuz, tekrarlanabilir ve çevre dostu olması gibi pek çok avantajı vardır (Zou vd., 2017). Kolajen ekstraksiyonunda ultrason kullanımı kullanılan asit miktarını ve ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltmakla beraber, verimi de büyük ölçüde arttırmaktadır (Song vd., 2018). Ancak ultrasonun enzim aktivitesi üzerindeki etkisine dair çalışmalar hala çok sınırlıdır. Bununla birlikte, uzun süreli ultrason uygulaması, ortamda kavitasyona yol açarak basıncın ve sıcaklığın artışına neden olabilir (Schmidt vd., 2016).

### **SONUÇ**

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, kolajen ekstraksiyonu için balık yan ürünlerine olan ilginin

arttığı görülmüştür. Yan ürünlerden, katma değeri yüksek kolajen eldesi temiz ve sürdürülebilir üretim açısından önem taşımaktadır. Kolajen ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılan yöntemler; tuzla çöktürme, asitle hidroliz ve enzimatik hidrolizdir. Tuzla çöktürme yönteminde, daha düşük kolajen verimi elde edildiğinden dolayı kullanımı sınırlıdır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, asitle hidroliz yönteminin yaygın olarak kullanıldığı görülmüştür. Kullanılan asidin türü ve konsantrasyonu kolajen ekstraksiyonu için önemlidir. Asitle hidroliz yönteminin enzimle beraber uygulandığında, daha yüksek verimlere ulaşıldığı bilinmektedir. Kolajen ekstraksiyonu için enzim kullanımı ideal yöntemlerden biridir. Enzimatik hidroliz yönteminin, düşük enerji tüketimi, yüksek kolajen verimi ve saflığı sunması, reaksiyon koşullarının hafif olması vb. avantajlara sahip olmasından dolayı kullanımı tercih edilmektedir. Ultrason kullanımı kolajen yapısına zarar vermeden verimi artırır, ekstraksiyon süresini ise kısaltır. Yapılan çalışmalar, ultrasonunun ekstraksiyon etkinliğini arttırmak için etkili bir araç olduğunu kanıtlar niteliktedir. Ancak, ultrasonun enzim aktivitesi ve kolajen yapısı üzerine etkilerinin daha iyi değerlendirilmesi için çalışmalar arttırılmalıdır.

#### KAYNAKLAR

Ali, A. M. M., Benjakul, S., Kishimura, H. (2017). Molecular characteristics of acid and pepsin soluble collagens from the scales of golden carp (*Probarbus jullieni*). *Emir J Food Agric*, 29(6): 450-457.

Ali, A. M. M., Kishimura, H., Benjakul, S. (2018). Extraction efficiency and characteristics of acid and pepsin soluble collagens from the skin of golden carp (*Probarbus Jullieni*) as affected by ultrasonication. *Process Biochem*, 66: 237-244.

Arumugam, G. K. S., Sharma, D., Balakrishnan, R. M., Ettiyappan, J. B. P. (2018). Extraction, optimization and characterization of collagen from sole fish skin. *Sustainable Chem Pharm*, 9: 19-26.

Avila Rodríguez, M. I., Rodríguez Barroso, L. G., Sánchez, M. L. (2018). Collagen: A review on its

sources and potential cosmetic applications. *J Cosmet Dermatol*, 17: 20–26.

Balasubramanian, P., Prabhakaran, M. P., Sireesha, M., Ramakrishna, S. (2012). Collagen in human tissues: structure, function, and biomedical implications from a tissue engineering perspective. In: *Polymer Composites–Polyolefin Fractionation–Polymeric Peptidomimetics–Collagens*, Pasch, H.(chief ed.), Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 173-206.

Bhagwat, P. K., Dandge, P. B. (2016). Isolation, characterization and valorizable applications of fish scale collagen in food and agriculture industries. *Biocatal Agric Biotechnol*, 7, 234-240.

Bhagwat, P. K., Dandge, P. B. (2018). Collagen and collagenolytic proteases: A review. *Biocatal Agric Biotechnol*, 15: 43-55.

Bu, Y., Elango, J., Zhang, J., Bao, B., Guo, R., Palaniyandi, K., Robinson, J. S., Geevaretnam, J., Regenstein, J. M., Wu, W. (2017). Immunological effects of collagen and collagen peptide from blue shark cartilage on 6T-CEM cells. *Process Biochem*, 57: 219-227.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason Sonochem*, 34: 540-560.

Chen, J., Li, L., Yi, R., Xu, N., Gao, R., Hong, B. (2016). Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *LWT-Food Sci Technol*, 66: 453-459.

Chen, L., Chen, J., Ren, J., Zhao, M. (2011). Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *J Agric Food Chem*, 59(6): 2600-2609.

Cheng, F.Y., Hsu, F.W., Chang, H.S., Lin, L.C., Sakata, R. (2009). Effect of different acids on the extraction of pepsin-solubilised collagen containing melanin from silky fowl feet. *Food Chem*, 113(2): 563–567.



- Chuaychan, S., Benjakul, S., Kishimura, H. (2015). Characteristics of acid-and pepsin-soluble collagens from scale of seabass (*Lates calcarifer*). *LWT-Food Sci Technol*, 63(1): 71-76.
- De Moraes, M. C., Cunha, R. L. (2013). Gelation property and water holding capacity of heat-treated collagen at different temperature and pH values. *Food Res Int*, 50(1): 213-223.
- Dhakar, D., Koomsap, P., Lamichhane, A., Sadiq, M. B., Anal, A. K. (2018). Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. *Food Biosci*, 23: 23-30.
- Dong, X. B., Li, X., Zhang, C. H., Wang, J. Z., Tang, C. H., Sun, H. M., Jia, W., Li, Y., Chen, L. L. (2014). Development of a novel method for hot-pressure extraction of protein from chicken bone and the effect of enzymatic hydrolysis on the extracts. *Food Chem* 157: 339-346.
- Duan, L., Li, J., Li, C., Li, G. (2013). Effects of NaCl on the rheological behavior of collagen solution. *Korea-Aust Rheol J*, 25(3): 137-144.
- Dun, R., Jackson, H. T., Smith, Y. (2008). Methods for processing and utilization of low cost fishes: a critical appraisal. *J Food Sci Technol*, 32: 1-12.
- Duong-Ly, K. C., Gabelli, S. B. (2014). Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation. *Methods Enzymol*, 541: 85-94.
- Ehrlich, H., Wysokowski, M., Zóltowska-Aksamitowska, S., Petrenko, I., Jesionowski, T. (2018). Collagens of Poriferan Origin. *Mar Drugs*, 16(3): 1-21.
- Ferraro, V., Martinie, B.G., Sayd, T., Chambon, C., Anton, M., Lhoutellier, V.S. (2017). Collagen type I from bovine bone. Effect of animal age, bone anatomy and drying methodology on extraction yield, self-assembly, thermal behaviour and electrokinetic potential. *Int J Biol Macromol*, 97: 55-66.
- Gao, L. L., Wang, Z. Y., Li, Z., Zhang, C. X., Zhang, D. Q. (2017). The characterization of acid and pepsin soluble collagen from ovine bones (Ujumuin sheep). *J Integr Agr*, 17(3): 704-711.
- Gelse, K., Pöschl, E., Aigner, T. (2003). Collagens – structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Delivery Rev*, 55: 1531-1546.
- Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll*, 25(8): 1813-1827.
- Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. (2001). Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boschii*) skins with several organic acids. *J Food Sci*, 66(2): 213-216.
- Hashim, P., Ridzwan, M. M., Bakar, J. (2014). Isolation and characterization of collagen from chicken feet. *Int J Bioeng Life Sci*, 8(3): 250-254.
- Huang, C. Y., Kuo, J. M., Wu, S. J., Tsai, H. T. (2016). Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion-hydro-extraction process. *Food chem*, 190: 997-1006.
- Iltchenco, S., Kempka, A. P., Prestes, R. C. (2017). Profiles of enzymatic hydrolysis of different collagens and derivatives over time. *R Bras Tecnol Agroindustri*, 11(1): 2165-2185.
- Jeevithan, E., Jingyi, Z., Wang, N., He, L., Bao, B., Wu, W. (2015). Physico-chemical, antioxidant and intestinal absorption properties of whale shark type-II collagen based on its solubility with acid and pepsin. *Process Biochem*, 50(3): 463-472.
- Jeevithan, E., Wu, W., Nanping, W., Lan, H., Bao, B. (2014). Isolation, purification and characterization of pepsin soluble collagen isolated from silvertip shark (*Carcharhinus albimarginatus*) skeletal and head bone. *Process Biochem*, 49(10): 1767-1777.
- Jung, K. H., Choi, Y. C., Chun, J. Y., Min, S. G., Hong, G. P. (2014). Effects of concentration and reaction time of trypsin, pepsin, and chymotrypsin on the hydrolysis efficiency of porcine placenta. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 34(2): 151-157.
- Kadler, K. E., Baldock, C., Bella, J., Boot-Handford, R. P. (2007). Collagens at a glance. *J Cell Sci*, 120(12): 1955-1958.

- Kaewdang, O., Benjakul, S., Kaewmanee, T., Kishimura, H. (2014). Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chem*, 155: 264-270.
- Karsdal, M. A., Mortensen, J. H. (2016). Type VII collagen. In: *Biochemistry of collagens, laminins and elastin: structure, function and biomarkers*, Karsdal, M. A. (chief ed.), Academic Press, Denmark, pp. 57-60.
- Kim, H. K., Kim, Y. H., Park, H. J., Lee, N. H. (2013). Application of ultrasonic treatment to extraction of collagen from the skins of sea bass *Lateolabrax japonicus*. *Fish sci*, 79(5): 849-856.
- Kittiphattanabawon, P., Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H. (2015). Characteristics of pepsin-solubilised collagen from the skin of splendid squid (*Loligo formosana*). *J Chem*, 2015: 1-8.
- Krishnamoorthi, J., Ramasamy, P., Shanmugam, V., Shanmugam, A. (2017). Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of *Sepia pharaonis* (Ehrenberg, 1831) from Puducherry coast. *Biochem biophys rep*, 10: 39-45.
- Lafarga, T., Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Sci*, 98(2): 227-239.
- Li, D., Mu, C., Cai, S., Lin, W. (2009). Ultrasonic irradiation in the enzymatic extraction of collagen. *Ultrason sonochem*, 16(5): 605-609.
- Li, J., Wang, M., Qiao, Y., Tian, Y., Liu, J., Qin, S., Wu, W. (2018). Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical scaffold material for tissue engineering. *Process Biochem*, 74: 156-163.
- Li, P., Wu, G. (2018). Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. *Amino Acids*, 50(1): 29-38.
- Liang, Q., Wang, L., Sun, W., Wang, Z., Xu, J., Ma, H. (2014). Isolation and characterization of collagen from the cartilage of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). *Process Biochem*, 49(2): 318-323.
- Lin, C. W., Loughran, M., Tsai, T. Y., Tsai, S. W. (2013). Evaluation of convenient extraction of chicken skin collagen using organic acid and pepsin combination. *J. Chin. Soc. Anim. Sic*, 42(1): 27-38.
- Liu, D. C., Lin, Y. K., Chen, M. T. (2001). Optimum Condition of Extracting Collagen from Chicken Feet and its Characteristics. *Asian-Australas J Anim Sci*, 14(11): 1638-1644.
- Liu, D., Wei, G., Li, T., Hu, J., Lu, N., Regenstein, J. M., Zhou, P. (2015a). Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. *Food Chem*, 172: 836-843.
- Liu, D., Zhang, X., Li, T., Yang, H., Zhang, H., Regenstein, J. M., Zhou, P. (2015b). Extraction and characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from the scales, skins and swim-bladders of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food Biosci*, 9: 68-74.
- Liu, H., Huang, K. (2016). Structural Characteristics of Extracted Collagen from Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Bone: Effects of Ethylenediaminetetraacetic Acid Solution and Hydrochloric Acid Treatment. *Int J Food Prop*, 19(1): 63-75.
- Liu, Y., Andarawis-Puri, N., Eppell, S. J. (2016). Method to extract minimally damaged collagen fibrils from tendon. *J Biol Methods*, 3(4): e54.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J. (2000). Molecular Cell Biology. Section 22.3 : Collagen: The Fibrous Proteins of the Matrix, Edited by W. H. Freeman, New York.
- Mahboob, S. (2015). Isolation and characterization of collagen from fish waste material- skin, scales and fins of *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala*. *J Food Sci Technol*, 52(7): 4296-4305.
- Majid, I., Nayik, G. A., Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food Agric*, 1(1): 1071022.
- Manjula, U. D. P., Jayamanne, S. C., Thushari, G. G. N. (2015). Effect of pretreatment on physical

- properties of yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) fish glue. *Int J Fish Aquat Stud*, 2(4S): 14-21.
- Mohammadi, R., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Rouhi, M., Ghasemi, J. B., Delshadian, Z. (2016). Extraction optimization of pepsin-soluble collagen from eggshell membrane by response surface methodology (RSM). *Food chem*, 190: 186-193.
- Ninan, G., Joseph, J., Aliyamveetil, Z. A. (2014). A comparative study on the physical, chemical and functional properties of carp skin and mammalian gelatins. *J Food Sci Technol*, 51(9): 2085–2091.
- Ran, X. G., Wang, L. Y. (2014). Use of ultrasonic and pepsin treatment in tandem for collagen extraction from meat industry by-products. *J Sci Food Agric*, 94(3): 585-590.
- Riaz, T., Zeeshan, R., Zarif, F., Ilyas, K., Muhammad, N., Safi, S. Z., Rahim, A., Rizvi, S. A. A., Rehman, I. U. (2018). FTIR analysis of natural and synthetic collagen. *Appl Spectrosc Rev*, 53(9): 703-746.
- Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3: 1-19.
- Sarbon, N. M., Badii, F., Howell, N. K. (2018). Purification and characterization of antioxidative peptides derived from chicken skin gelatin hydrolysate. *Food Hydrocoll*, 85: 311-320.
- Schmidt, M. M., Dornelles, R. C. P., Mello, R. O., Kubota, E. H., Mazutti, M. A., Kempka, A. P., Demiate, I. M. (2016). Collagen extraction process. *Int Food Res J*, 23(3): 913-922.
- See, S. F., Ghassem, M., Mamot, S., Babji, A. S. (2015). Effect of different pretreatments on functional properties of African catfish (*Clarias gariepinus*) skin gelatin. *J Food Sci Technol*, 52(2): 753-762.
- Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., Genovese, L. (2015). An Overview of the Beneficial Effects of Hydrolysed Collagen as a Nutraceutical on Skin Properties: Scientific Background and Clinical Studies. *Open Nutraceuticals J*, 8: 29-42.
- Simões, G. S., Silveira, E. T. F., de Oliveira, S. R., Poleze, E., Allison, J. R., Ida, E. I., Shimokomaki, M. (2014). Optimum conditions for extracting collagen from the tunica albuginea of immunologically castrated pig testes and the functional properties of the isolated collagen. *Meat Sci*, 96(4): 1460-1468.
- Sionkowska, A., Kozłowska, J., Skorupska, M., Michalska, M. (2015). Isolation and characterization of collagen from the skin of *Brama australis*. *Int J Biol Macromol*, 80: 605-609.
- Song, H., Li, B. (2017). Beneficial Effects of Collagen Hydrolysate: A Review on Recent Developments. *Biomed J Sci & Tech Res*, 1(2): 1-4.
- Song, K. M., Jung, S. K., Kim, Y. H., Kim, Y. E., Lee, N. H. (2018). Development of industrial ultrasound system for mass production of collagen and biochemical characteristics of extracted collagen. *Food Bioprod Process*, 110: 96-103.
- Sun, L., Hou, H., Li, B., Zhang, Y. (2017). Characterization of acid-and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int J Biol Macromol*, 99: 8-14.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z. (2009). Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *GIDA*, 34(3): 175-182.
- Temiz, A. (2014). Enzimler. *Gıda Kimyası, Saldamlı, İ.* (baş ed.), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 392.
- Tsutaya, T., Takahashi, T., Schulting, R. J., Sato, T., Yoneda, M., Kato, H., Weber, A. W. (2018). Effects of lipid extraction and different collagen extraction methods on archaeological fish bones and its implications for fish bone diagenesis. *J Archaeol Sci Rep*, 20: 626-633.
- Oechsle, A. M., Akgün, D., Krause, F., Maier, C., Gibis, M., Kohlus, R., Weiss, J. (2016). Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. *Food Struct*, 7: 29-37.
- Wang, L., Yang, B., Du, X., Yang, Y., Liu, J. (2008). Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface

- methodology. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 9(4): 604-607.
- Włodarczyk, M. G., Kubisz, L., Włodarczyk, D. (2017). Amino acid composition in determination of collagen origin and assessment of physical factors effects. *Int J Biol Macromol*, 104: 987-991.
- Xu, S., Yang, H., Shen, L., Li, G. (2017). Purity and yield of collagen extracted from southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) skin through improved pretreatment methods. *Int J Food Prop*, 20(sup1): S141-S153.
- Yang, H., Shu, Z. (2014). The extraction of collagen protein from pigskin. *J Chem Pharm Res*, 6(2): 683-687.
- Yasothai, R., Giriprasad, R. (2015). Extraction of protein by enzymatic hydrolysis. *Int J Environ Sci Technol*, 4(1): 190-192.
- Yu, F., Zong, C., Jin, S., Zheng, J., Chen, N., Huang, J., Chen, Y., Huang, F., Yang, Z., Tang, Y., Ding, G. (2018). Optimization of Extraction Conditions and Characterization of Pepsin-Solubilised Collagen from Skin of Giant Croaker (*Nibea japonica*). *Mar Drugs*, 16(1): 29.
- Zhang, J., Duan, R. (2017). Characterisation of acid-soluble and pepsin-solubilised collagen from frog (*Rana nigromaculata*) skin. *Int J Biol Macromol*, 101: 638-642.
- Zhou, C., Li, Y., Yu, X., Yang, H., Ma, H., Yagoub, A. E. A., Cheng, Y., Hu, J., Otu, P. N. Y. (2016). Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. *LWT-Food Sci Technol*, 74: 145-153.
- Zhou, P., Regenstein, J. M. (2005). Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska pollock skin gelatin extraction. *J Food Sci*, 70(6): c392-c396.
- Zou, Y., Xu, P., Li, P., Cai, P., Zhang, M., Sun, Z., Sun, C., Xu, W., Wang, D. (2017). Effect of ultrasound pre-treatment on the characterization and properties of collagen extracted from soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*). *LWT-Food Sci Technol*, 82: 72-81.



## UTILIZATION OF FLAVOR NETWORK ANALYSIS FOR A NEW RECIPE IN MARMARA REGION

Bengü Öztürk <sup>a,b, \*</sup>, Burçak Zeyrekçe <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Yeditepe University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Kayisdagi Cad., Istanbul, Turkey.

<sup>b</sup> Yeditepe University, Faculty of Fine Arts, Department of Gastronomy and Culinary Arts, Kayisdagi Cad., Istanbul, Turkey.

Received / Geliş: 30.12.2018; Accepted / Kabul: 08.04.2019; Published online / Online baskı: 26.04.2019

Ozturk, B., Zeyrekce, B. (2019). Utilization of flavor network analysis for a new recipe in marmara region. *GIDA* (2019) 44 (3): 396-408 doi: 10.15237/gida.GD19012

Ozturk, B., Zeyrekce, B. (2019). Utilization of flavor network analysis for a new recipe in marmara region. *GIDA* (2019) 44 (3): 396-408 doi: 10.15237/gida.GD19012

### ABSTRACT

Natural flavor compounds give natural taste and odor characteristics to the food ingredients. According to food pairing theory, ingredients that contain higher number of shared flavor compounds go well together in a dish. In this study, flavor network analysis was used to create a new food in Marmara Region by evaluating the ingredient pairs based on number of shared compounds. A new dessert with four main ingredients, rice, milk, bean and figs that shared higher number of flavor compounds was formulated. Among the flavour compounds, eight of them were common in all four ingredients and they interestingly had similar taste and odor characteristics which showed how flavor pairing worked well in design of new dish. According to 9-point hedonic scale of consumer preference test, 80% of 20 panelists extremely liked the dish. Knowledge on flavour science and food pairing theory will pave the way to create highly preferable food formulations.

**Keywords:** Network analysis, flavor compounds, new recipe, sensory characteristics, Marmara region

## MARMARA BÖLGESİNDE YENİ BİR TATLI TARİFİ İÇİN LEZZET BİLEŞİKLERİ AĞ ANALİZİNİN KULLANIMI

### ÖZ

Doğal lezzet bileşikleri gıda malzemelerine karakteristik tat ve koku özelliklerini vermektedir. Gıda eşleştirme teorisine göre, yüksek sayıda ortak lezzet bileşiği içeren gıda malzemeleri birbiriyle uyum içerisinde güzel tat veren bir yemek oluşturabilir. Bu çalışmada, Marmara Bölgesi'nde yeni bir tarif oluşturmak için, malzemeler içerdikleri ortak bileşik sayısına göre değerlendirilip tat bileşikleri ağ analizi metodu kullanıldı. Yüksek sayıda ortak bileşik içeren eşleştirmelerden pirinç, süt, kuru fasulye ve incir malzemelerini ihtiva eden yeni bir tatlı geliştirildi. Ortak bileşiklerden sekiz tanesinin dört malzeme de bulunduğu ve şaşırtıcı bir şekilde birbiriyle benzer tat ve koku maddeleri içerdiği görüldü ki bu da lezzet eşleştirme teorisinin bu bölgedeki yeni bir tarif için kullanılabilirliğini göstermektedir. 9-noktalı hedonik skala testine göre, 20 panelistin %80'i 'Fevkalade beğendim' seçeneğini işaretlemiştir. Lezzet bilimi ve gıda eşleştirme teorisinin bilinmesi, tüketimi çok tercih edilen yeni gıda formülasyonlarının geliştirilmesi imkânını bize verebilecektir.

**Anahtar kelimeler:** Ağ analizi, lezzet bileşikleri, yeni tarif, duyu özellikleri, Marmara Bölgesi

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ bengu.ozturk@yeditepe.edu.tr,

☎ (+90) 216 578 1480

☎ (+90) 216 578 0400

### INTRODUCTION

Flavor, the common sensory attribute, can be used to describe the harmony of aroma and taste of any food and beverage. Taste can be perceived by taste buds and aroma can be perceived by olfactory nerves in the nose. Moreover some other sensory attributes such as mouthfeel, even emotions, thoughts, and spirits can also play role to determine the flavor of any dish by human beings (Dornenburg and Page, 2008). Flavor compounds are chemical compounds including volatile and nonvolatiles that give odor and taste characteristics to the foods and beverages (Burdock, 2009; Reineccius, 2006). They can be formed upon various physical and biochemical reactions during planting, harvesting and processing of any food material or due to the intentional use of microbial catalysts (Reineccius, 2006; Taylor and Hort, 2007).

Methods of digitalization help to process big data in culinary science and convert it into more understandable mapped form that can be used efficiently by online end-users (Mouritsen et al., 2017; Pinel et al., 2015). Starting from the birth of Industry 4.0, the most recent industrial revolution worldwide, the use of digital technologies (i.e. big data, data mining, internet of things, cyber-physical systems, intelligent information technologies) have been increased at various disciplines (Geissbauer et al., 2016; Toroa et al., 2015). Digitalism took role different applications in food related area such as 3-D food printing, developing culinary ontologies, digital control of food production lines using artificial intelligence, etc. (Ergün Öztürk and Öztürk, 2018; Ghaswala et al., 2018; Higgings, 2017; Kutup, 2017; McNamara, 2017; Mizrahi et al., 2016). One of the application areas of digitalism in gastronomy field is the use of network science in creating new recipes and it was stated that computational gastronomy seemed be a promising field that will facilitate to cope with the increased digitized data in food science. Therefore, new term computational gastronomy or digital gastronomy has been developed by the researchers as a new interdisciplinary scientific field (Ahnerts, 2013; Kutup, 2017; Mizrahi et al., 2016).

Network analysis method is based on network theory that states the analysis of relations of elements that have some connection between one another through mathematical graphs (Shrinivas et al. 2010). It is widely used in computer sciences, but also applicable in many different research fields, such as genetics and bioengineering, medicine, ecology, food science and gastronomy, social sciences, and management etc. (Ahn et al., 2011; Ahnert, 2013; Barabási et al., 2011; Borgatti et al., 2009; Dunne et al., 2002; Habibi et al., 2014). One of the best application areas of network analysis in food science is its utilization in food and flavor pairing so as appeared in the example of 'Foodpairing.be' created by Bernhard Lahousse and Lieven de Couvreur (Kort et al., 2010). Flavor perception and pairing of unusual ingredients are recent interested topics of gastronomy researches. Indeed, there has been a hypothesis developed for creating new dishes by the chefs Henson Blumenthal and Francois Benzi in 1992, stating that 'ingredients would taste well together in a dish if they share common flavor compounds'. This hypothesis helped Chef Blumenthal to create unique tastes of dishes that consumers highly preferred and consequently paved the way to receive 3 Michelin stars for his restaurant 'The Fat Duck' (Blumenthal, 2009). Flavor network analysis was described as the method of analyzing the pairs of ingredients in terms of common flavor compounds they contain. In this method, pairings were formed by constructing a one mode projection of bipartite network of food ingredients in which a link signified the natural occurrence of a chemical flavor compound in an ingredient (Ahnerts, 2013).

There have been limited studies on flavor pairing of different cuisines in worldwide, and in our study the use of flavor network analysis in the recipes of Marmara region in Turkey was the target. Marmara Region has two sides, Anatolia and Trace separated by the Bosphorus, and is surrounded by Black Sea Region and Central Anatolia Region in the east, Aegean Region in the south, and Greece and Bulgaria in the northwest (Şengül et al., 2015). Istanbul, the cosmopolitan city having the highest population of Turkey is

located in this region. An abundant culinary understanding developed by the combination of Anatolian and Rumelia cultures in the city Edirne and the effect of Rumelia and Balkan immigrants in Bursa cuisine all contributed to the diversity of ingredients and related dishes within this region. The richness and diversity that the geography offers are reflected in the culinary culture of the region (Akkor, 2009; Bozis, 2002; Halici, 1990; Şengül et al., 2015).

In this study, it was aimed to create a new dish by utilization of flavor network analysis to find the possible pairings of ingredients that are used in food recipes in Marmara Region, and conduct sensory evaluation of new dish using hedonic scale of consumer preference and questionnaire methods.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Materials**

Rice, dried beans, milk and fig are purchased from Metro Grossmarket in Istanbul. The utensils used to cook the dessert were found in the execution kitchen of the department.

### **Methods**

#### **Selection of food recipes and ingredients in Marmara region**

Recipes of different meal groups consumed in Marmara Region were searched and recipes from soups, main dishes, salads, and desserts were decided to be selected to provide diversity of different tastes. Piyaz (Bean Salad), Cerkez Tavugu (Circassian chicken), Ayvali Et (Meat with quince), Terbiyeli suyu kofte (Seasoned sauce meatballs), Tekirdag Meatballs, Pirasa Dolmasi (Stuffed Leek), Firinda koy tabagi (Country Dish in the Kiln), Kayisili Uzumlu Pilav (Rice with apricot and raisin), Zerde, Nohutlu Manti (Ravioli with Chickpeas), Bulgurlu Sut Corbasi (Milk soup with Bulgur), Incir Dolmasi (Stuffed Figs) were the analyzed recipes taken from the reference book called "Marmara Bolgesi Yemekleri" (Bayrak, 2015).

#### **Data mining and flavor network analysis for a new plate design**

Each ingredient in the chosen recipes was scanned in the Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients (Burdock, 2009). The book tabulates the flavor compounds, their taste and odor threshold values, and the food materials in those the compounds exist. Names of flavor compounds of selected ingredients of the chosen recipes were extracted from this reference one by one, and were meticulously listed. After all, common flavor compounds among the ingredients were determined and a matrix chart was formed.

A flavor network diagram was designed illustrating the relations of individual ingredients on their own with regard to the flavor compounds they share with the links. The width of each link was determined by the number of shared compounds between individuals. The higher the number of shared compounds the wider the links between two ingredients. A new dish was planned to be developed by considering the ingredients that shared highest number of flavor compounds among the scanned ones.

#### **Sensory evaluation of consumer preference**

Consumer preference of the new dish was evaluated using a nine-point hedonic scale of sensory evaluation method (Pimentel et al., 2016). The new dish was served to twenty volunteer students (9 females and 11 males) at the department. The taste of the new dessert was asked to be evaluated based on overall liking level. A questionnaire to be filled out by each student was prepared including the questions, such as if they liked to experience new tastes, knew about flavor compounds, and if there was a similarity between the local tastes they had before, if they would order this meal on a menu of a restaurant.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Food recipes from Marmara Region**

Recipes were chosen according to the number and variety of ingredients they contained and from different dish groups, such as desserts, salads and main dishes using the reference book of Marmara Bolgesi Yemekleri (Bayrak, 2015).

## Flavor network analysis for a new recipe in Marmara region

Among them eight recipes; Bulgurlu süt çorbasi (Milk soup with Bulgur), Piyaz (Bean Salad), Terbiyeli sulu kofte (Seasoned sauce meatballs), Tekirdag Meatballs, Pırasa Dolması (Stuffed Leek), Kayisili Uzumlu Pilav (Rice with apricot and raisin), Zerde, Incir Dolması (Stuffed Figs) were chosen for this study due to the diverse and higher number of ingredients they included

(Table 1). The Turkish measuring units in the recipes were converted into equivalent values of international volumetric and weight basis unit system. For example, Turkish style tea glass used as volumetric measuring unit was converted into international unit on weight basis (i.e. 1 tea glass of bulgur equals to 80 g bulgur).

Table 1. Ingredients of selected recipes from Marmara Region (Bayrak, 2015)

<i>Milk soup with Bulgur</i>	<i>Rice with apricot and raisin</i>	<i>Bean Salad</i>	<i>Zerde Dessert</i>
200-300 g chicken meat	2 cups of rice	1.5 cups dry bean	¼ cup of rice
80 g bulgur	2-3 dried apricots	0.5 cup olive oil	2-3 dried apricots
4 cups milk	2 Tsp raisins	2 eggs (boiled)	6 cups water
Salt	1 onion		2 Tsp wheat starch
	3 Tsp butter	2 onions	120 g sugar
	3 cups of beef stock or water	Half bunch parsley	2 Tsp of rose water
	1 tsp cinnamon	7-8 olives	2 Tsp of blackcurrant
	2 thin slices of lemon	Juice of 1.5 lemon	2 Tsp of pine nuts
	Salt	Salt	1 tsp turmeric or saffron
<i>Seasoned sauce meatballs</i>	<i>Tekirdağ Meatballs</i>	<i>Stuffed Leek</i>	<i>Stuffed Figs</i>
1 celery	500 g ground beef	500 g leek	20 pieces of dried figs
1 carrot	1 onion	200 g of ground mutton	2 cups of walnuts
1 onion	1 slice of bread	1 onion	80 ml grape molasses
200 g. ground mutton	1 clove of garlic	2 Tsp rice	1 cup of water
2 Tsp of rice	1 tsp cumin	Half a bunch of parsley	
2 tablespoons of flour	A pinch of sodium bicarbonate	1 egg yolk	
2 potatoes	1 tsp black pepper	Juice of half lemon	
1 lemon juice	1 tsp red pepper flakes	Salt	
1 egg yolk	Salt	Black pepper	
Half a bunch of parsley			
Salt			
Black pepper			

\*Tsp: tablespoon; tsp: teaspoon.

The ingredients from the chosen recipes were determined according to their existence in the book Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients the main comprehensive handbook in the literature (Burdock, 2009). For this aim, sixteen ingredients of these dishes were scanned and the ingredients, celery, carrots, leeks, rice, potatoes, eggs, beef, black currants, dried beans, pumpkin,

yoghurt, figs, apricots, onion, chicken and milk existed in the natural occurrence section in the table of the flavor compounds (Burdock, 2009). The names and numbers of chemical compounds for each ingredient were extracted from the book and the numbers of shared compounds for each pair of ingredients were counted, after that a matrix table of shared compounds was developed.



The number of flavor compounds found in each ingredient were as followings: 77 in dried bean, 26 in egg, 55 in onion, 44 in chicken, 107 in apricot, 63 in celery, 43 in carrots, 79 in rice, 76 in

potatoes, 31 in ground beef, 39 in leek, 13 in pumpkin, 49 in black currant, 29 in yogurt, 103 in milk, 33 in fig (Table 2).

Table 2. Matrix of shared compounds of ingredients

	Cellery	Carrot	Leek	Rice	Potato	Black currant	Bean	Yogurt	Fig	Onion	Chicken	Milk
Cellery	63	24	8	28	19	13	19	9	9	9	5	16
Carrot	24	43	4	16	14	10	15	6	5	6	4	11
Leek	8	4	39	19	13	5	13	6	11	18	5	22
Rice	28	16	19	79	31	9	38	15	18	17	18	39
Potato	19	14	13	31	76	9	20	6	9	12	14	26
Black currant	13	10	5	9	9	49	11	6	5	8	3	10
Bean	19	15	13	38	20	11	77	9	14	12	10	31
Yogurt	9	6	6	15	6	6	9	29	5	8	3	15
Fig	9	5	11	18	9	5	14	5	33	1	3	16
Onion	9	6	18	17	12	8	12	8	1	55	4	21
Chicken	5	4	5	18	14	3	10	3	3	4	44	12
Milk	16	11	22	39	26	10	31	15	16	21	12	103

On the other hand, the list of shared flavor compounds in each pair of these ingredients was formed by matching same compounds of each pair. There were 38 common flavor compounds between rice and bean, 18 common flavor components between rice and fig, 14 common flavor compounds between bean and fig, 39 common flavor compounds between milk and rice, 31 common flavor compounds between milk and bean, 16 common flavor compounds between milk and fig (Table 3). Finally, in order to formulate a new dish, rice, dried beans, milk and fig were selected as the main ingredients since they contained the highest number of shared compounds among the others. In this ingredient group that would form the new dish, 73.4% of the flavor compounds in rice were shared ones, while fig, bean, and milk, contributed 67 %, 54.5 %, 50.4 %, respectively (Table 3).

Furthermore, according to the analysis it was observed that the composition of some dishes in

Marmara region were consistent with food pairing hypothesis. For example, the dish 'Milk soup with bulgur' contained chicken and milk that shared 12 flavor compounds, 'rice with apricot and raisin' and 'zerde' contained rice and apricot sharing 23 flavor compounds, celery and carrot in the dish 'Seasoned sauce meatballs' had 24 common flavor compounds, whereas leek and rice in the dish 'stuffed leek' contained 19 common compounds (Table 2). These might show that among the dishes analyzed in Marmara region most of them contained ingredients that were engaged (consistent) with food pairing hypothesis.

In the study of Ahn et al. 2011, foods in North American cuisine mostly justified by the hypothesis as well, whereas recipe data analysis results showed that East Asian dishes were not consistent with ingredient flavor pairing hypothesis. Moreover, recipes in Arab cuisine, Indian cuisine and Macedonian cuisine were analyzed in terms of flavor pairing. For example,

Tallab and Alrazgan (2016) pointed out the possible effect of applicability of food pairing method in Arab cuisine would increase innovation in various disciplines starting with food business. In another study, the contribution of each ingredient to the recipes in Macedonian cuisine was calculated and black pepper, egg, flour, sunflower oil onion, milk and garlic contributed at least 20% in the recipes. The

average value of number of ingredients in the recipes was approximately 7, which is closer to the value that was calculated in our study as 8 when 12 recipes were scanned (data not shown). In the same study, the number of shared compounds of ingredient pairs dominated approximately less than 20, only a few of the pairs shared flavor compounds upper than 80 (Bogojeska et al., 2015).

Table 3. List of shared flavor compounds in selected ingredients (extracted from Burdock, 2009)

Rice and bean (38)	Rice and fig (18)	Rice and milk (39)
1-methylnaphthalene	1-octanol	1-methylnaphthalene
1-octanol	1-octen-3-ol	1-octanol
1-octen-3-ol	2-heptanone	2-heptanone
2,3,5-trimethylpyrazine	2-hexenal	2-hexenal
2,4-nonadienal	2-methoxy-4-vinylphenol	2-methylbutyraldehyde
2-methoxy-4-vinylphenol	2-octanone	2-methylpentanal
2-methylbutyraldehyde	2-pentylfuran	2-methylpyrazine
2-nonenal	6-methyl-5-hepten-2-one	2-nonanone
2-octanone	Heptyl alcohol	2-octanone
2-pentanone	Hexanal	2-tridecanone
3-methylbutyraldehyde	Hexyl alcohol	2-undecanone
3-penten-2-one	Indole	3-methylbutyraldehyde
Alpha-terpineol	n-nonanal	9,12-octadecadienoic acid plus 9,12,15-octadeca-trienoic acid
Guaiacol	n-octanal	Decanal
Hexanoic acid	Nonyl alcohol	Heptyl alcohol
Hexyl alcohol	Octanoic acid	Hexanal
Lauric acid	Palmitic acid	Hexanoic acid
Lauryl alcohol	Phenethyl alcohol	Hexyl alcohol
Linalool		Indole
Methyl disulfide		Lauric acid
Methyl sulfide		Linalool
Myristic acid		Methyl disulfide
Nerolidol		Methyl mercaptan
n-nonanal		Methyl sulfide
n-octanal		Myristic acid
Nonanoic acid		n-nonanal
Nonyl alcohol		n-octanal
n-valeraldehyde		Nonanoic acid
Octanoic acid		Nonyl alcohol
Palmitic acid		n-valeraldehyde
Phenethyl alcohol		Octanoic acid
Phenol		Phenethyl alcohol
Phenylacetaldehyde		Phenol
Propionaldehyde		Phenylacetaldehyde
Propyl alcohol		Propionaldehyde
p-vinylphenol		Propionic acid
Undecanoic acid		Pyridine
$\gamma$ -nonalactone		Undecanal
		$\gamma$ -nonalactone

Table 3. *cont'd* List of shared flavor compounds in selected ingredients (extracted from Burdock, 2009)

Bean and Fig (14)	Bean and Milk (31)	Fig and Milk (16)
1-octanol	1-methylnaphthalene	1-octanol
1-octen-3-ol	1-octanol	2-heptanone
2-methoxy-4-vinylphenol	2-methylbutyraldehyde	2-hexenal
2-octanone	2-octanone	2-octanone
3-hexen-1-ol	3-methylbutyraldehyde	Heptanoic acid
Heptanoic acid	Furfuryl alcohol	Heptyl alcohol
Hexyl alcohol	Heptanoic acid	Hexanal
Isobutyl alcohol	Hexanoic acid	Hexyl alcohol
n-nonanal	Hexyl alcohol	Indole
n-octanal	Isoamyl acetate	Isobutyl alcohol
Nonyl alcohol	Isobutyl alcohol	Methyl butyrate
Octanoic acid	Lauric acid	n-nonanal
Palmitic acid	Linalool	n-octanal
Phenethyl alcohol	Maltol	Nonyl alcohol
	Methyl disulfide	Octanoic acid
	Methyl sulfide	Phenethyl alcohol
	Myristic acid	
	n-nonanal	
	n-octanal	
	Nonanoic acid	
	Nonyl alcohol	
	n-valeraldehyde	
	Octanoic acid	
	Phenethyl alcohol	
	Phenol	
	Phenylacetaldehyde	
	Propionaldehyde	
	Styrene	
	Vanillin	
	$\gamma$ -hexalactone	
	$\gamma$ -nonalactone	

A similar research on food pairing analysis in regional recipes was conducted in India. Most of the recipes from eight regions of India contained 4-6 ingredients of range. Milk and dairy products contributed well to food pairing in the cuisine while spices in general did not contribute to the food pairing although frequency of use of spices in the recipes of eight regions was higher than the value for milk and dairy products (Jain et al., 2015). In regional basis study, co-occurrence of ingredients logarithmically decreased when the shared flavor profiles in the recipes of each region were investigated, which meant that Indian cuisine showed negative food pairing hypothesis (Jain et al., 2015).

### Flavor network diagram

A flavor network diagram was constructed as a result of flavor network analysis in Marmara region dishes. Eight compounds that were common in all of four ingredients were shown in the middle of the diagram (Fig. 1). Moreover, among the 8 recipes analyzed, the number of shared compounds ranged 1 to 39, and dominated in the range of 3-19 compounds (Fig. 2).

Flavor network diagrams were used to illustrate data analysis in flavor network science, and constructed by researchers to easily visualize and evaluate the ingredient/flavor pairing in various cuisines. In the study of Ahn et al. (2011), one mode projection of a bipartite network illustrating

the nodes (ingredients and flavor compounds) and links in between them was created using the data of world cuisines concerning the categorization of food groups. In another study, a three component (recipe, ingredient and flavor compound) network regarding Indian cuisine was

constructed (Jain et al., 2015). On the other hand, Traynor et al. (2013) created a network diagram to show the relations of individuals and ingredient pairs to retronasal and orthonasal characteristics of the flavor compounds that could be sensed.

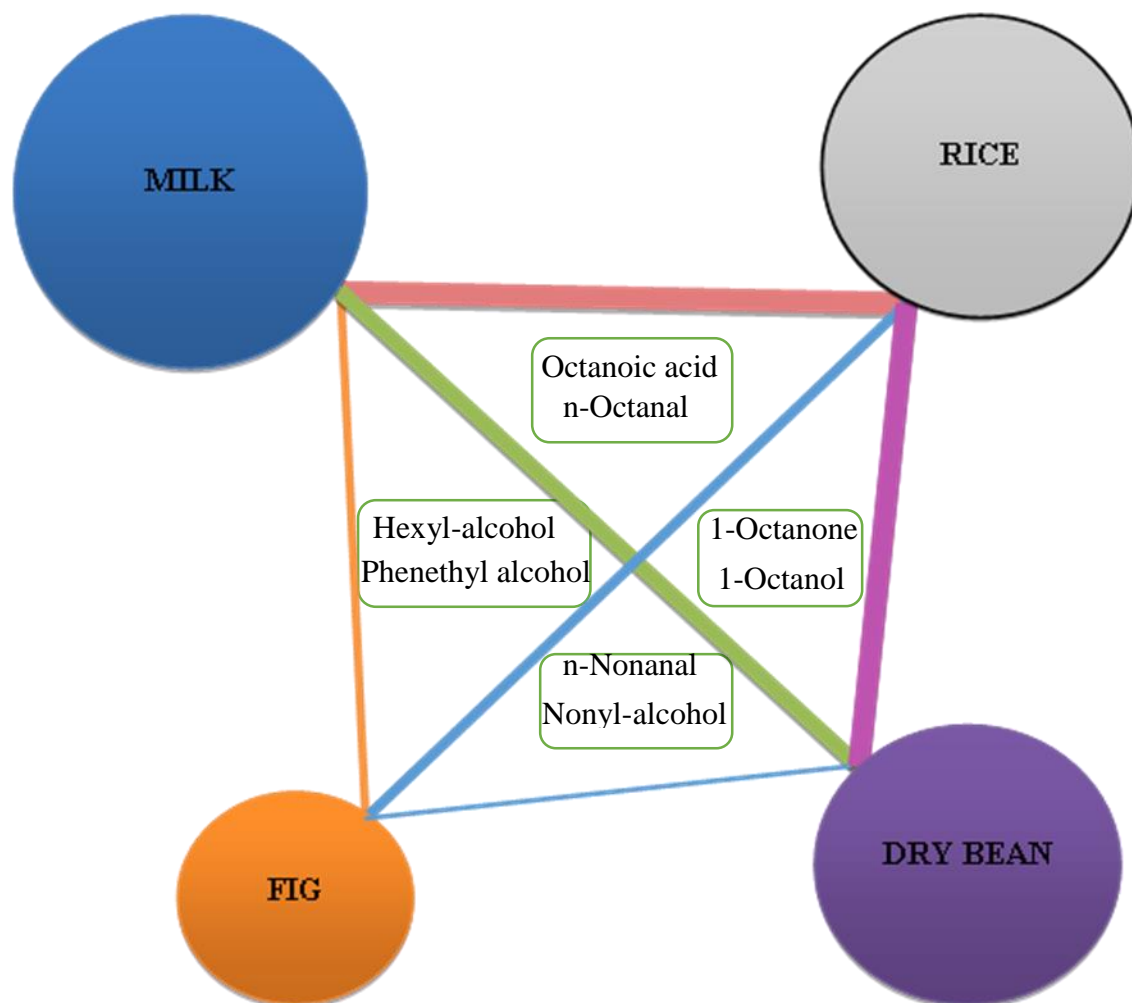


Fig. 1. Flavor network diagram. (The width of weighted links increases with increasing shared compounds. Number of shared compounds: 39 (Milk and rice); 38 (Rice and bean); 31 (Milk and bean); 18 (Milk and bean); Fig and milk (16); Fig and bean (14). The size of the circle is proportional to the number of flavor compounds the ingredient contains. The compounds with written names are the common of four ingredients).

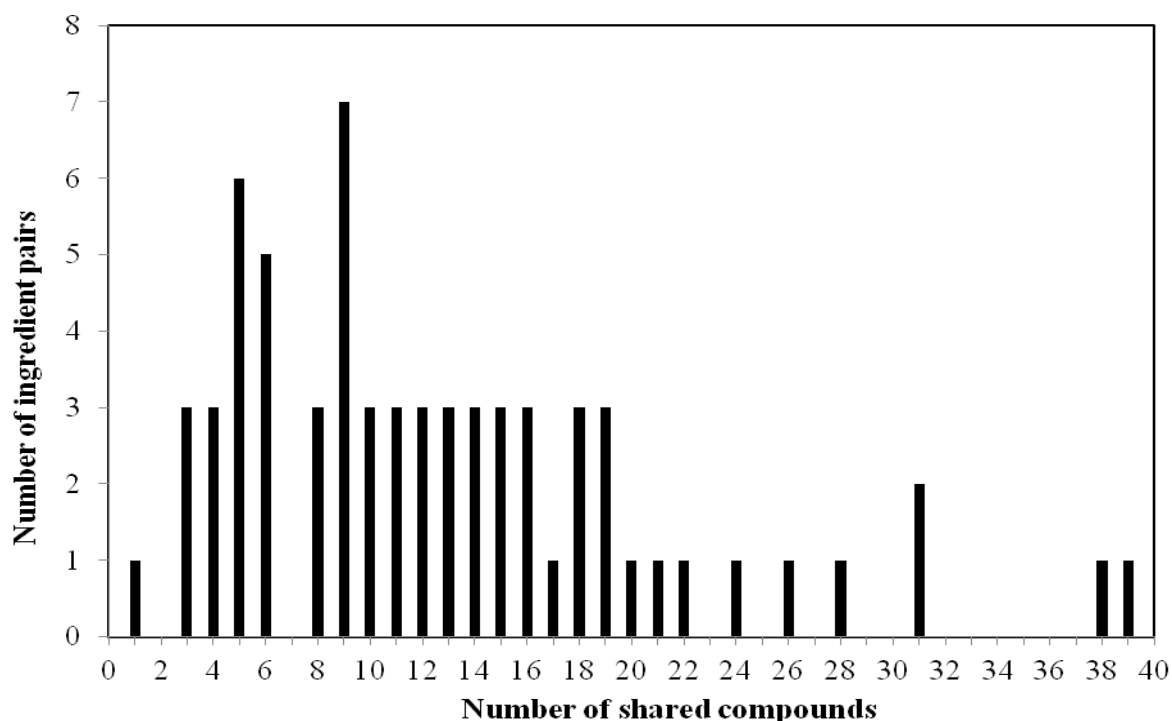


Fig. 2. Number of ingredient pairs versus number of shared compounds found in combinations of 12 ingredients.

### New recipe design and sensory evaluation of consumer preference

In this study, a new dessert including main ingredients rice, dried beans, milk and fig was designed in order to justify ingredient pairing hypothesis in the recipes of Marmara region, and it was prepared as in the following method; 1 cup of rice was first boiled and after water was absorbed, a 1 L of milk was added and furthermore two ingredients were allowed to boil. After that, 1 cup of sugar was added into the mixture and boiled until it got thickened. It is apportioned for 20 servings and put into the refrigerator after they were cooled down to room temperature. For the upper part of the newly designed dessert, some dried beans were boiled and then deep fried and covered with sugar. Some figs were boiled and blended. The beans and figs were then put on the top of the dessert and put into refrigerator for a few hours. Final form of the dessert (Fig. 3) was served cold to the panel of 20 volunteer participants.



Fig. 3. New dessert developed using flavor network analysis

Nine-point hedonic scale of sensory analysis was used to evaluate the consumer preference of the new dessert formulated using the ingredients determined upon flavor network analysis. 20 volunteer students (9 women and 11 men) ranging the age of 24-30 from the department were chosen to taste the dessert and answer the questions in the questionnaire. All the participants tasted the dessert and filled out the answers in questionnaire form.

As the result of 9-point hedonic scale of sensory test, 6 out of 9 women liked the new dessert extremely, 2 out of 9 liked moderately, 1 out of 9 didn't like it. Among the men, 10 out of 11 liked the new dessert extremely, 1 disliked moderately

as shown in Fig. 4. In total, 80% of the participants liked the dessert extremely. This result might confirm that the ingredients that shared high number of flavor compounds tasted well together in a recipe and new dessert formulation created using flavor network analysis was extremely preferred by the majority of the participants. On the other hand, 18 of the participants were familiar with the foods consumed in Marmara Region, 12 of those recognized a similarity between the local foods of Marmara region and the newly designed dessert. 14 participants claimed that they would order the dessert once they saw on a restaurant menu which might point out that the new dessert would be preferable by the customers in a restaurant.

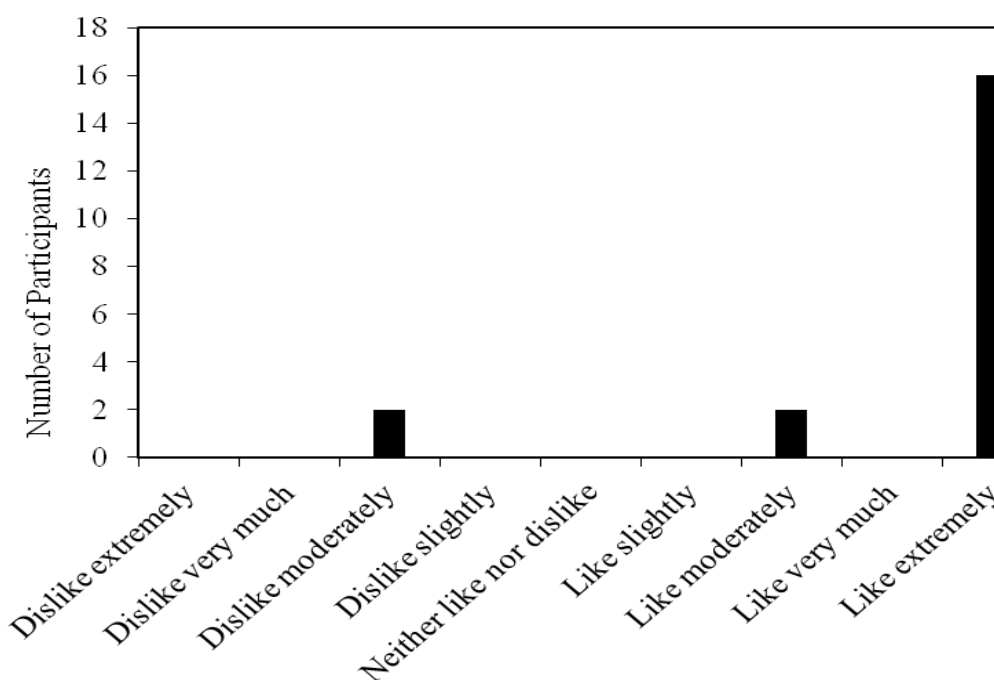


Fig. 4. Sensory evaluation of consumer preference

Data formed as a result of flavor network analysis could be used to either construct databases, or formulate new recipes with preferred taste. As mentioned above, there were a few studies conducted on data analyses of recipes from various countries, however except Henson Blumenthal's innovative dishes, only limited studies on flavor pairing network analysis were ended up with a new dish formulation (Blumenthal, 2009; Kort et al., 2010; Kutup,

2017). The ingredient lambchops and Turkish coffee sauce in a new dish shared 47 compounds, and the dish was liked by the lecturers tasted it (Kutup, 2017). In the study performed in Netherlands, seven ingredients were paired in possible combinations and put in a puree and later on a panel of 50 students scored the taste of each pair. The ingredient pairs which gained higher scores than the average score by more than 60% of students were accepted as tasting well.

However, these highly scored ingredient pairs shared lower number of flavor compounds (Kort et al., 2010). The results of this study were similar to the negative pairing of ingredients in recipes of East Asian cuisine (Ahn et al., 2011; Jain et al., 2015).

In our study, new dessert with the main ingredients, rice, bean, milk and figs was formulated, and the flavor compounds, 1-octanol, 2-octanone, hexyl alcohol, n-nonanal, n-octanal, nonyl alcohol, octanoic acid, phenethyl alcohol were found common in these main ingredients (Fig.1). Interestingly the shared characteristics of these common compounds were that they have either orange-rose like odor or fruity and citrus-honey odor, and dairy-like, waxy, fruity or citrus taste (Burdock, 2009). These results may show how the ingredients from different food groups (i.e. bean from legumes, rice from grains, milk from dairy, figs from fruits) might have common sensory characteristics when analyzed by their own, and how they could go well together in a milky, fruity, waxy sensed dessert (Fig. 3). Moreover, odor and taste characteristics of eight compounds showed higher similarity focusing on fruity and citrus odor and waxy cheesy tastes, which gave us another result that citrus/fruity odors may go well together with cheesy/creamy tastes just like in the resulting dessert that we created.

According to the literature, some well-known nutrients in foods act as the precursors of aroma compounds in the food. For example, table sugar -sucrose-, added into our dessert formulation, was declared as the precursor of aroma compounds named octanal, octanoic acid, hexyl-alcohol, and octanol which were also found as the common flavor compounds of the main ingredients in our study (Reineccius, 2006). In Prescott (2015), it was mentioned that flavor perceptions might occur by odor/taste integrations in a food which might be derived from experiences leading associative learning process. As a result of this, some well known taste characteristics such as sweetness might influence the sense of odor of the same dish towards liking of the dish. Eight flavor compounds shared by four main

ingredients of new dessert contained citrus-floral-fruit-fatty odor characteristics with sweet, fruity (orange, apple like) and milky, creamy taste characteristics. Therefore, these alike properties showed that odor/taste integration could easily be achieved in the new dessert which might influence the hedonic property towards liking. Finally, our study based on the regional food data will be useful to create alternative dishes for the palate of the people who are accustomed to consume similar ingredients.

## CONCLUSION

Flavor network analysis is a promising method of analyzing the data in food and gastronomy field that acts as bridge between different disciplines, such as flavor chemistry, sensory sciences, culinary sciences, and computer sciences. This study is the first research on utilization of flavor network analysis to create new dish by analyzing specifically the recipes in Marmara Region of Turkey. The results of this work suggested that ingredient pairs sharing higher number of flavor compounds led to create an alternative dish for Marmara region that was highly preferred by the majority of sensory panel participants. These results will probably raise the interests of chefs and culinary scientists who are willing to create innovative recipes using information on flavor network science and most probably look for sensory acceptance of the dishes. Besides, this methodology may find application in new food product development in the food industry as well. Furthermore, emerging area of computational gastronomy is increasingly paving the way of developing new culinary databases and digital platforms that can be shared worldwide, leading to create novel tasteful dishes. Therefore the globalization of any regional cuisine in Turkey cherishes and nourishes itself in a broader sense.

## REFERENCES

- Ahn, Y., Ahnert, S. E., Bagrow, J. P., Barabási, A. (2011). Flavor network and the principles of food pairing. *Sci Rep*, 1(196): 1-7.
- Ahnert, S.E. (2013). Network analysis and data mining in food science: the emergence of computational gastronomy. *Flavour*, 2(4): 1-3.

- Akkor, M. Ö. (2009). *Bursa Mutfağı*, Türkiye İş Bankası Yayınları, İstanbul.
- Barabási, A., Gulbahce, N., Loscalzo, J. (2011). Network medicine: A network-based approach to human disease. *Nat Rev Genet*, 12(1): 56–68.
- Bayrak, M. F. (2015). *Soframda Anadolu Marmara Yemekleri*. Alfa Basım Yayım Dağıtım San. ve Tic. Ltd. Sti., İstanbul.
- Blumenthal, H. (2009). *The Fat Duck Cookbook*, UK Ed. Bloomsbury Publishing PLC, London, United Kingdom.
- Bogojeska A., Kalajdziski S., Kocarev L. (2016). Processing and analysis of Macedonian cuisine and its flavours by using online recipes. In: Loshkovska S., Koceski S. (Eds), *ICT Innovations 2015. Advances in Intelligent Systems and Computing*, vol 399, (pp 143-152). Springer, Cham, Switzerland.
- Borgatti, S.P, Mehra, A., Brass, D.J., Labianca, G. (2009). Network analysis in the social sciences. *Science*, 323(5916): 892-895.
- Bozis, S. (2002). *İstanbul lezzetleri*. (2nd Ed.). Tarih Vakfı Yurt Yayınları, İstanbul.
- Burdock, G.A. (2009). *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. (6th Ed.). CRC Press, Boca Roca, United States.
- Dornenburg, A. and Page, K. (2008). *The Flavor Bible*. (2nd Ed.). Litte, Brown and Company, Hachette Book Group, New York.
- Dunne, J. A., Williams, R. J., Martinez, N. D. (2002). Network structure and biodiversity loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecol Lett*, 5(4): 558–567.
- Ergün Öztürk, Ö. and Öztürk, B. (2018). An ontology based Semantic Representation for Turkish Cuisine. 26th IEEE Signal Processing and Communications Applications Conference, 1-5 May, Cesme- Izmir, Turkey.
- Geissbauer, R., Vedso, J., Schrauf, S. (2016). Industry 4.0: Building the digital enterprise. *PWC. 2016 Global Industry 4.0 Survey*.
- Ghaswala, D., Kundalia, H., Shah, N. (2018). Bon vivant: an artificial intelligence cooking app. *Int J of Sci Eng*, 3(1): 170-174.
- Habibi, I., Emamian, E. S., Abdi, A. (2014). Quantitative analysis of intracellular communication and signaling errors in signaling networks. *BMC Syst Biol*, 8(89): 1-15.
- Halici, N. (1990). *Türk Mutfağı*, Güven Matbaası, Ankara.
- Higgins, K.T. (2017). Artificial intelligence and other advances in industrial baking. *Food Processing*, <https://www.foodprocessing.com/articles/2017/artificial-intelligence-industrial-baking/> Accessed 20 July 2018.
- Jain, A., Rakhi N. K., Bagler, G. (2015). Analysis of food pairing in regional cuisines of India. *PLoS ONE*, 10(10): 1-17.
- Kort, M., Nijssen, B., van Ingen-Visscher, K., Donders, J. (2010). Food pairing from the perspective of the 'volatile compounds in food' database. I.Blank, M.Wüst, C.Yeretian (Eds.), *Expression of Multidisciplinary Flavour Science: Proceedings of the 12th Weurman Symposium*, Interlaken, Switzerland, Institut of Chemistry and Biological Chemistry, Winterthur, pp.589-592.
- Kutup, N. (2017). Network science, flavor ingredient compounds network and the birth of digital gastronomy. *Apelasyon*, 43: 1-14.
- McNamara, C. (2017). Digitalization: The future of food and beverage. *Food Processing*. <https://www.foodprocessing.com/articles/2017/digitalization-the-future-of-food-and-beverage/> Accessed 20 July 2018.
- Mizrahi, M., Gruber, R., Golan, A., Lachnish, A.Z., Mizrahi, A.B., Zoran, A. (2016, October). Digital gastronomy: methods & recipes for hybrid cooking. 29th Annual Symposium on User Interface Software and Technology, 16-19 October, Tokyo, Japan, pp. 541-552.
- Mouritsen, O. G., Edwards-Stuart, R., Ahn, Y-Y., Ahnert, S. E. (2017). Data-driven methods for the study of food perception, preparation, consumption, and culture. *Frontiers ICT* 4:15.



- Pimentel, T.C., Gomes da Cruz, A., Deliza, R. (2016). Sensory evaluation: sensory rating and scoring methods. *The Encyclopedia of Food and Health*, 4: 744-749.
- Pinel F., Varshney L.R., Bhattachariya D. (2015). A Culinary Computational Creativity System. In: Besold T., Schorlemmer M., Smaill A. (Eds), *Computational Creativity Research: Towards Creative Machines*. Atlantis Thinking Machines, (pp 327-346). Atlantis Press, Paris.
- Prescott, J. (2015). Multisensory processes in flavour perception and their influence on food choice. *Curr Opin Food Sci*, 3: 47-52.
- Reineccius, G. (2006). *Flavor chemistry and technology*, (2nd Ed.). Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, USA.
- Shrinivas, S.G., Vetrivel, S., Elango, N.M. (2010). Applications of graph theory in computer science an overview. *Int J Eng Sci Technol*, 2(9): 4610-4621.
- Şengül, S., Çakir, A., Çakir, G. (2015). *Yöresel Mutfağlar*. Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. Ankara.
- Taylor, A. and Hort, J. (2007). *Modifying flavor in food*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL, USA.
- Toroa, C., Barandiarana, I., Posada, J. (2015). A perspective on knowledge based and intelligent systems implementation in Industrie 4.0. *Procedia Comput Sci*, 60: 362-370.

## TAZE VE DONDURULMUŞ ELMALARDA VE ELMA POSASINDA POLİFENOL BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Senem Kamiloğlu\*

Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Turanköy, 16450, Kestel, Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 23.01.2019; Kabul / Accepted: 08.04.2019; Online baskı / Published online: 26.04.2019

Kamiloğlu, S. (2019). Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi. *GIDA* (2019) 44 (3): 409-418 doi: 10.15237/gida.GD19026

Kamiloğlu, S. (2019). Evaluation of polyphenol bioaccessibility in fresh and frozen apples and apple pomace. *GIDA* (2019) 44 (3): 409-418 doi: 10.15237/gida.GD19026

### ÖZ

Elma taze tüketilebildiği gibi dondurulmuş elma gibi çeşitli formlara işlenerek de tüketilebilmektedir. Elma işleme sonucu posa olarak adlandırılan biyoaktif bileşenler açısından zengin bir atık ürün oluşmaktadır. Bu çalışmada taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında bulunan polifenollerin biyoerişilebilirliklerinin *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve toplam antioksidan kapasiteki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilmiş olup, polifenolik bileşiklerin miktarının tespiti yüksek performanslı sıvı kromatografisi–fotodiyot dizi dedektörü (HPLC–PDA) kullanılarak kromatografik yöntemle yapılmıştır. *In vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu sonrasında HPLC–PDA ile belirlenen toplam biyoerişilebilir polifenol miktarları göz önüne alındığında, dondurulmuş elma ve elma posasının taze elmalara kıyasla %11–16 kadar daha fazla biyoerişilebilir polifenole sahip olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular gıda işlemenin sindirim sırasında polifenollerin matriksten salınımını etkilediğini göstermiş olup, sindirilmemiş örnekler için tespit edilen değerlerin biyoerişilebilirlik değerlerinden farklı olabileceğine dikkat çekmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Granny Smith, bireysel hızlı dondurma, *in vitro* gastrointestinal sindirim, flavonoidler, fenolik asitler, toplam antioksidan kapasite, HPLC–PDA

### EVALUATION OF POLYPHENOL BIOACCESSIBILITY IN FRESH AND FROZEN APPLES AND APPLE POMACE

#### ABSTRACT

Apples can be consumed as fresh or processed into various products including frozen apples. As a result of processing, pomace which is rich in bioactive compounds, is generated. The aim of this study was to evaluate the bioaccessibility of polyphenols in fresh and frozen apples and apple pomace using an *in vitro* gastrointestinal digestion model. Total phenolics, flavonoids, and antioxidant capacity were determined spectrophotometrically, whereas the quantification of polyphenols were carried out chromatographically using high performance liquid chromatography–photodiode array detector (HPLC–PDA). Considering the bioaccessible polyphenols determined using HPLC–PDA after *in vitro* gastrointestinal digestion simulation, it was found that frozen apples and pomace contained 11–16% more bioaccessible polyphenols compared to fresh apples. In conclusion, results obtained in this study showed that food processing affects the release of polyphenols from the matrix during digestion and that the values determined for undigested samples may be different from the bioaccessibility values.

**Keywords:** Granny Smith, individual quick freezing, *in vitro* gastrointestinal digestion, flavonoids, phenolic acids, total antioxidant capacity, HPLC–PDA

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ senem@mvsm.com.tr,

☎ (+90) 224 3833601,

☎ (+90) 224 3833123

## GİRİŞ

Elma dünyada tarımı yaygın olarak yapılan bir meyve olup, muz ve üzümünden sonra en fazla üretilen üçüncü meyvedir (FAO, 2017). Epidemiyolojik çalışmalar, elma tüketiminin bazı kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar, astım ve diyabet riskini azalttığını öne sürmüştür. Görülen bu hastalıklara karşı koruyucu etkiler polifenollerin varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Elma polifenollerinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu, kanser hücrelerinin çoğalmasında önlediği, lipid oksidasyonunu azalttığı ve kolesterolü düşürdüğü bilinmektedir (Boyer ve Liu, 2004).

Elma taze tüketilebildiği gibi çeşitli ürünlere işlenerek de tüketilebilmektedir. Bireysel hızlı dondurma (IQF) doğranmış veya dilimlenmiş elmaların düşük sıcaklıklarda (-30 ile -40°C arasında) hava püskürtmeli dondurucuda dondurulması işlemi olup, geleneksel dondurmaya kıyasla çok daha kısa sürede gerçekleştirilmektedir. Elma işleme sonucu kabuk, kök, çekirdek ve küspeyi içeren elma posası olarak bilinen bir atık ürün oluşmaktadır (Skinner vd., 2018). Elma üretiminden elde edilen yıllık atık miktarının 3.0-4.2 milyon mt olduğu tahmin edilmektedir (Younis ve Ahmad, 2015). Sanayi üretiminde oluşan yan ürünlerin bertarafı hem gıda üreticisine bir maliyet oluşturmakta hem de çevre üzerinde potansiyel bir olumsuz etki yaratmaktadır. İlave olarak, yapılan araştırmalar yan ürünlerin birçoğunun potansiyel olarak değerli biyoaktif bileşiklerin kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur (Wijngaard vd., 2012; Huang vd., 2013).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda insan vücudundaki fizyolojik fonksiyonlar için bir önkoşul olan biyoerişilebilirlik konusuna daha fazla dikkat gösterilmeye başlanmıştır. İnsanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar zaman alıcı ve maliyetli olup, etik kaygılarla da kısıtlandığından, sindirimin etkilerini araştırmak için *in vitro* modeller geliştirilmiştir. *In vitro* gastrointestinal sindirim modelleri polifenollerin gıda matriksinden salınımını belirlemek ve vücutta emilmeden önce profillerindeki değişiklikleri değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bununla

birlikte, *in vitro* gastrointestinal sindirim modellerinde uygulanan koşulların çeşitliliği farklı çalışmalarda elde edilen sonuçların birbirleri ile karşılaştırılmasını sınırlamıştır (Alminger vd., 2014). Bu sorunun üstesinden gelmek için, fizyolojik olarak uygun koşullara dayanan standartlaştırılmış ve pratik bir statik sindirim modeli önerilmiştir (Minekus vd., 2014). Bu model daha önce polifenol içeriği zengin bazı gıda atıklarının biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Kamiloğlu vd., 2017; Guven vd., 2018). Bununla birlikte bilindiği kadarıyla, daha önce yapılan çalışmalarda endüstriyel üretim sonucu açığa çıkan elma posasında bulunan polifenollerin biyoerişilebilirliği hammadde ve donmuş ürün ile mukayese edilmemiştir.

Yukarıda sunulan bilgiler dikkate alınarak bu çalışmanın amacı, taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında toplam fenolik maddenin, toplam flavonoid maddenin, toplam antioksidan kapasitenin ve polifenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliklerinin standartlaştırılmış *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak değerlendirilmesidir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Taze ve dondurulmuş elmalar (*Malus domestica* Borkh. var. Granny Smith), ve üretim sonucu açığa çıkan elma posası endüstriyel bir gıda işleme fabrikasından (Mevsim Gıda Sanayi ve Soğuk Depo Ticaret A.Ş., Turanköy, Bursa) farklı üretim günlerinde 3 tekrarlı olarak temin edilmiştir. Elmalar bireysel hızlı dondurma (IQF) işleminden önce sırasıyla kabuk soyma ve çekirdek alma, asitlendirme ve küp kesim işlemlerine tabii tutulmuştur. Toplanan numuneler değirmen (IKA, Almanya) yardımıyla sıvı azot içerisinde ince bir toz halinde öğütülmüş ve analizlere kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### Kimyasallar

*In vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonunda kullanılan  $\alpha$ -amilaz (EC 3.2.1.1), pepsin (EC 3.4.23.1), pankreatin (EC 232.468.9) ve safra Sigma-Aldrich'den (Almanya) temin edilmiştir. Polifenollerin miktarının tespiti için kullanılan  $\geq$ %98 saflıktaki klorojenik asit, kafeik asit,

kateşin, epikateşin, hiperin (kuersetin-3-galaktozit), izokuersitrin (kuersetin-3-glukozit), kuersitrin (kuersetin-3-ramnozid) ve floridzin standartları da Sigma-Aldrich'den (Almanya) satın alınmıştır.

#### Sindirilmemiş Numunelerin Ekstraksiyonu

2.00 ± 0.01 g toz halinde öğütülmüş numune 5 mL %0.1 formik asit içeren %75 metanol solüsyonu ile muamele edilmiştir. Sonrasında numuneler ultrasonik banyoda (VWR, ABD) 15 dk. sonike edilmiş ve 4 °C'de, 2700 x g hızında 10 dk. süreyle santrifüjlenerek (Hettich, Almanya) üst faz toplanmıştır. Bu ekstraksiyon protokolü bir

kez daha tekrarlanmış ve iki üst faz 10 mL'lik nihai bir hacme tamamlanmıştır (Kamiloglu ve Capanoglu, 2015). Hazırlanan ekstraktlar analizlerden önce -20°C'de muhafaza edilmiştir.

#### İn Vitro Gastrointestinal Sindirim

Polifenollerin biyoerişilebilirliğinin tespiti için sırasıyla ağız, mide ve bağırsak sindirimini simüle eden üç aşamalı bir *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli uygulanmıştır (Minekus vd., 2014). Kullanılan ağız, mide ve bağırsak elektrolit solüsyonlarının içeriği Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Ağız, mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları  
Table 1. Oral, gastric and intestinal electrolyte solutions

Bileşenler <i>Constituents</i>	Stok konsantrasyonu (mol/L) <i>Stock concentration</i> (mol/L)	Stok hacmi (mL) <i>Volume of stock (mL)</i>		
		Ağız elektrolit solüsyonu (Oral electrolyte solution)	Mide elektrolit solüsyonu (Gastric electrolyte solution)	Bağırsak elektrolit solüsyonu (Intestinal electrolyte solution)
KCl	0.5	15.1	6.9	6.8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5	3.7	0.9	0.8
NaHCO <sub>3</sub>	1	6.8	12.5	42.5
NaCl	2	-	11.8	9.6
MgCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	0.15	0.5	0.4	1.1
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.5	0.06	0.5	-
HCl	6	0.09	1.3	0.7

Tüm solüsyonlar distile su ile hazırlanmış olup, toplam hacim 400 mL'ye tamamlanmıştır.

*All solutions are prepared with distilled water to a total volume of 400 mL.*

Ağız sindirimini simülasyonu için 5.00 ± 0.01 g numuneye 3.5 mL ağız elektrolit solüsyonu, 0.5 mL α-amilaz (1500 U/mL), 25 µL 0.3 M CaCl<sub>2</sub> ve 975 µL distile su ilave edilerek karışım çalkalayıcı su banyosunda (Mommert, Almanya) 37 °C'de 2 dk. boyunca inkübe edilmiştir. Ağız sindirimi tamamlandıktan sonra, her bir numune için 2 mL örnek alınmıştır.

Mide sindirimini simüle etmek için, kalan solüsyona 6 mL mide elektrolit solüsyonu, 1.28 mL pepsin (25000 U/mL), 4 µL 0.3 M CaCl<sub>2</sub> eklenmiş ve 1 M HCl kullanılarak pH 3'e ayarlanmıştır. Daha sonra distile su ilavesi ile toplam hacim 8 mL'ye tamamlanmış ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. Mide sindirimi tamamlandıktan

sonra, her bir numune için 2 mL örnek toplanmıştır.

Bağırsak sindirimini simüle etmek için, karışımın geri kalanı 7.7 mL bağırsak elektrolit solüsyonu, 3.5 mL pankreatin (800 U/mL), 1.75 mL 160 mM safra, 28 µL 0.3 M CaCl<sub>2</sub> ile karıştırılmış ve 1 M NaOH kullanılarak pH 7'ye ayarlanmıştır. Ardından toplam hacim 14 mL olacak şekilde distile su ilavesi yapılmış ve karışım çalkalayıcı su banyosunda 37 °C'de 2 saat daha inkübe edilmiştir. Bağırsak sindirimi simülasyonunun ardından tekrar her bir numune için 2 mL örnek alınmıştır.

Ağız, mide ve bağırsak sindirimi simülasyonları sonrası toplanan örneklerin pH'sı formik asit ile

2'ye ayarlanmış ve 4 °C'de, 23000 x g hızında 5 dk. süreyle santrifüjlenmiştir. Toplanan üst fazlar analizlere kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Yukarıdaki işlemlere ilaveten, elma örnekleri katılmadan aynı koşullar altında inkübasyonlar yapılmış ve toplanan kör (blank) örnekler sindirim sıvılarından kaynaklanan etkileşimlerin düzeltilmesi için kullanılmıştır.

### Spektrofotometrik Analizler

Toplam fenolik madde (TFEM) miktarı, toplam flavonoid madde (TFLM) miktarı ve toplam antioksidan kapasite (TAK) ölçümleri spektrofotometre (Optima, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

TFEM miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak daha önce literatürde tarif edilen şekilde tespit edilmiştir (Velioglu vd., 1998). 100 µL ekstrakt 0.75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırılmıştır. Karışım 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve daha sonra 0.75 mL %6 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> solüsyonu karışıma ilave edilmiştir. 90 dk. inkübasyondan sonra 725 nm'de absorban ölçülmüştür. TFEM miktarı, 100 g ağırlık başına mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.

TFLM miktarı kolorimetrik alüminyum klorür metodu uygulanarak tespit edilmiştir (Kim vd., 2003). Başlangıçta 1 mL ekstrakta 0.3 mL %5 NaNO<sub>2</sub> eklenmiştir. 5 dk. sonra 0.3 mL %10 AlCl<sub>3</sub> ilave edilmiştir ve 6. dk.'da 2 mL 1 M NaOH eklenmiştir. Hemen ardından 2.4 mL saf su ilave edilip, karışım vortekslenmiş ve 510 nm'de absorban ölçümü yapılmıştır. TFLM miktarı, 100 g ağırlık başına (+)-kateşin eşdeğeri (KE) olarak ifade edilmiştir.

TAK dört farklı metot (bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi (CUPRAC), 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu) (ABTS), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP)) kullanılarak değerlendirilmiştir. CUPRAC metodu için, 100 µL ekstrakt 1 mL 10 mM CuCl<sub>2</sub>, 7.5 mM neokuproin ve 1 M NH<sub>4</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub> ile karıştırılmıştır. Ardından karışıma 1 mL distile su ilave edilerek nihai hacim 4.1 mL'ye getirilmiştir.

Oda sıcaklığında 30 dk. inkübasyondan sonra 450 nm'de absorban ölçülmüştür (Apak vd., 2004). ABTS metodu için, ABTS stok solüsyonu, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 8.0) içinde, 734 nm'de 0.90 (± 0.05) absorban derecesine seyreltilmiştir. Sonra, 100 µL ekstrakt, 1 mL ABTS-çalışma solüsyonu ile karıştırılmış ve 1 dk. sonra 734 nm'de absorban ölçülmüştür (Miller ve Rice-Evans, 1997). DPPH metodu için, 100 µL ekstrakt, 2 mL 0.1 mM metanolde çözülmüş DPPH reaktifi ile karıştırılmıştır. 30 dk. inkübasyondan sonra 517 nm'de absorban ölçülmüştür (Kumaran ve Karunakaran, 2006). FRAP metodu için, 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), 100 µL ekstrakt ile karıştırılmıştır. Karışımın absorbanı 4 dk. sonra 593 nm'de kaydedilmiştir (Benzie ve Strain, 1996). Tüm TAK tahlilleri için, sonuçlar 100 g ağırlık başına mg Trolox® eşdeğeri (TE) olarak ifade edilmiştir.

### Kromatografik Analizler

Polifenollerin miktarı yüksek performanslı sıvı kromatografisi-fotodiyot dizi dedektörü (HPLC-PDA) (Waters, ABD) kullanılarak daha önce literatürde tarif edilen şekilde belirlenmiştir (Capanoglu vd., 2008). Toplanan tüm örnekler, 0.45 µm membran filtrelerden geçirilerek HPLC'ye enjekte edilmiştir. Durgun faz olarak C18 kolonu (25 cm x 4.6 mm, 5 µm; Sigma-Aldrich, Almanya) kullanılmıştır. 280, 312 ve 360 nm'de spektral ölçüm için 1 mL/dk. bir akış hızı ve 10 µL enjeksiyon hacmi olan şu solüsyonlar kullanılmıştır: Trifloroasetik asit (TFA)/ultra saf su (1:1000, v/v; elüent A) ve TFA/asetonitril (1:1000, v/v; elüent B). 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. Polifenollerin tanımlanmasında kolonda tutunma süreleri ve karakteristik UV spektralleri dikkate alınmıştır. Miktar tespiti için otantik standartlar kullanılarak sonuçlar kg ağırlık başına mg olarak ifade edilmiş olup, reynoutrin (kuersetin-3-ksilozit) ve avikularin (kuersetin-3-arabinozit) miktarı kuersetin-3-glukozit standardı kullanılarak hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Analizler 3 tekrarlı olarak temin edilen numunelerin her birinde 3'er ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Veriler SPSS yazılımı (IBM, ABD) kullanılarak tek yönlü ANOVA'ya tabii tutulmuş ve numuneler arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır ( $P < 0.05$ ). Spektrofotometrik analizler arası korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) Excel yazılımı (Microsoft, ABD) kullanılarak hesaplanmıştır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

#### Spektrofotometrik Ölçümler

*In vitro* gastrointestinal sindirim TFEM, TFLM ve TAK üzerine etkileri Çizelge 2'de verilmiştir. Sindirilmemiş örnekler için, dondurulmuş elmaların ve elma posasının taze elmalara kıyasla daha düşük miktarda TFEM (%39–49), TFLM (%33–50) ve TAK (%36–68) içerdiği görülmüştür. Bu durum elmanın işlenmesi sırasında oluşması muhtemel enzimatik esmerleşme ve oksidasyon reaksiyonlarının TFEM ve TFLM miktarlarında kayıplara neden olmasıyla ve bu nedenle TAK değerlerinin de düşmesi ile açıklanabilir. *In vitro* ağız sindirimi sonrasında tüm numuneler için sindirilmemiş örneklerle kıyasla daha düşük miktarlarda TFEM (%28–40), TFLM (%24–43) ve TAK (%9–71) değerleri elde edilmiştir. Literatürde bazı polifenollerin, özellikle çok sayıda hidroksil grubu olanların, albümin gibi proteinlere güçlü bir şekilde bağlandıkları ve bunun sonucunda polifenol emilimini azaltan kompleksler ortaya çıkardıkları bildirilmiştir (Bohn, 2014). Ayrıca, görülen bu durum ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon süresinin (2 dk.) TFEM, TFLM ve TAK'ye katkıda bulunan bileşenlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmamasından da kaynaklanıyor olabilir. Nitekim, 2 saat süren mide sindirimi simülasyonu sonrasında TFEM, TFLM ve TAK değerleri ağız sindirimine kıyasla sırasıyla %82–143, %75–112 ve %47–111 artış göstermiş ve sindirilmemiş numunelerde bulunan miktarlara erişmiş ve hatta taze elmalar için TFLM ve FRAP metodu ile ölçülen TAK değerlerinde istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür ( $P < 0.05$ ). Daha önce kuru meyveler ile yapılmış bir çalışmada da mide sindirimi simülasyonundan

sonra TFLM değerlerinde artışlar görülmüştür (Kamiloğlu vd., 2014). Bu durum, mide sindirimi boyunca elma flavonoidlerinin gıda matrisinden ekstraksiyon işleminin devam ettiğini ve serbest kalan flavonoidlerin midedeki asidik ortamda iyi bir stabilitesi olduğunu göstermektedir. *In vitro* bağırsak sindirimi taze elmalar için genel olarak TFEM, TFLM ve TAK değerlerinde düşüşe neden olmuş olup, biyoerişilebilirlik değerleri sindirilmemiş numunelere kıyasla sırasıyla %80, %41 ve %39–69 olarak tespit edilmiştir. Dondurulmuş elmalar ve elma posası için de, TFLM değeri için görülen trend taze elmalarla benzerlik göstermiş ve biyoerişilebilirlik değeri %65 olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, bağırsak sindirimi simülasyonu sonrası dondurulmuş elmalar ve elma posasının TFEM ve TAK biyoerişilebilirlik değerleri sindirilmemiş numunelere kıyasla sırasıyla %129–165 ve %65–205 olarak tespit edilmiştir. Literatürde daha önce yapılan bir çalışmada da bağırsak sindirimi sonrasında benzer artışlar görülmüş ve durum gıda maddesinin bağırsak sıvıları ile olan ilave temas süresi ve/veya bağırsaktaki sindirim enzimlerinin matrikse bağlı polifenollerin salınımını kolaylaştırıcı etkisi ile açıklanmıştır (Bouayed vd., 2011). Elde edilen bu sonuçlar, gıda işleminin sindirim sırasında polifenollerin matriksten salınımı etkilediğini göstermiş olup, sindirilmemiş örnekler için tespit edilen değerlerin biyoerişilebilirlik değerlerinden farklı olabileceğine işaret etmiştir.

TFEM, TFLM ve TAK arası korelasyonlar da belirlenmiştir. *In vitro* gastrointestinal sindirim öncesinde TFEM, TFLM ve TAK arasında oldukça lineer bir ilişki elde edilmiş olup, en yüksek değer TFLM ve FRAP ( $R^2 = 0.924$ ) arasında tespit edilmiştir. TAK metotları arasında da, özellikle FRAP ve CUPRAC metotları arasında ( $R^2 = 0.987$ ), oldukça yüksek bir korelasyon görülmüştür. Görülen bu pozitif lineer ilişki *in vitro* ağız sindirimi sonrasında da devam etmiştir ( $R^2 = 0.813–0.991$ ). Mide sindirimi simülasyonundan sonra ise daha ortalama bir ilişki görülmekle beraber ( $R^2 \leq 0.959$ ), bağırsak sindirimi neticesinde oldukça düşük bir korelasyon ( $R^2 \leq 0.469$ ) elde edilmiştir. Bu çalışmada uygulanan TAK metotlarının pH koşulları göz önüne alındığında, pH 3.6'da

gerçekleştirilen FRAP metodu, midedeki antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için daha uygun olabilirken, pH 7.0–8.0'de uygulanan DPPH ve CUPRAC metodlarının ağız ve bağırsaktaki TAK'yi değerlendirmek için daha uygun olabileceği varsayılabilir. Sonuç olarak, tek bir antioksidan kapasite ölçüm metodu kullanarak gıda ürünlerinin antioksidan kapasitesinin ölçülmesi ile tatmin edici bir değerlendirme yapılması mümkün olamayacağı görülmüştür. Bu nedenle TAK ölçümlerinde farklı mekanizmalara sahip birden fazla metodun kullanılması önerilmektedir (Apak vd., 2016). Buna ilaveten, TFEM ölçümünde kullanılan Folin-Ciocalteu metodu 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 farklı çıkmasına neden olabilmektedir (Capanoğlu vd., 2018). Benzer şekilde TFLM ölçülmesinde kullanılan kolorimetrik metod da sadece flavonoidlere özgü bir test değildir. Flavonoidlerin yanı sıra, fenolik asitler de bu testte oldukça güçlü bir reaksiyon verirken, flavan-3-oller hariç çoğu flavonoid bu teste zayıf reaksiyon vermektedir (Ho vd., 2012). Spektrofotometrik metodlarla elde edilen TFEM ve TFLM sonuçlarının spesifik olmaması nedeniyle, bu çalışmada polifenollerin kromatografik yöntemle miktarlarının tespiti de yapılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında toplam fenolik madde (TFEM), toplam flavonoid madde (TFLM) ve toplam antioksidan kapasitede (TAK) meydana gelen değişimler

Table 2. *Changes in total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and total antioxidant capacity (TAC) during in vitro gastrointestinal digestion*

Numune Sample	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	Bağırsak Intestine
TFEM (mg GAE/100 g numune) – TPC (mg GAE/100 g sample)				
Taze elma – Fresh apple	21.8 ± 3.9 ab	15.8 ± 1.3 b	28.7 ± 2.3 a	17.5 ± 2.8 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	11.2 ± 2.8 bc	6.7 ± 0.3 c	16.3 ± 1.6 ab	18.5 ± 3.3 a
Elma posası – Apple pomace	13.2 ± 3.1 ab	8.4 ± 1.1 b	16.1 ± 3.4 a	17.0 ± 3.3 a
TFLM (mg KE/100 g numune) – TFC (mg CE/100 g sample)				
Taze elma – Fresh apple	60.7 ± 6.9 b	46.1 ± 0.2 b	80.8 ± 9.1 a	24.8 ± 1.5 c
Dondurulmuş elma – Frozen apple	30.3 ± 4.1 ab	17.2 ± 1.0 c	36.5 ± 1.0 a	19.9 ± 8.7 bc
Elma posası – Apple pomace	40.5 ± 6.6 ab	24.2 ± 4.6 b	41.5 ± 10.0 a	26.3 ± 1.5 ab
TAK (mg TE/100 g numune) – TAC (mg TE/100 g sample)				
CUPRAC				
Taze elma – Fresh apple	189.5 ± 15.3 a	123.9 ± 2.4 b	187.5 ± 13.7 a	126.2 ± 10.1 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	90.5 ± 18.1 a	50.7 ± 2.2 b	87.5 ± 6.9 a	85.9 ± 3.6 a
Elma posası – Apple pomace	103.4 ± 25.5 ab	68.6 ± 8.0 b	114.9 ± 11.1 a	104.2 ± 14.5 ab
ABTS				
Taze elma – Fresh apple	123.0 ± 12.9 a	45.1 ± 4.2 c	66.5 ± 5.0 bc	84.3 ± 17.0 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	38.8 ± 1.8 c	29.3 ± 3.6 d	61.8 ± 4.4 b	79.7 ± 2.4 a
Elma posası – Apple pomace	79.2 ± 13.5 b	32.6 ± 2.3 c	59.7 ± 6.9 b	104.6 ± 5.3 a
DPPH				
Taze elma – Fresh apple	47.8 ± 7.3 a	16.3 ± 0.4 c	27.9 ± 0.9 b	18.7 ± 1.3 bc
Dondurulmuş elma – Frozen apple	24.2 ± 1.4 a	7.1 ± 0.1 d	13.9 ± 1.2 c	19.1 ± 1.3 b
Elma posası – Apple pomace	26.8 ± 4.7 a	8.5 ± 0.4 c	13.2 ± 2.4 bc	17.4 ± 3.2 b
FRAP				
Taze elma – Fresh apple	29.8 ± 1.9 b	27.1 ± 2.2 b	41.2 ± 3.8 a	19.4 ± 2.6 c
Dondurulmuş elma – Frozen apple	16.9 ± 3.4 ab	10.6 ± 0.9 b	19.0 ± 4.5 a	17.1 ± 1.5 ab
Elma posası – Apple pomace	19.0 ± 4.0 ab	13.5 ± 2.5 b	27.4 ± 6.3 a	18.5 ± 2.6 ab

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekrarlı olarak temin edilen numunelerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $P < 0.05$ ).

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of 3 batches. Different letters in the rows represent statistically significant differences ( $P < 0.05$ ).

### Kromatografik Ölçümler

Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında HPLC–PDA kullanılarak tespit edilen başlıca polifenoller Çizelge 3’te verilmiştir. Taze elma ve elma posasında klorojenik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin, hiperin, izokuersitrin, reynoutrin, avikularin, kuersitrin ve floridzin dahil 10 adet polifenolik bileşen bulunmuş olup, dondurulmuş elmalarda bu bileşenlerden kuersetin glikozit türevleri olan hiperin, izokuersitrin, reynoutrin, avikularin ve kuersitrin tespit edilememiştir. Bu durum literatürde daha önce yapılan çalışmalarla tutarlı olup, kuersetin glikozit türevlerinin elmanın sadece kabuğunda bulunmasından kaynaklanmaktadır (Karaman vd., 2013). Sindirilmemiş örnekler için, taze ve dondurulmuş elmalarda en yüksek miktarlarda bulunan bileşenler kateşin, epikateşin ve klorojenik asit olup, toplam polifenolik bileşen miktarının %59–96’sını oluşturmaktadır. Elma posasında ise toplam polifenolik bileşen miktarının %88’ine tekabül eden kuersetin glikozitler en yüksek düzeyde tespit edilen bileşenlerdir. Ağız sindirimi simülasyonu sonrasında genel olarak polifenol içeriğinde sindirilmemiş numunelere kıyasla istatistiksel olarak önemli farklar görülmemekle beraber ( $P > 0.05$ ), kuersetin glikozitlerin miktarının %51’e kadar daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum spektrofotometrik ölçümlerle elde edilen TFLM sonuçlarıyla tutarlı olup, ağız sindirimi için uygulanan inkübasyon süresinin kuersetin glikozitlerin gıda matrisinden salınımı için yeterli olmamasından kaynaklanıyor olabilir. Yine spektrofotometrik ölçümler için elde edilen sonuçlarda olduğu gibi, mide sindirimi simülasyonu sonrasında polifenolik bileşenlerin değerleri ağız sindirimine kıyasla sırasıyla 3 kata kadar artış göstermiş ve sindirilmemiş numunelerde bulunan miktarlara yetişmiştir. Klorojenik asit ve kateşin miktarları ise *in vitro* mide sindirimi sonrası sindirilmemiş örneklerle kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek miktarlarda tespit edilmişlerdir ( $P < 0.05$ ). Bağırsak sindirimi simülasyonundan sonra ise değişken sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, klorojenik asit miktarı midede elde edilen değerlere kıyasla %30–81 kadar azalırken, kafeik asit miktarında ise 8.5 kata kadar artış görülmüştür. Literatürde daha önce yapılmış

bazı çalışmalarda klorojenik asidin sindirim sırasında diğer kafeoilkinik asitlere olan izomerizasyonundan bahsedilmiştir (Tagliazucchi vd., 2012). Klorojenik asit miktarında görülen düşüşler pH değişimi ve safra tuzlarının varlığının çökelti oluşumuna neden olması ile de ilişkili olabilir (Chethan ve Malleshi, 2007). İlaveten, kafeoilkinik asitlerin sulu çözeltiler içerisinde olan kararsızlığı da görülen kayıplara katkıda bulunmuş olabilir (Vallejo vd., 2004). Kafeik asit miktarında görülen artış ise daha önce yapılmış bazı çalışmalar da bahsedildiği gibi klorojenik asitin bağırsak simülasyonu sonrasında serbest asitlerine hidrolize olmasından kaynaklanıyor olabilir (Kahle vd., 2011). Benzer şekilde bağırsak sindirimi sonrası kateşin tamamen yok olurken, epikateşin miktarında midede elde edilen değerlere kıyasla istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür (5–13 kat) ( $P < 0.05$ ). Bu durum elmada bulunan prosiyanidin B2’nin epikateşin monomerlerine ayrışmasından kaynaklanıyor olabilir (Bouayed vd., 2012). Kuersetin glikozitleri ise yine spektrofotometrik olarak elde edilen TFLM sonuçlarına paralellik göstermiş olup, midedeki değerlere kıyasla %36–69 kadar azalış göstermiştir. Elma dahil olmak üzere birçok meyve önemli miktarda diyet lifi içermektedir. Diyet lifinin bazı bitki polifenollerini üzerinde bağlayıcı etkileri olup, enzimlerin substratlarına difüzyonunu kısıtlayarak biyoerişilebilirliği azalttıkları öne sürülmüştür (Palafox-Carlos vd., 2011). Dolayısıyla kuersetin glikozitlerinin miktarlarında meydana gelen azalış, diyet liflerinin varlığı ile ilişkili olabilir. Toplamda *in vitro* gastrointestinal sindirim sonrasında biyoerişilebilir polifenol miktarları göz önüne alındığında dondurulmuş elma ve elma posasının taze elmalara kıyasla %11–16 kadar daha fazla biyoerişilebilir polifenole sahip olduğu görülmüştür. Bu bulgu spektrofotometrik olarak elde edilen sonuçları destekleyici olup, gıda işlemenin sindirim sırasında polifenollerin matriksten salınımı etkilediğini göstermiş olup, sindirilmemiş örnekler için tespit edilen değerlerin biyoerişilebilirlik değerlerinden farklı olabileceğine dikkat çekmiştir.



Çizelge 3. *In vitro* gastrointestinal sindirim sırasında polifenollerde meydana gelen değişimler  
Table 3. *Changes in polyphenols during in vitro gastrointestinal digestion*

Numune Sample	Sindirilmemiş Undigested	Ağız Mouth	Mide Stomach	Bağırsak Intestine
<b>Klorojenik asit (mg/kg numune) – Chlorogenic acid (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	18.9 ± 2.5 c	22.6 ± 1.3 bc	42.5 ± 5.3 a	29.9 ± 4.0 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	12.6 ± 2.7 b	11.1 ± 1.2 b	22.6 ± 1.7 a	10.1 ± 3.0 b
Elma posası – Apple pomace	8.5 ± 0.1 bc	11.8 ± 1.3 b	26.1 ± 4.6 a	4.9 ± 0.2 c
<b>Kafeik asit (mg/kg numune) – Caffeic acid (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	0.3 ± 0.03 b	0.3 ± 0.05 b	0.4 ± 0.1 b	3.8 ± 0.6 a
Dondurulmuş elma – Frozen apple	0.5 ± 0.2 bc	0.3 ± 0.1 c	0.6 ± 0.02 b	2.2 ± 0.04 a
Elma posası – Apple pomace	0.4 ± 0.02 b	0.2 ± 0.04 c	0.4 ± 0.01 b	0.6 ± 0.02 a
<b>Kateşin (mg/kg numune) – Catechin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	21.5 ± 6.3 b	14.2 ± 3.1 b	55.9 ± 15.6 a	te – nd
Dondurulmuş elma – Frozen apple	11.9 ± 4.0 b	13.4 ± 1.4 b	34.8 ± 6.9 a	te – nd
Elma posası – Apple pomace	1.3 ± 0.04 b	4.9 ± 0.6 b	22.2 ± 4.2 a	te – nd
<b>Epikateşin (mg/kg numune) – Epicatechin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	16.4 ± 4.1 bc	8.8 ± 0.3 c	26.8 ± 6.0 b	152.9 ± 4.5 a
Dondurulmuş elma – Frozen apple	14.4 ± 2.7 b	10.9 ± 1.0 b	22.0 ± 0.4 b	224.8 ± 38.8 a
Elma posası – Apple pomace	3.2 ± 0.4 b	3.8 ± 1.3 b	12.6 ± 0.8 b	176.6 ± 27.2 a
<b>Hiperin (mg/kg numune) – Hyperin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	12.1 ± 4.5 a	9.6 ± 3.2 a	14.5 ± 1.9 a	7.9 ± 0.8 a
Dondurulmuş elma – Frozen apple	te – nd	te – nd	te – nd	te – nd
Elma posası – Apple pomace	63.9 ± 11.0 a	32.5 ± 5.3 a	60.7 ± 20.9 a	31.4 ± 11.4 a
<b>İzokuersitrin (mg/kg numune) – Isoquercitrin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	3.5 ± 0.9 a	3.4 ± 0.5 a	3.9 ± 0.7 a	2.5 ± 0.1 a
Dondurulmuş elma – Frozen apple	te – nd	te – nd	te – nd	te – nd
Elma posası – Apple pomace	21.5 ± 4.2 a	10.5 ± 1.6 b	22.6 ± 5.0 a	8.9 ± 1.2 b
<b>Reynoutrin (mg/kg numune) – Reynoutrin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	4.8 ± 0.2 a	2.6 ± 0.3 b	5.6 ± 0.7 a	2.7 ± 0.1 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	te – nd	te – nd	te – nd	te – nd
Elma posası – Apple pomace	11.7 ± 2.3 ab	7.7 ± 1.6 bc	12.9 ± 2.4 a	4.0 ± 1.4 c
<b>Avikularin (mg/kg numune) – Avicularin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	7.8 ± 1.6 a	4.0 ± 0.9 b	7.9 ± 1.4 a	4.3 ± 0.04 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	te – nd	te – nd	te – nd	te – nd
Elma posası – Apple pomace	19.1 ± 2.9 a	9.8 ± 2.3 b	20.3 ± 2.9 a	6.9 ± 2.8 b
<b>Kuersitrin (mg/kg numune) – Quercitrin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	8.1 ± 0.9 ab	5.6 ± 1.6 b	9.3 ± 1.0 a	5.6 ± 0.2 b
Dondurulmuş elma – Frozen apple	te – nd	te – nd	te – nd	te – nd
Elma posası – Apple pomace	21.0 ± 3.8 a	11.0 ± 1.2 b	21.5 ± 5.7 a	9.9 ± 2.0 b
<b>Floridzin (mg/kg numune) – Phloridzin (mg/kg sample)</b>				
Taze elma – Fresh apple	2.8 ± 0.9 a	4.2 ± 0.1 a	4.1 ± 1.4 a	4.5 ± 0.4 a
Dondurulmuş elma – Frozen apple	1.1 ± 0.5 a	0.6 ± 0.2 a	1.0 ± 0.1 a	1.3 ± 0.3 a
Elma posası – Apple pomace	5.4 ± 1.4 b	9.9 ± 3.7 ab	12.0 ± 2.3 a	4.8 ± 0.5 b

Bu tabloda gösterilen veriler 3 tekrarlı olarak temin edilen numunelerde yapılan ölçümlerin ortalama ± standart sapma değerleridir. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ( $P < 0.05$ ). te: tespit edilemedi.

Data presented in this table consist of average values ± standard deviation of 3 batches. Different letters in the rows represent statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). nd: not detected.

Bu çalışmada standartlaştırılmış *in vitro* gastrointestinal sindirim modeli kullanılarak taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenollerin biyoerişilebilirliği değerlendirilmiştir. *In vitro* gastrointestinal sindirim modelleri uygulaması kolay, ucuz ve özel bir ekipman gerektirmeyen metotlardır. Bununla birlikte, *in vitro* gastrointestinal sindirim metotlarını kullanarak biyoyararlılığın öngörülebilmesini sınırlandıran bazı önemli hususlar vardır. Bunların en önemlilerinden biri birçok *in vitro* model için kolonik fermantasyon aşamasının olmamasıdır. Kolona ulaşan polifenoller mikrobiyal bozulmaya maruz kalır ve bu bozunma sonucu oluşan bilinmeyen bileşikler sağlığa faydalı etkiler sağlayabilirler. Bu nedenle ileride yapılacak biyoaktif bileşenlerin sindirimini değerlendiren çalışmalarda kolonik fermantasyon aşamasının da dahil edilmesi tavsiye edilmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Alminger, M., Aura A.M., Bohn T., Dufour C., El S.N., Gomes A., Karakaya S., Martinez-Cuesta M.C., McDougall G.J., Requena T. (2014). *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 13(4): 413-436.
- 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. *J Agric Food Chem*, 52(26): 7970-7981.
- Apak, R., Ozyurek M., Guclu K., Capanoglu E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. *J of Agric Food Chem*, 64(5): 997-1027.
- Benzie, I.F., Strain J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239(1): 70-76.
- Bohn, T. (2014). Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutr Rev*, 72(7): 429-452.
- Bouayed, J., Deußer H., Hoffmann L., Bohn T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chem*, 131(4): 1466-1472.
- Bouayed, J., Hoffmann L., Bohn T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem*, 128(1): 14-21.
- Boyer, J., Liu R.H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J*, 3(1): 1-15.
- Capanoglu, E., Beekwilder J., Boyacioglu D., Hall R., De Vos R. (2008). Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste. *J Agric Food Chem*, 56(3): 964-973.
- Capanoglu, E., Kamiloglu S., Ozkan G., Apak R. (2018). Evaluation of antioxidant activity/capacity measurement methods for food products. In: Apak, R., Capanoglu, E. & Shahidi, F. (eds.) *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd.
- Chethan, S., Malleshi N. (2007). Finger millet polyphenols: Optimization of extraction and the effect of pH on their stability. *Food Chem*, 105(2): 862-870.
- FAO (2017). Erişim tarihi: Aralık, 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/> - home.
- Guven, O., Sensoy I., Senyuva H., Karakaya S. (2018). Food processing and digestion: The effect of extrusion process on bioactive compounds in extrudates with artichoke leaf powder and resulting *in vitro* cynarin and cynaroside bioaccessibility. *LWT* 90:232-237.
- Ho, Y.C., Yu H.T., Su N.W. (2012). Re-examination of chromogenic quantitative assays for determining flavonoid content. *J Agric Food Chem*, 60(10): 2674-2681.
- Huang, H.W., Hsu C.P., Yang B.B., Wang C.Y. (2013). Advances in the extraction of natural ingredients by high pressure extraction technology. *Trends Food Sci Technol*, 33(1): 54-62.

- Kahle, K., Kempf M., Schreier P., Scheppach W., Schrenk D., Kautenburger T., Hecker D., Huebner W., Ackermann M., Richling E. (2011). Intestinal transit and systemic metabolism of apple polyphenols. *Eur J Nutr*, 50(7): 507-522.
- Kamiloglu, S., Capanoglu E. (2015). Polyphenol content in figs (*Ficus carica* L.): Effect of sun-drying. *Int J Food Prop*, 18(3): 521-535.
- Kamiloglu, S., Ozkan G., Isik H., Horoz O., Van Camp J., Capanoglu E. (2017). Black carrot pomace as a source of polyphenols for enhancing the nutritional value of cake: An *in vitro* digestion study with a standardized static model. *LWT-Food Sci Technol*, 77:475-481.
- Kamiloğlu, S., Paşlı A.A., Çapanoğlu E., Özçelik B. (2014). Kuru Meyvelerin Kuruyemişler ile Birlikte Tüketiminin Flavonoidlerin *In Vitro* Biyoyararlılığına Etkisinin İncelenmesi. *GIDA* 39(4): 227-233.
- 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. *J Sci Food Agric*, 93(4): 867-875.
- Kim, D.O., Jeong S.W., Lee C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*, 81(3): 321-326.
- Kumaran, A., Karunakaran R.J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem*, 97(1): 109-114.
- Miller, N.J., Rice-Evans C. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS•+ radical cation assay. *Free Radic Res*, 26(6): 195-199.
- Minekus, M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D.J., Menard O., Recio I., Santos C.N., Singh R.P., Vegarud G.E., Wickham M.S.J., Weitschies W., Brodkorb A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus. *Food Funct*, 5(6): 1113-1124.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala J.F., Gonzalez-Aguilar G.A. (2011). The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci*, 76(1): R6-R15.
- Skinner, R.C., Gigliotti J.C., Ku K.M., Tou J.C. (2018). A comprehensive analysis of the composition, health benefits, and safety of apple pomace. *Nutr Rev*, 76(12): 893-909.
- Tagliazucchi, D., Helal A., Verzelloni E., Conte A. (2012). The type and concentration of milk increase the *in vitro* bioaccessibility of coffee chlorogenic acids. *J Agric Food Chem*, 60(44): 11056-11064.
- Vallejo, F., Gil-Izquierdo A., Perez-Vicente A., Garcia-Viguera C. (2004). *In vitro* gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin C. *J Agric Food Chem*, 52(1): 135-138.
- Velioglu, Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*, 46(10): 4113-4117.
- Wijngaard, H., Hossain M.B., Rai D.K., Brunton N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Res Int*, 46(2): 505-513.
- Younis, K., Ahmad S. (2015). Waste utilization of apple pomace as a source of functional ingredient in buffalo meat sausage. *Cogent Food Agric*, 1(1): 1119397.



## ÇİMLENDİRİLMİŞ BAZI TAHİL VE BAKLAGİLLERİN FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLERİ\*

**Fatma Nur Kılınçer, Mustafa Kürşat Demir\*\***

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Meram, Konya, Türkiye

Geliş / *Received*: 08.01.2019; Kabul / *Accepted*: 08.04.2019; Online baskı / *Published online*: 27.04.2019

Kılınçer, F.N., Demir, M.K. (2019). Çimlendirilmiş bazı tahıl ve baklagillerin fiziksel ve kimyasal özellikleri. *GIDA* (2019) 44 (3): 419-429 doi: 10.15237/gida.GD19019

*Kılınçer, F.N., Demir, M.K. (2019). Physical and chemical properties of germinated some cereals and legumes. GIDA (2019) 44 (3): 419-429 doi: 10.15237/gida.GD19019*

### ÖZ

Bu çalışmada buğday, arpa, yulaf, kinoa, amarant, yeşil mercimek, nohut ve maş fasulyesi taneleri hedef alınmış olup, bu tanelerin farklı sürelerde (1, 3 ve 5 gün) çimlendirilmesi ve çimlendirme sonucunda değişimleri incelenmiştir. Çimlendirme süresi arttıkça, tanelerin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Çimlendirme ile tanelerin; kül, ham protein ve yağ miktarları artmıştır. Ham tanelere kıyasla çimlendirilmiş örneklerin, daha yüksek fenolik madde içerdiği ve çimlendirme süresinin artmasına bağlı olarak fitik asit miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca; baklagillerin ham protein oranının yaygın tahıllara kıyasla daha yüksek, bu tahılların da ham yağ oranının baklagillere kıyasla daha düşük olduğu ve en yüksek toplam fenolik madde içeriğine pseudo-tahılların sahip olduğu bunu da baklagillerin takip ettiği gözlenmiştir. Sonuç olarak tahıl, pseudo-tahıl ve baklagil tanelerinin çimlendirilmesi ile mevcut kimyasal özelliklerinin geliştirilebileceği ve fonksiyonelliğinin artırılabilirliği, başta tahıl ve tahıl ürünlerinde olmak üzere birçok gıda üretiminde kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Baklagil, çimlendirme, fitik asit, tahıl.

## PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF GERMINATED SOME CEREALS AND LEGUMES

### ABSTRACT

In this study, grains of wheat, barley, oat, quinoa, amaranth, green lentil, chickpea and mung bean were investigated in terms of their changes after germination at different times (1, 3 and 5 days). As the germination time increased, the  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  and values of the grains decreased. Germination led to increase in the amount of ash, crude protein and fat. It was found that along with the increase in germination time, the germinated samples contained higher phenolic material compared to the raw grain and decreased the amount of phytic acid. Also, crude protein in legumes was higher than common grains, that the crude fat content of common grains was lower than legumes, besides pseudocereals contained the highest amount of total phenolics which was followed by legumes. As a result, germination of grains, pseudocereals and legume grains showed that their present chemical properties and functionality can be improved and they can be used in the production of many foods, especially in cereal products.

**Keywords:** legume, germination, phytic acid, grain.

\* Bu araştırma; Fatma Nur Kılınçer'in yüksek lisans tez çalışmasının bir bölümüdür / *This paper is a part of MSc thesis of Fatma Nur Kılınçer*

\*\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author;*

✉ mkdemir@erbakan.edu.tr,

☎ (+90) 332 325 2024

☎ (+90) 332 223 7911

## GİRİŞ

Tahıl ve baklagil taneleri, ucuz olmaları ve uzun süre bozulmadan depolanabilir özellikte olmaları nedeniyle hayvansal proteinlere iyi bir alternatif kaynak olarak görülmektedir (Ertaş, 2007). Dünyanın birçok yerinde baklagil tohumları, diyetlerde protein kaynağı olarak ya da diğer protein kaynaklarını tamamlayıcı olarak kullanılmakta, hatta gelişmemiş bazı ülkelerde 'yoksul adamın eti' olarak nitelendirilmektedir (Duranti ve Gius, 1997). Tahıl ve baklagil tanelerinden maksimum besin değeri elde etmek için, çimlendirme, fermantasyon, kabuk soyma, ıslatma, ışınlama ve ısıl işlem gibi farklı uygulamalarda yapılabilmektedir (Karaşahin, 2015, Gül vd. 2018).

Çimlenme, bitkilerin neslini devam ettirmesi için önemli bir olaydır (Evenari, 1984). Tohumdan itibaren bir bitkinin oluşumunda temel basamak çimlenmedir. Tohumda bulunan embriyo uygun şartlar bulunca tohumdan çıkarak serbest hale geçer ve gelişmeye başlar (Martinez-Villaluenga vd., 2008). Çimlenme sırasında tohumda büyümenin başlaması ile birlikte bazı biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler (suyun emilmesi, enzim ve solunum faaliyeti, lipid, protein ve karbonhidrat gibi besin öğelerinin basit ve kullanılabilir forma dönüşmesi, nükleik asit ve protein sentezi, hücre farklılaşması ve büyüme gibi) meydana gelmektedir (Kanmaz ve Ova, 2014). Tohum su alınca, solunum, protein sentezi ve diğer biyokimyasal olaylar oluşmaya başlar. Böylece embriyo gelişip, radikula (kökçük) testadan çıkar ve tohum çimlenmiş olur. Kökçüğün testadan çıkışı, çimlenmenin gözle görülen bir belirtisidir. Bundan önce hormonlar ve enzimlerin etkisiyle, tohum içerisinde gözle görülmeyen birçok biyokimyasal olaylar meydana gelmektedir (Arslan, 2010). Her bitki ve tohumun bir çimlendirme şartı olup, bu da familyaya, türe ve cinse göre değişmektedir. Bu yüzden çimlendirme işlemini standardize etmek oldukça zordur. Standardizasyonda besin, ışık, sıcaklık ve nem gibi şartlar önemlidir (Öztürk, 2008). Yapılan çalışmalarda ıslatma ve çimlendirme işlemleri için saf suyun tercih edildiği bildirilmiştir (Dilber vd, 2003).

Çimlendirme ile normal taneye göre besin içeriğinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olduğu ve içerisinde bol miktarda bulunan vitamin, mineral, enzimler ve antioksidan maddelerden dolayı bazı hastalıklara karşı da koruyucu etkisi olduğu belirlenmiştir (Finney, 1982). Dünyada çimlenmiş tane olarak en fazla; brokoli, yonca, soya, bezelye, nohut, fasulye, buğday, arpa, yulaf, karabuğday, çeltik ve lupin tüketilmektedir (Yetim vd., 2010). Günümüzde bazı baklagil, lahanagil ve turpgil familyasına ait türlerin tohumları çimlendirilmekte ve oluşan sürgünleri salata olarak tüketilmektedir. Ayrıca çimlendirilmiş tohumlar ile bu tohumların kullanıldığı kahvaltılık ürünler, salatalar, çorbalar, makarnalar, unlu mamuller gibi gıdalar, endüstride yerini almaya başlamıştır (Mao vd., 2005; Márton vd., 2010). Günümüzde henüz yeni yeni kullanılan; tahıl ve baklagil tanelerinin çimlendirilme yöntemleri, aslında köklerini eski tarihlerden almaktadır. Türklerin, Orta Asya'da yaşadıkları zamanlarda çimlendirilmiş buğday ile uğut ve azık isimli tatlılar yaptıkları bilinmektedir (Dilber vd., 2003; Tangüler vd., 2015). Çin'de ise yaklaşık 5000 yıl öncesinde çimlenmiş tanelerin gıda maddesi olarak tüketildiği, 1700'lü yıllarda yolculukları sırasında skorbüt hastalığına yakalanan denizcilerin tedavisinde baklagil çimlerinin kullanıldığı bilinmektedir (Yang vd., 2001). Günümüzde insanlar, yapay katkı içermeyen, doğal veya az işlem görmüş gıdalara yönelmektedir. Bazı tahıl ve baklagil çimlerinin biyoaktif bileşenlerce zengin olması, bunların fonksiyonel gıda veya gıda bileşeni olarak endüstride kullanımının yaygınlaşmasını mümkün kılmaktadır. Diğer bir deyişle, çimlenmiş tane katkılı gıdalarda besin değerinin yanısıra, fonksiyonellik ve dayanıklılıkta artmaktadır (Siro vd., 2008). Bu çalışma; gıda sektörüne daha fonksiyonel nitelikte yeni alternatiflerin kazandırılması amacıyla planlanmış, bu amaçla da bazı tahıl ve baklagillerin çimlendirilmesiyle meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimler incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışmamızda çimlendirilmek üzere kullanılan; ekmeklik buğday, yulaf, arpa (Demirhan Gıda

San. Tic. Ltd. Şti., Konya, Türkiye), kinoa, amarant, maş fasulyesi, yeşil mercimek ve koçbaşı nohut (Yayla Agro Gıda Sanayi ve Nakliyat A.Ş., Mersin, Türkiye), piyasadan temin edilmiştir.

## Yöntem

### Deneme Planı

Denemelerde; 8 farklı tahıl ve baklagil tanesi (buğday, yulaf, arpa, kinoa, amarant, yeşil mercimek, nohut ve maş fasulyesi) ile 3 farklı çimlendirme süresi (1., 3. ve 5. gün) esas alınmış, elde edilen veriler kontrol grubu olarak çimlendirilmemiş (0. gün) örnekler ile kıyaslanmıştır. Denemeler (8 x 4) x 2 faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüştür.

### Çimlendirme Prosesi

Buğday (ekmeklik), yulaf, arpa, kinoa, amarant, yeşil mercimek, nohut, maş fasulyesi örnekleri ilk olarak saf su ile yıkanıp, süzölmüş ve temizlenmiştir. Çimlendirme sırasında gelişmesi muhtemel mikrobiyal faaliyeti engellemek için, 100 g örnek 500 ml sodyum hipoklorit (%20'lik) içerisinde 20 dakika süreyle bekletilerek sterilize edilmiş ve ardından saf suyla yıkanarak nötralizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sterilize edilmiş bu tanelerin üzerine 3 katı olacak şekilde saf su ilave edilmiş ve 24 saat süreyle, oda sıcaklığında (24±1 °C) karanlık bir ortamda ıslatılmaya bırakılmıştır. Islatma süresi sonunda taneler süzülerek, tülbent ve pamuktan oluşan iki katman arasına yerleştirilmiştir. Tanelerin yerleştirilirken ince bir tabaka halinde serilmesine ve birbirine temas etmemesine dikkat edilmiştir. 12 saatte bir, taneler saf sudan geçirilmiş, 1., 3. ve 5. günlerinin sonunda da çimlenme işlemleri durdurulmuştur. Çimlendirilmiş taneler analize alınmadan önce, birbirine yapışmayacak şekilde, kurutma kâğıtlarının üzerinde tepsilere dizilerek; 50 °C'lik bir etüvde (Nüve FN-400, Ankara, Türkiye) kurutulmuş ve ardından laboratuvar tipi bir öğütücüde öğütülmüştür. Boyut kontrolü amacıyla da, öğütölmüş tüm örnekler, 500 µ' luk bir elek yardımıyla elenmiş, hava geçirmeyecek şekilde kilitli polietilen poşetler içerisinde soğutucuda (-18 °C) muhafaza edilmiştir.

### Renk Analizleri

Ham ve çimlendirilmiş örneklerin renkleri, Hunter Lab Color Quest II Minolta CR-400

(Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak  $L^*$  değeri [(0) siyah-(100) beyaz],  $a^*$  değeri [(+) kırmızı- (-) yeşil] ve  $b^*$  değeri [(+) sarı-(-) mavi] cinsinden ölçülmüştür (Francis, 1998).

### Kimyasal Analizleri

Kül tayini AACC 08-01'e, ham yağ miktarı otomatik yağ ekstraksiyon cihazında (Velp SER 148/6, Usmate, İtalya) AACC 30-25'e göre belirlenmiştir (AACC, 1990). Ham protein tayini; Kjeldahl yöntemiyle, AACC 46-12'ye göre yapılmıştır (AACC, 1990). Örneklerin protein miktarları hesaplanırken; buğday için N x 5,7; arpa ve yulaf için N x 5,83; kinoa, amarant, yeşil mercimek, nohut ve maş fasulyesi için N x 6,25 çarpım faktörü kullanılmıştır. Ham ve çimlendirilmiş örneklerin toplam fenolik madde içeriği, Folin-Ciocalteu Metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir. Tüm örnekler (3 g), asitlendirilmiş metanol (HCl/metanol/su, 1:80:10, v/v) içerisinde (15 ml), 2.5 saat süre ile çalkalamalı su banyosunda (24±1 °C) çalkalanarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra bu karışım, 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiş ve sonrasında elde edilen supernatant kullanılarak toplam fenolik madde içeriği tespit edilmiştir. Analizde 0.8 ml supernatant örnek, 4.8 ml saf su, 0.5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 1 ml sodyum karbonat çözeltisi (% 20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılmış ve ardından 2 saat oda sıcaklığında (24±1 °C) ışık görmeyen bir yerde inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda da çözeltilerin absorbans değerleri 725 nm de spektrofotometrede (Libra S60, Biochrom Ltd., Cambridge, İngiltere) okunmuş ve toplam fenol miktarı gram ekstrede iğ gallik asite (iğ GAE/g) eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır (Slinkard ve Singleton, 1977; Gamez-Meza vd., 1999).

Fitik asit miktarı tayini, Haug ve Lantzsch (1983)'e göre, kolorimetrik metot kullanılarak yapılmıştır. Örnekteki fitik asit, 0.2 N hidroklorik asit çözeltisi ile ekstrakte edildikten sonra Demir III çözeltisi ile muamele edilip, çöktürülmüştür. Serum kısmında kalan demir miktarı spektrofotometrik (519 nm) yolla belirlenmiş ve bundan fitik asit miktarı hesaplaması yapılmıştır. Sonuçlar mg/100g cinsinden ifade edilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Denemeler; 2 tekerrürlü olarak yürütülmüş olup, araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiki analizinde JMP istatistik programı (14.0.1 versiyon, SAS Institute Inc., Cary, NC, ABD) kullanılmıştır. Elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuş, farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise, Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ( $P < 0.05$ ) kıyaslanmıştır (Düzgüneş vd., 1987).

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Renk Analizi

Bu çalışmada; ham ve çimlendirilmiş 8 farklı örneğin  $L^*$  değerleri 75.31-86.72;  $a^*$  değerleri -3.01-1.00;  $b^*$  değerleri ise 14.48-22.18 arasında değişim göstermiştir. Öztürk (2008) çimlendirilmiş buğday üzerine yaptığı bir çalışmada, ham ve çimlendirilmiş buğdayların  $L^*$  değerinin 63.85-77.37;  $a^*$  değerinin 3.5-7.12 ve  $b^*$  değerinin ise 13.77-25.84 arasında değiştiğini bildirmiştir. Tian vd. (2010) çimlendirilmiş yulaf üzerine yaptıkları bir çalışmada; örneklerin  $L^*$  değerinin 54.77-80.36;  $a^*$  değerinin 2.37-8.80 ve  $b^*$  değerinin 9.76-21.75 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Tok (2017) da bir çalışmada, çimlendirilmiş buğday ve yeşil mercimek örneklerinin  $L^*$  değerlerini 76.77-87.53;  $a^*$  değerlerini -1.68 - 2.71;  $b^*$  değerlerinin ise 9.32-25.34 arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, bu literatür bilgileri örtüşmektedir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 1); çimlendirilmiş taneler arasında; en yüksek  $L^*$  değeri ortalaması nohut örneğinde iken, en düşük  $L^*$  değeri ortalaması maş fasulyesi örneklerinde tespit edilmiştir. Aynı zamanda maş fasulyesi örneklerinin en düşük  $a^*$  değeri ortalamasına sahip olduğu da gözlenmiştir. En yüksek  $a^*$  değeri ortalaması ise buğday örneklerinde tespit edilmiştir. En yüksek  $b^*$  değerleri ortalaması yeşil mercimek örneğinde, en düşük  $b^*$  değeri ortalaması ise kinoa örneklerinde tespit edilmiştir. Çimlenmemiş ham örnekler için; çimlendirme işlemi ve süresiyle,  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin istatistiki olarak ( $P < 0.05$ ) azaldığı tespit edilmiştir. Çimlendirilen örneklerde, 3. gün sonrası rengin bariz bir şekilde koyulaştığı

belirlenmiştir. Ayrıca ham tanelere göre, çimlendirme ile tanenin yeşil aksamının da artmasına bağlı olarak,  $a^*$  değerinin negatif değerler verdiği yani yeşilliğin arttığı tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Tanelerin renk özellikleri üzerine çimlenmenin etkisi<sup>1</sup>

Table 1. Effect of germination on the color properties of seeds

Parametreler Parameters	$L^*$	$a^*$	$b^*$
Çimlendirilmiş taneler Germinated seeds			
Buğday Wheat	80.11 <sup>c</sup>	0.52 <sup>b</sup>	19.75 <sup>d</sup>
Arpa Barley	82.98 <sup>d</sup>	0.46 <sup>c</sup>	16.45 <sup>f</sup>
Yulaf Oat	83.73 <sup>c</sup>	0.17 <sup>c</sup>	16.43 <sup>f</sup>
Kinoa Quinoa	84.67 <sup>b</sup>	0.13 <sup>c</sup>	14.48 <sup>g</sup>
Amarant Amaranth	79.83 <sup>f</sup>	1.00 <sup>a</sup>	21.23 <sup>b</sup>
Yeşil mercimek Green Lentil	76.71 <sup>g</sup>	-1.89 <sup>d</sup>	22.18 <sup>a</sup>
Nohut Chickpea	86.72 <sup>a</sup>	0.11 <sup>c</sup>	20.80 <sup>c</sup>
Maş Fasulyesi Mung Bean	75.31 <sup>h</sup>	-3.01 <sup>e</sup>	18.86 <sup>e</sup>
Çimlendirme Süresi (gün) Germination Time (day)			
0.	82.91 <sup>b</sup>	-0.17 <sup>ab</sup>	20.33 <sup>a</sup>
1.	83.41 <sup>a</sup>	-0.07 <sup>a</sup>	18.05 <sup>c</sup>
3.	81.57 <sup>c</sup>	-0.24 <sup>b</sup>	17.55 <sup>d</sup>
5.	77.14 <sup>d</sup>	-0.75 <sup>c</sup>	19.16 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ), aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ), averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ ).

Elde edilen bu sonuçlarımızı destekleyici olarak; Öztürk (2008) ham buğday tanesinin  $L^*$  değerinin 77.37'den, çimlendirme ile 63.85'e azaldığını, Tok (2017) çimlendirme süresi arttıkça örneklerin parlaklık değerlerinde azalma gerçekleştiğini bildirmiştir. Yaqoob vd. (2018)' de; çimlendirilmiş

arpa ilaveli kek karışımının  $L^*$  ve  $b^*$  değerinin azaldığı tespit etmiştir. Bu durumun olası nedenleri arasında, çimlendirilen tanelerin çeşitliliği ve çimlendirme süreleri olarak sıralanabilir.

### Kimyasal Analizler

#### Kül

Ham ve çimlendirilmiş örneklerin kül değeri ortalamaları % 1.34-3.41 arasında değişim göstermiştir. Farooqui vd. (2018), arpa çimlendirilmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada; kül değerlerinin % 1.56-1.80 arasında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Donkor vd. (2012) tahılların çimlendirilmesine yönelik bir çalışmada; buğday kül değerleri dağılımının % 1.85 ile % 2.18, yulafın ise % 1.56 ile % 1.77 arasında değişim gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ghavidel ve Prakash (2007) çimlendirilmiş baklagil özelliklerini inceledikleri bir çalışmada; maş fasulyesi kül değerlerinin % 3.88 ile % 4.03; mercimeğin % 2.28 ile 2.44, nohutun % 2.94 ile % 3.14 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçları, bu literatür bilgileri desteklemektedir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 2); amarant, yeşil mercimek ve nohut örneklerinin ortalama kül değerleri istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). En düşük kül miktarı ortalaması yulaf örneklerinde iken, en yüksek kül değeri ortalaması maş fasulyesi örneklerinde tespit edilmiştir. Çimlenmemiş tüm tanelerin ortalama kül içeriğinin % 2.19 olduğu, 5 günlük çimlendirme işlemi sonunda ise ortalama kül değerlerinin % 2.26'ya çıktığı tespit edilmiştir. Özellikle çimlendirme süresinin artmasına (3.gün sonrası) bağlı olarak; tahıl ve baklagil taneleri kül değerlerinin, ham taneye kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çimlenme sırasında; fitaz enzim aktivitesindeki değişimlere bağlı olarak kül değerlerinde artma ve azalmalar gerçekleşmektedir. Fitaz enzimi, protein ve minerallerin bağlı bulunduğu yapıları hidrolize ederek, minerallerin serbest kalmasını sağlamaktadır (Narsih, 2012). Ayrıca bazı araştırmacılar, tahıl ve baklagil tanelerin mineral almına izin veren radiksin (kök) uzantısının gelişmesiyle kül içeriğinin 4. günden itibaren arttığını ifade etmektedirler (Sneath ve McIntosh, 2003).

Kavas ve El (1991), çimlendirilmiş mercimeğin besleyici değerlerini araştırdıkları bir çalışmada; çimlendirilmemiş mercimeğin kül içeriğinin % 2.62 olduğunu, 4 gün çimlendirmesi ile de bu oranın % 2.85'e yükseldiğini tespit etmişlerdir. Fouad ve Rehab (2015), çimlendirilmemiş yeşil mercimekte kül oranının % 2.77 olduğunu, 6 gün süreyle çimlendirilmesi sonucunda ise bu oranın % 3.35 değerine çıktığını bildirmişlerdir. Kanmaz (2017)'da, 5 günlük çimlendirilmiş buğday tanelerinde kül içeriğinin % 18 arttığını bildirmiştir. Çimlenme işlemi esnasında tanenin kimyasal kompozisyonundaki değişikliklerin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Çimlenmeyle artan alfa amilaz etkisiyle, ilk olarak karbohidratlar yıkıma uğramakta ve solunumda kullanılmak üzere basit şekerlere dönüşmektedir. Bu durum; kimyasal kompozisyonda yer alan diğer bileşenlerin oransal artışına da neden olmaktadır (Jones ve Jacobsen, 1991; Garciarubio vd., 1997).

#### Ham protein

Ham ve çimlendirilmiş örneklerin, ham protein değerleri % 8.97 ile % 24.45 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 2). Harmuth-Hoene vd. (1987), buğday, maş fasulyesi ve nohut tanelerini çimlendirdikleri bir çalışmada, ham protein oranlarının sırasıyla, % 10.38 -10.62; % 23.04-23.80 ve % 20.15-20.33 arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Tian vd. (2010), ham ve çimlendirilmiş yulaf tanelerinde ham protein oranının % 18.98-22.02 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Chauhan vd. (2015) yapmış oldukları bir çalışmada; ham ve çimlendirilmiş amarant örnekleri ham protein değerlerinin % 15.05-16.5 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 2); ham protein değerlerinin, çimlendirilmiş taneler arasında baklagil örneklerinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. En yüksek ham protein ortalaması yeşil mercimekte tespit edilmişken, onu sırasıyla maş fasulyesi ve nohut izlemiştir. En düşük ham protein oranının ise arpa örneğinde olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; baklagillerin ham protein oranının tahıllara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca; çimlendirme işlemi ve süresine bağlı olarak ham protein miktarının, çimlendirilmemiş (ham) örneklere göre, istatistiki



olarak ( $P < 0.05$ ) arttığı tespit edilmiştir. Çimlenme sırasında, tanenin yapısında bulunan proteaz enziminin aktive olması; proteinlerin oligopeptitlere, peptitlere ve serbest aminoasitlere parçalanmasını sağlamaktadır. Çimlenme ve filizlerin büyümesi ile birlikte tanede; yeni protein, aminoasit ve nükleik asit (DNA ve RNA) sentezi de gerçekleşmektedir (Kanmaz, 2017). Aynı zamanda çimlenmeyle birlikte tanede gerçekleşen nitratların emilimi, karbonhidrat rezervlerinden azotlu bileşiklerin metabolizmasını kolaylaştırır ve böylece tanelerin ham protein seviyeleri de artar (Sneath ve McIntosh, 2003). Fakat her tahıl ve her baklagildeki bu artışlar farklılık arzedeabilmektedir. Bunun muhtemel sebebi de ham maddenin çimlenme fizyolojilerindeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Kavas ve El (1991) mercimeklerde protein oranlarının  $\% 30.0 \pm 0.27$

olduğunu, çimlendirilmesi ile de bu oranın  $\% 33.28 \pm 0.89$ ' e çıktığını tespit etmiştir. Bibi vd. (2008) nohut örneklerinde ham protein oranlarının  $\% 19.84$  olduğunu, çimlendirmeyle de bu oranların  $\% 21.97$ 'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Fouad ve Rehab (2015), mercimekte  $23.65 \text{ g}/100\text{g}$  olan protein miktarının 3, 4, 5 ve 6 günlük çimlenme sonucunda sırasıyla  $27.51$ ;  $27.90$ ;  $28.41$  ve  $28.86 \text{ mg}/100\text{g}$ 'e arttığını tespit etmişlerdir. Bu artışın sebebi olarak çimlenme esnasında gerçekleşen solunumla birlikte, karbonhidratların yıkımından kaynaklanan kuru madde kaybı gösterilmektedir (Mahmoud ve El-Anany, 2014; Uppal ve Bains, 2012). Nonogaki vd. (2010) ise protein miktarındaki artışın sebebinin çimlenme sürecindeki hormonal değişimler ve imbibisyon sırasında yeni protein sentezi olarak açıklamaktadır.

Çizelge 2. Tanelerin kimyasal özellikleri üzerine çimlenmenin etkisi<sup>1</sup>

Table 2. Effect of germination on the chemical properties of seeds

Parametreler <i>Parameters</i>	Kül (%) <i>Ash (%)</i>	Ham Protein (%) <i>Crude Protein (%)</i>	Ham Yağ (%) <i>Crude Fat (%)</i>	Fitik asit (mg/100g) <i>Phytic acid (mg/100g)</i>	Toplam Fenolik Madde ( $\mu\text{g GAE/g}$ ) <i>Total phenolic content (<math>\mu\text{g GAE/g}</math>)</i>
Çimlendirilmiş taneler <i>Germinated seeds</i>					
Buğday <i>Wheat</i>	1.34 <sup>f</sup>	15.87 <sup>d</sup>	1.77 <sup>f</sup>	789.20 <sup>b</sup>	1378.38 <sup>g</sup>
Arpa <i>Barley</i>	1.92 <sup>d</sup>	8.97 <sup>h</sup>	1.98 <sup>e</sup>	681.69 <sup>d</sup>	1445.45 <sup>f</sup>
Yulaf <i>Oat</i>	1.67 <sup>e</sup>	13.09 <sup>f</sup>	6.63 <sup>a</sup>	631.08 <sup>e</sup>	1720.76 <sup>e</sup>
Kinoa <i>Quinoa</i>	2.13 <sup>c</sup>	13.96 <sup>e</sup>	4.69 <sup>c</sup>	671.57 <sup>d</sup>	2205.12 <sup>b</sup>
Amarant <i>Amaranth</i>	2.34 <sup>b</sup>	11.04 <sup>g</sup>	5.30 <sup>b</sup>	392.29 <sup>f</sup>	2376.59 <sup>a</sup>
Yeşil mercimek <i>Green Lentil</i>	2.30 <sup>b</sup>	24.45 <sup>a</sup>	0.86 <sup>g</sup>	928.37 <sup>a</sup>	2051.70 <sup>c</sup>
Nohut <i>Chickpea</i>	2.30 <sup>b</sup>	21.11 <sup>c</sup>	4.42 <sup>d</sup>	727.62 <sup>c</sup>	1768.43 <sup>d</sup>
Maş Fasulyesi <i>Mung Bean</i>	3.41 <sup>a</sup>	23.95 <sup>b</sup>	0.90 <sup>g</sup>	363.36 <sup>g</sup>	1714.95 <sup>e</sup>
Çimlendirme Süresi (gün) <i>Germination Time (day)</i>					
0.	2.19 <sup>b</sup>	14.73 <sup>c</sup>	3.13 <sup>e</sup>	935.66 <sup>a</sup>	1372.12 <sup>d</sup>
1.	2.06 <sup>c</sup>	17.80 <sup>a</sup>	3.35 <sup>b</sup>	798.94 <sup>b</sup>	1564.94 <sup>c</sup>
3.	2.19 <sup>b</sup>	16.80 <sup>b</sup>	3.34 <sup>b</sup>	555.32 <sup>c</sup>	1952.14 <sup>b</sup>
5.	2.26 <sup>a</sup>	16.90 <sup>b</sup>	3.46 <sup>a</sup>	302.67 <sup>d</sup>	2441.49 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar birbirinden farklı ( $P < 0.05$ ). Aynı harf taşıyan ortalamalar farksızdır ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Averages with different letters on the same row are different from each other ( $P < 0.05$ ). Averages with same letter are not different ( $P > 0.05$ )

**Ham yağ** Çizelge 2 incelendiğinde, ham ve çimlendirilmiş örneklerde ham yağ değerlerinin % 0.86-6.63 arasında değişim gösterdiği görülmektedir. Ghavidel ve Prakash (2007) baklagilleri çimlendirdikleri bir çalışmada; maş fasulyesi, mercimek ve nohut tanelerinde ham yağ oranlarının sırasıyla; % 1.21-1.29; % 0.78-0.89; % 5.18-5.45 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. El-Adawy vd. (2003) maş fasulyesini çimlendirdikleri bir çalışmada; ham yağ oranının % 1.15-1.75 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Donkor vd. (2012)'de çeşitli tahılları çimlendirdikleri bir çalışmada; buğdayın ham yağ oranının % 1.81-1.95, arpanın % 2.37-3.01, yulafın ise % 2.37-3.01 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çizelge 2'ye göre; en yüksek ham yağ değerleri yulaf örneklerinde tespit edilmiş olup, bunu sırasıyla amarant ve kinoa taneleri takip etmiştir. Yeşil mercimek ve maş fasulyesi örneklerinin ise, en düşük ham yağ değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; baklagil ham yağ oranlarının tahıllara kıyasla daha düşük olduğu, tanelerde çimlendirme süresinin artması bağlı olarak ham yağ miktarının da arttığı tespit edilmiştir. Çimlenme sırasında tohumun yapısında bulunan lipaz enziminin aktive olması, yağların yağ asitlerine ve gliserole parçalanmasını sağlamaktadır. Buna karşın çimlendirilmiş tanelerin toplam yağ içeriği, ham tanelere kıyasla önemli artış göstermektedir. Çimlenmenin ileri aşamalarında, tanenin çeşidine göre farklı düzeylerde olmak üzere, yeniden yağ ve yağ asitleri sentezi gerçekleşmektedir (Kanmaz, 2017). Finney (1982); 3 gün çimlendirilen buğday örneklerinde ham yağ içeriğinin % 0.95'ten % 1.54'e yükseldiğini bildirmiştir. Öztürk (2008)'de buğdayın çimlenmesi ile ham yağ miktarında yaklaşık olarak % 20 civarında bir artış meydana geldiğini tespit etmiştir. Bibi vd. (2008), çimlenme süresince tanelerin yağ oranlarında doğrusal bir artış gözlemlediklerini, nohut örneklerinin ham yağ oranının % 4.24'ten % 6.03'ye yükseldiğini bildirmişlerdir.

#### **Fitik asit**

Ham ve çimlendirilmiş tanelerin fitik asit içerikleri 363.36 ile 928.37 mg/100g arasında değişim göstermiştir. Ghavidel ve Prakash (2007); ham ve

çimlendirilmiş maş fasulyesi, mercimek ve nohut tanelerindeki fitik asit miktarlarının sırası ile 500-610, 150-190 ve 380-480 mg/100g arasında olduklarını belirlenmiştir. Tok (2017), ham ve çimlendirilmiş buğdayın fitik asit içeriğini 332-1276 mg/100g, yeşil mercimeğin ise 306-1474 mg/100g arasında değişim gösterdiğini tespit etmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre (Çizelge 2); çimlendirilmiş taneler arasında; yeşil mercimek örneklerinin en yüksek, maş fasulyesi örneklerinin ise en düşük fitik asit değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Çimlendirme süresi arttıkça, örneklerin istatistiki olarak ( $P < 0.05$ ) fitik asit miktarının da azaldığı tespit edilmiştir. Çimlenme işlemi, tohumların yapısında bulunan anti-besinsel bileşenlerin miktarını azaltan en önemli proseslerden biridir. Çimlenmeyle artan fitaz enzimi aktivitesi sebebiyle fitik asit miktarı önemli oranda düşmekte ve minerallerin biyoyararlılığı artmaktadır. Yaklaşık 7 ile 8 günlük çimlendirme işlemi sonunda fitat içeriğinin neredeyse tamamının parçalandığı bilinmektedir (Ashton ve Williams 1958). Harmuth- Hoene vd. (1987), buğday, maş fasulyesi ve nohutta fitik asit içeriklerinin sırasıyla 878.2 mg/100g, 628.8 mg/100g ve 338.3 mg/100g olduğunu, bu tanelerinin çimlendirmeyle birlikte yine sırasıyla 571.2 mg/100g; 378.7 mg/100g ve 327.8 mg/100g değerlerine düştüğünü tespit etmişlerdir. Ghavidel ve Prakash (2007) mercimek, börülce, maş fasulyesi ve nohut gibi bazı baklagiller ile yaptıkları çimlenme çalışmalarında, fitik asit miktarının % 18 ile 21 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada da, tanelerin çimlendirilmesi sonucunda fitik asit miktarları 935.36 mg/100g'dan, 302.67 mg/100g'a düşmüştür.

#### **Toplam fenolik madde**

Çizelge 2 incelendiğinde, ham ve çimlendirilmiş tanelerdeki toplam fenolik madde miktarlarının 1378.38 ile 2376.59 µg GAE/g arasında değiştiği açıkça görülmektedir. Pasko vd. (2009), ham ve çimlendirilmiş amarant ve kinoa tanelerindeki toplam fenolik madde miktarının 2950-3750 µg GAE/g arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise, ham ve çimlendirilmiş maş fasulyesindeki toplam fenolik

madde düzeyleri 1665-1917 µg GAE/g arasında değişim göstermiştir (Kim vd., 2012). Elde edilen verilere göre (Çizelge 2); çimlendirilmiş taneler arasında en yüksek toplam fenolik madde miktarı amarant tanelerinde elde edilmiş olup, bunu sırasıyla kinoa, yeşil mercimek ve nohut taneleri takip etmiştir. En düşük toplam fenolik madde miktarları ise, buğday örneğinde tespit edilmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; en yüksek toplam fenolik madde içeriğini pseudo-tahılların (kinoa ve amarant) verdiği, bunu baklagillerin takip ettiği ve yaygın tahıl olarak bilinen buğday ve arpanın ise en düşük toplam fenolik madde içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Baklagil taneleri kendi arasında kıyaslandığında ise; yeşil mercimeğin en yüksek toplam fenolik içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeni ise; Fratianni vd. (2014) tarafından, mercimekte kotiledonun flavonoid olmayan fenolik bileşikleri (hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler), kabuk tabakasında ise flavonoidleri içermesi olarak açıklanabilir. Çimlendirme süresi artmasıyla birlikte, tanelerdeki toplam fenolik madde miktarının arttığı da belirlenmiştir. Tohumların çimlenmesi ile, birincil ve ikincil metabolitler kompozisyonundaki antioksidan ve toplam fenolik maddelerde radikal değişiklikler meydana gelmektedir (Xu vd., 2009). Özellikle de çimlendirilme işlemi ile, antioksidan özellikli fenolik bileşik miktarının artırılması başarılı bir strateji olarak görülmektedir (Dziki vd., 2015). Çimlenme işlemiyle birlikte yeni bileşiklerin sentezi artmakta ve toplam fenolik madde miktarı da bu prosesle beraber artış göstermektedir. Çimlendirme süresinin artmasına bağlı olarak, toplam fenolik madde miktarının artmasının sebebi de, bu yeni bileşiklerini sentezlenmesinden ileri gelmektedir. Randhir vd. (2004), 1 günlük maş fasulyesi çimlerinin % 20, 4 günlük çimlerinin ise % 46 oranında daha yüksek fenolik madde içerdiğini ve böylelikle antioksidan ve antimikrobiyal özellik bakımından daha zengin hale geldiklerini tespit etmişlerdir. Alvarez-Jubete vd. (2010); çimlendirilmemiş amarant tanesindeki toplam fenolik madde içeriğinin 212 µg GAE/g, aynı tane çimlendiğinde ise bu miktarın 822 µg GAE/g ulaştığını tespit etmişlerdir. Bu literatür bilgileri de çalışmamızı destekler niteliktedir.

## SONUÇ

Bu araştırmada ülkemizde yaygınca yetiştirilen ve yetiştirilmeye başlanılan bazı tahıl, pseudo-tahıl ve baklagil çeşitleri ile bunların çimlendirilmesi sonucunda elde edilen son ürünlerin, çimlendirme süresine bağlı olarak değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan bu araştırma neticesinde;

Çimlendirme süresinin artmasına bağlı olarak;  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Çimlenmeyle tanelerde renk değişimleri meydana gelmiş, çimlendirme süresinin artmasına bağlı olarak rengin koyulaştığı, yeşilliğin arttığı belirlenmiştir. Çimlenmemiş örnekler ile çimlendirme işlemi uygulanmış örnekler kıyaslandığında; çimlenme ile birlikte kül, ham protein, ham yağ ve toplam fenolik madde miktarlarının arttığı, fitik asit miktarının ise azaldığı ( $P < 0.05$ ) tespit edilmiştir. Dolayısıyla çimlendirme işlemi ile tanelerin besinsel ve fonksiyonel içeriklerinde meydana gelen olumlu değişimler, çimlendirme prosesinin önemini daha da arttırmaktadır. Çimlendirme ile tanelerinin bünyelerinde depo edilen maddeler, bir yandan parçalanırken, öte yandan da yeni bileşiklere sentezlenmekte ve böylelikle tanelerin mineral, fenolik madde, ham yağ ve protein içerikleri değişmektedir.

## KAYNAKLAR

AACC (1990). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC. 8<sup>th</sup> Edition, Saint Paul, Minnesota, USA.

Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E.K., Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem*, 119(2): 770–778.

Arslan, M. (2010). Çeşitli şiddetteki gök gürlütüsü seslerinin tohum çimlenmesi üzerine etkileri. Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kütahya, 42 s.

Ashton, W.M., Williams, P.C. (1958). The phosphorus compounds of oats the content of phytate phosphorus. *J Sci Food Agric*, 9(8): 505-511.

- Bibi, N., Aurang, Z., Amal, B.K., Mohammad, S.K. (2008). Effect of germination time and type of illumination on proximate composition of chickpea seed (*Cicer arietinum* L.). *Am J Food Technol*, 3(1): 24-32.
- Chauhan, A., Saxena, D.C., Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus spp.*) flour. *Lwt-Food Sci Technol*, 63(2): 939-945.
- Dilber, A., Türker, S., Elgün, A. (2003) Çimlendirilmiş bir buğday ürünü olan azık üzerine araştırmalar. *Gıda*, 28(4): 409-414.
- Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains-sources of bioactive compounds. *Food Chem*, 135(3): 950-959.
- Duranti, M., Gius, C. (1997). Legume seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Res*, 53(1-3): 31-45.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve Deneme Metodları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1021, Ankara, 381 s.
- Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Kordowska-Wiater, M., DomaN-Pytka, M. (2015). Influence of elicitation and germination conditions on biological activity of wheat sprouts. *J Chem*, vol-2015: 1-8.
- El-Adawy, T.A., Rahma, E.H., El-Bedawey, A.A., El-Beltagy, A.E. (2003). Nutritional potential and functional properties of germinated mung bean, pea and lentil seeds. *Plant Foods Hum Nutr*, 58(3): 1-13.
- Ertaş, N. (2007). Yemeklik baklagiller ve antibesinsel faktörler. *Selçuk Tarım Bil Der*, 21(41): 85-95.
- Evenari, M. (1984). Seed physiology: from ovule to maturing seed. *Bot Rev*, 50(2): 143-170.
- Farooqui, A.S., Syed, H.M., Talpade, N.N., Sontakke, M.D., Ghatge, P.U. (2018). Influence of germination on chemical and nutritional properties of barley flour. *J Pharmacogn Phytochem*, 7(2): 3855-3858.
- Francis, F.J. (1998). *Colour analysis*. Nielsen Food Analysis Aspen Publishers, Maryland, USA, s. 599-612.
- Finney, P.L. (1983). Effect of germination on cereal and legume nutrients changes and food or feed value: A comprehensive review. *Rec Adv Phytochem*, 17: 229-305.
- Fouad, A.A., Ali Rehab, F.M. (2015). Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*lens culinaris medik.*) sprouts. *Acta Sci Pol Technol*, 14(3): 233-246.
- Fратиanni, F., Cardinale, F., Cozzolino, A., Granese, T., Albanese, D., Matteo, M., Zaccardelli, M., Coppola, R., Nazzaro, F. (2014). Polyphenol composition and antioxidant activity of different grass pea (*Lathyrus sativus*), lentils (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*) ecotypes of the Campania region (Southern Italy). *J Funct Food*, 7: 551-557.
- Gamez-Meza, N., Noriega-Rodriguez, J.A., Medina-Juarez, L.A., Ortega Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Angulo-Guerrero, O. (1999). Antioxidant activity in soybean oil of extracts from thompson grape bagasse. *J Am Oil Chem Soc*, 76: 1445-1447.
- Garciarubio, A., Legaria, J.P., Covarrubies, A.A. (1997). Abscisic acid inhibit germination of mature arabidopsis seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta*, 203(2): 182-187.
- Ghavidel, R.A., Prakash, J. (2007). The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *Lwt-Food Sci Technol*, 40(7): 1292-1299.
- Gül H., Hayıt F., Acar C., Kurt N., Dizlek H. (2018). Effects of chickpea-based leavening extract on physical, textural and sensory properties of white wheat bread. *Int J Food Eng*, 14(5-6): 1-11.
- Harmuth-Hoene, A.E., Bognar, A.E., Kornemann, U., Diehl, J.F. (1987) The influence of germination on the nutritional value of wheat,

- mung beans and chickpeas. *Z Lebensm Unters Forsch*, 185(5): 386-393.
- Haug, W., Lantzsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal product. *J Sci Food Agric*, 34(12): 1423-1426.
- Jones, R.L., Jacobsen, J.V. (1991). Regulation and syhntesis and transport of secreted proteins of in cereal aleurone. *Int Rev Cytol*, 126: 49-88.
- Kanmaz, E.Ö., Ova, G. (2014). Filizlenme işleminin fitokimyasal bileşikler üzerine etkisi. *Gıda*, 39(1): 49-56.
- Kanmaz, E.Ö. (2017). *Fonksiyonel Antioksidan Gıdalar: Yenilebilir tohum filizleri*. Sidas Medya, İzmir, 256 sayfa.
- Karaşahin, M. (2015). Topraksız ortamda yetiştirilen bazı tahılların çim suyu verim ve besin değerleri. *Iğdır Univ J Inst Sci Tech*, 5(4): 57-64.
- Kavas, A., El, S.N. (1991). Nutritive value of germinated mung beans and lentils. *J Consumer Stud Home Econ*, 15(4): 357-366.
- Kim, D.K., Jeong, S.C., Gorinstein, S., Chon, S.U. (2012). Total polyphenols, antioxidant and antiproliferative activities of different extracts in mungbean seeds and sprouts. *Plant Foods Hum Nutr*, 67(1): 71-75.
- Mahmoud, A.H., El-Anany, A.M. (2014). Nutritional and sensory evaluation of a complementary food formulated from rice, faba beans, sweet potato fl our, and peanut oil. *Food Nutr Bull*, 35 (4), 403-413.
- Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gulewicz, P., Gulewisz, K., Vidal-Valverde, C. (2008). Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts, *Food Chem Toxicol*, 46(5): 1635-1644.
- Márton, M., Mándoki, Z., Csapo-Kiss, Z.S., Csapo, J. (2010). The role of sprouts in human nutrition, A review. *Acta Univ Sapientiae*, 3, 81-117.
- Narsih, Y. (2012). The study of germination and soaking time to improve nutritional quality of sorghum seed, *Int Food Res J*, 19(4): 1429-1432.
- Nonogaki, H., Bassel, G.W., Bewley, J.D. (2010). Germination-still a mystery. *Plant Sci*, 179(6): 574-581.
- Öztürk, İ. (2008). Çimlendirilmiş buğday tanesinin kimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve doğal katkı maddesi olarak değerlendirilme imkanlarının araştırılması. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 121 s.
- Pasko, P., Barton, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Folta, M., Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem*, 115(3): 994-998.
- Randhir, R., Lin, Y.T., Shetty, K. (2004). Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochem*, 39(5): 637-646.
- Siro', I., Ka'polna, E., Ka'polna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food: product development, marketing and consumer acceptance- A review. *Appetite*, 51(3): 456-467.
- Slinkard, K., Singelton, V.L. (1977). Total phenolic analysis, automation and comparison with manual methods. *Am Enol Vitic*, 28(1): 49-55.
- Sneath, R. McIntosh, F. (2003). *Review of Hydroponic Fodder Production for Beef Cattle*. Queensland Government, Department of Primary Industries, Dalby, Queensland.
- Tangüler, H., Eleroğlu, H., Özer, E.A., Işıklı, N.D. (2015). Unutulmak üzere olan geleneksel tatlımız: Uğut. *TURJAF*, 3(7): 604-609.
- Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T., Xue, S., Deng, Q. (2010). Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chem*, 119(3): 1195-1200.
- Tok, H. (2017). Tahıl ve baklagil çimlerinin ekme ve bisküvi üretiminde kullanım olanakları. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 141 s.

Uppal, V., Bains, K. (2012). Effect of germination periods and hydrothermal treatments on in vitro protein and starch digestibility of germinated legumes. *J Food Sci Technol*, 49(2): 184-191.

Xu, J.G., Tian, C.R., Hu, Q.P., Luo, J.Y., Wang, X.D., Tian, X.D. (2009). Dynamic changes in phenolic compounds and antioxidant activity in oats (*Avena nuda* L.) during steeping and germination. *J Agric Food Chem*, 57(21): 10392-10398.

Xu, M.J., Dong, J.F., Zhu, M.Y. (2005). Effect of germination conditions on ascorbic acid level and yield of soybean sprout. *J Sci Food Agric*, 85(6): 943-947.

Yang, F., Basu, T.K., Oraikul, B. (2001). Studies on germination condition and antioxidant contents of wheat grain. *Int J Food Sci Nutr*, 52(4): 319-330.

Yaqoob, S., Baba, W.N., Masoodi, F.A., Shafi, M., Bazaz, R. (2018). Effect of sprouting on cake quality from wheat-barley flour blends. *J Food Meas Charact*, 12(2): 1253-1265.

Yetim, H., Öztürk, İ., Törnük, F., Sağdıç, O., Hayta, M. (2010). Yenilebilir bitki ve tohum filizlerinin fonksiyonel özellikleri. *Gıda*, 35(3): 205-210.

## PROBİYOTİK FIRIN ÜRÜNLERİ ÜRETİM YÖNTEMLERİ

**Fundagül Erem\***

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Zonguldak, Türkiye

Geliş / Received: 21.01.2019; Kabul / Accepted: 08.04.2019; Online baskı / Published online: 28.04.2019\*

Erem, F. (2019). Probiyotik fırın ürünleri üretim yöntemleri. *GIDA* (2019) 44 (3): 430-441 doi: 10.15237/gida.GD19025

Erem, F. (2019). *Production methods for probiotic bakery products*. *GIDA* (2019) 44 (3): 430-441 doi: 10.15237/gida.GD19025

### ÖZ

Fonksiyonel ürünler dünya çapında tüketicilerin ilgisini çekmektedir. En bilinen fonksiyonel ürünlerden olan probiyotik gıdalar temelde süt bazlı ürünler olsa da süt bazlı olmayan probiyotik gıdalar da yavaş yavaş fonksiyonel ürünler pazarında değerli bir katkı olarak yer almaktadır. Probiyotik ürün üretirken en önemli konu, ürünün üretiminden tüketimine kadar geçen süre içinde canlı probiyotik sayısının üründe en az  $10^6$  kob/g veya kob/ml düzeyinde kalmasını sağlamaktır. Birçok kişi tarafından sevilerek tüketilen fırın ürünlerinin üretiminde uygulanan pişirme işlemi, probiyotik mikroorganizmaların hasar görmesine ve canlı probiyotik sayısının üründen beklenen yararlı etkileri sağlayamayacak düzeylere kadar düşmesine neden olmaktadır. Canlı probiyotik sayısını en üst seviyede tutmak için uygulandığı bilinen yöntemler probiyotiklerin mikroenkapsülasyonu, probiyotiklerin yenilebilir film ve kaplamalara ilave edilmesi ve sporlu probiyotik mikroorganizmaların kullanılmasıdır. Bu derlemede probiyotik fırın ürünü üretmek üzere uygulanan yöntemler, bilimsel literatürde konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalarla birlikte sunulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Fırın ürünleri, mikroenkapsülasyon, probiyotik, sporlu bakteri, yenilebilir film ve kaplama

## PRODUCTION METHODS FOR PROBIOTIC BAKERY PRODUCTS

### ABSTRACT

Functional foods attract consumer interest worldwide. Although probiotic foods -one of the most known functional foods- are predominantly based on milk matrices, non-dairy probiotic foods are slowly emerging as a valuable addition to the functional foods market. The most important issue when producing probiotic foods is to ensure the number of viable probiotics is at least  $10^6$  cfu/g or cfu/ml, from production to consumption. The baking process applied in the production of bakery products, which are consumed enjoyably by many people, can cause significant losses of probiotic viability, such that the product does not deliver the expected health benefits. Several techniques that have been applied to maintain the number of live probiotics at maximum level are microencapsulation, edible films and coatings and using sporulating probiotic microorganisms. This review describes the methods used for producing probiotic bakery products, with reference to relevant studies in the scientific literature.

**Keywords:** Bakery products, microencapsulation, probiotic, sporulating bacteria, edible film and coating

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ fundagulerem@beun.edu.tr,

☎ (+90) 372 643 6601/ 5080

☎ (+90) 372 643 6599

## GİRİŞ

Beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin bilimsel olarak kanıtlanması ve toplumun bu konuda bilinçlenmesiyle birlikte tüketiciler artık gıdaları sadece açlığı yatıştırmak ve gerekli besin öğelerini almak için değil, beslenme ile ilişkili hastalıkları önlemek, fiziksel ve zihinsel gelişimlerini sağlamak, yaşam kalitelerini yükseltmek için de tüketmektedirler (Siró vd., 2008; Coman vd., 2012; Bansal vd., 2016; Longoria-García vd., 2018; Zhang vd., 2018c). Bu açıdan bakıldığında fonksiyonel gıdalar büyük önem arz etmektedir. Genel bir tanımla olmamakla birlikte fonksiyonel gıda “temel beslenmenin ötesinde sağlık yararı sağlayabilecek gıda” olarak tanımlanırken, daha geniş anlamıyla “görünüş olarak normal bir beslenmenin parçası olarak tüketilmesi amaçlanan geleneksel gıdalara benzeyen ancak temel besin gereksinimlerini karşılamanın ötesinde fizyolojik yarar sağlamak ve kronik hastalıkların oluşma riskini azaltmak üzere modifiye edilmiş gıda” olarak tanımlanabilmektedir (Siró vd., 2008; Cencic ve Chingwaru, 2010).

Fonksiyonel gıdalar, Siró vd. (2008) tarafından “takviye edilmiş ürünler”, “zenginleştirilmiş ürünler”, “değiştirilmiş ürünler” ve “geliştirilmiş ürünler” olmak üzere dört grup altında sınıflandırılmıştır. Takviye edilmiş ürünler, ilave besin ögesi eklenmiş gıdaları; zenginleştirilmiş ürünler, normal koşullarda içermediği bir besin ögesi veya bileşen ilave edilmiş gıdaları; değiştirilmiş ürünler, sağlığa zararlı bir bileşenin uzaklaştırıldığı, azaltıldığı veya yararlı bir bileşen ile yer değiştirildiği gıdaları; geliştirilmiş ürünler ise bileşenlerden birinin özel yetiştirme teknikleri, yeni yem bileşimi, genetik manipülasyon veya başka yöntemler kullanılarak doğal olarak geliştirilmesi ile elde edilen gıdaları temsil etmektedir. En yaygın olarak bilinen fonksiyonel gıdalardan biri olan probiyotik gıdalar, zenginleştirilmiş ürünler sınıfında yer almakta olup sağlığa yararlı, canlı mikroorganizmalar olan probiyotiklerin ürün bileşimine eklenmesiyle elde edilmektedir. Probiyotik ürünler çoğunlukla süt ürünleri sektöründe bulunsa da meyve sebze bazlı ürünlerden, tahıl ve baklagil bazlı ürünlere, et bazlı ürünlere ve hatta çikolataya kadar probiyotik birçok gıda üretilebilmektedir (Siró vd., 2008;

Côté vd., 2013; Song vd., 2012; Kumar vd., 2015; Soyuçok ve Başyigit Kılıç, 2017; Panghal vd., 2018).

Fırın ürünleri (ekmek, kek, bisküvi, kurabiye, kraker vb.) tüm dünyada birçok insanın severek ve yaygın olarak tükettiği bir ürün grubudur. Probiyotik katkısı ile bu tip ürünlerin fonksiyonel ve teknolojik özelliklerinde iyileştirmeler sağlanabilmektedir. Ancak bu ürünlerin üretimi sırasında yüksek sıcaklıkların uygulanması, ilave edilen probiyotiklerin canlılıklarını koruyabilmesi açısından büyük sıkıntı yaratmaktadır (Longoria-García vd., 2018). Bu çalışmada probiyotik mikroorganizma içeren fırın ürünlerinin üretiminde probiyotik canlılığını korumak üzere kullanılan yöntemler derlenmiştir.

## PROBİYOTİK KAVRAMI

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) ortak uzman danışma grubunun hazırladığı rapora göre probiyotikler “yeterli miktarda alındığı zaman konakçı üzerinde sağlığa yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalardır” şeklinde tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002; FAO/WHO, 2006). Probiyotiklerin kanser, yüksek kolesterol, diyabet ve obezite riskini azaltma, bağışıklık sistemini kuvvetlendirme, sindirim sistemi enfeksiyonlarını ve alerji belirtilerini azaltma, laktoz toleransını artırma gibi çeşitli açılardan sağlığa faydaları bulunmaktadır. Literatürde probiyotikler ve buna bağlı olarak da probiyotik gıdaların sağlığa etkilerini konu alan birçok derleme çalışma bulunmaktadır (Kechagia vd., 2013; Pandey vd., 2015; Gülbandır vd., 2017; Kamarlı Altun ve Akal Yıldız, 2017; Markowiak ve Ślizewska, 2017; Kerry vd., 2018; Mohajeri vd., 2018; Tanner vd., 2018).

Probiyotik bir üründen beklenen faydaların sağlanabilmesi için ürünün tüketim anında, gerekli minimum sayıda canlı probiyotik mikroorganizmayı içermesi gerekmektedir. Bir gıdanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için en az 10<sup>6</sup> kob/g canlı probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiği genel olarak gıda endüstrisinde benimsendiği gibi (Tripathi ve Giri, 2014; Călinoiu vd., 2016) Türk Gıda Kodeksi Beslenme



ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği Ek 2'de de bildirilmiştir (Anonim, 2017). Ancak probiyotiklerden beklenen sağlık faydalarının sağlanabilmesi için kolona  $10^6$ - $10^7$  kob/g canlı hücre ulaşması gerektiği, bunun için de gıdada başlangıçta bulunan probiyotik mikroorganizma sayısının  $10^8$ - $10^9$  kob/g olması gerektiği önerilmektedir (Shori, 2017). Ayrıca bağırsaklara  $10^9$  seviyesinde canlı hücre ulaşmasını sağlamak için günlük yaklaşık 100 g veya 100 ml kadar probiyotik ürün tüketilmesi gerektiği de belirtilmektedir (Coman vd., 2012; Tripathi ve Giri, 2014; Călinoiu vd., 2016). Probiyotikler ile ilgili olarak Türkiye ve Dünya'daki yasal düzenlemeleri konu alan Türkçe bir derleme çalışma da bulunmaktadır (Ergin vd., 2015).

Gıdalarda kullanılan probiyotik mikroorganizmalar çoğunlukla *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* cinslerine ait türler ile *Bacillus* cinsine ait gram pozitif bakteri suşları ve *Saccharomyces* cinsine ait bazı mayalardır. Probiyotik ürünler ya tek bir suş ya da iki veya daha fazla suşun karışımını içerebilmektedir (Pandey vd., 2015; Markowiak ve Ślizewska, 2017; Sarao ve Arora, 2017).

## PROBİYOTİK FIRIN ÜRÜNLERİ ÜRETİMİ

Fırında pişirme (baking) oldukça eski bir proses olup bu terim, temel hammadde un olan ve ısının bir fırın veya başka bir ısıtma aracının alt, üst ve/veya yan taraflarından radyasyon (ışın) aracılığıyla doğrudan uygulandığı tüm gıda maddeleri için kullanılmaktadır. Fırında pişirme başta ekmek olmak üzere kek, pasta, bisküvi, kraker, kurabiye ve turta gibi unun başlıca ve elzem hammadde olduğu ürünlerin üretimi ile bu ürünlere son halinin verilmesini sağlayan krema, şekerli karışım, dolgu malzemeleri vb. ürünleri kapsamaktadır (Lai ve Lin, 2006).

Fırın ürünleri arasında ekmek, birçok ülkede temel besin maddesidir ve standart diyetin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Diğer fırın ürünleri ise temel besin maddesi olmamalarına karşın birçok kişi tarafından sevilerek tüketilmektedir. Özellikle son zamanlarda tüketicilerin sağlığa yararlı gıdalara karşı olan eğilimlerinin artması ile birlikte,

tüketim oranları göreceli olarak yüksek olan fırın ürünlerinin probiyotik ilavesi ile zenginleştirilmesi üzerine de çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.

Genel olarak probiyotik ürünlerin gerek işleme ve gerekse depolama sırasında içerdikleri canlı probiyotik mikroorganizma sayısının azalmasına neden olan birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler üretimde kullanılan çeşitli parametreler (pH, titre edilebilir asit, moleküler oksijen, su aktivitesi, tuz ve şeker varlığı, hidrojen peroksit gibi kimyasallar, bakteriyosinler, yapay aroma ve renklendiriciler), işleme parametreleri (ısı uygulama, inkübasyon sıcaklığı, ürünün soğutma hızı, ambalaj materyali, muhafaza yöntemi, üretim ölçüğü) ve mikrobiyolojik parametrelerdir (probiyotik suş türü, miktarı ve inokülasyon oranı) (Tripathi ve Giri, 2014; Călinoiu vd., 2016). Gıdalar üretim sırasında çeşitli olumsuz şartlara maruz kaldığından probiyotiklerin canlılığını koruyabilmesi, üreticinin yaşadığı en büyük zorluklardan biri olmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların sıcaklığa duyarlılıklarının yüksek olması sebebiyle en çok sorunla karşılaşılan işlemlerden biri de ısıtma prosesidir. Isıtma işlemi birçok gıdanın üretiminde uygulanmakta, ekmek gibi bazı ürünlerde ise üretim prosesinin ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilmektedir (Mansouripour vd., 2013). Bu tip ürünler probiyotik ilavesi ile üretilirken pişirme işlemi sırasında, probiyotik mikroorganizmalar termal stres nedeniyle büyük hasara uğrayabilmekte, canlı mikroorganizma sayısı beklenen yararlı etkileri sağlayamayacak düzeylere kadar inebilmektedir (Longoria-García vd., 2018).

Ekmek hamuruna liyofilize formda ilave edilen probiyotik *Bifidobacterium lactis* Bb12'nin canlılığı üzerine farklı pişirme süre ve sıcaklıklarının etkilerinin belirlendiği bir çalışmada, 165, 185 ve 205 °C'de pişirme esnasında 0, 3, 6, 9 ve 12. dakika sonunda ekmeğin hem merkez hem de orta noktalarında *B. lactis* Bb12 canlı sayısında önemli düzeyde azalma olduğu saptanmıştır. *B. lactis* Bb12'nin başlangıç sayısı  $2.1 \times 10^6$  kob/g iken, 3. dak sonunda en fazla azalma 205 °C'de olmak üzere, çok düşük düzeyde bir azalışla canlı sayısı  $10^6$  kob/g seviyelerine düşmüştür. Ardından, 6. dak sonunda her üç sıcaklık arasında belirgin bir

fark olmamakla birlikte, önemli düzeyde bir azalma ile canlı sayısı yaklaşık  $10^3$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Pişirme işleminin 9. ve 12. dakikaları arasında canlı *B. lactis* Bb12 sayısı açısından az bir farklılık olduğu ve sayının  $10^2$  kob/g seviyelerinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm pişirme şartlarında, ekmeğin orta kısımlarındaki canlı *B. lactis* Bb12 sayısının ekmeğin merkezine göre daha az olduğu saptanmıştır (Zhang vd., 2014).

Zhang vd. (2015), probiyotik *Lactobacillus plantarum* P8 ilavesi ile ürettikleri ekmelerde, pişirme işlemi sonunda (8 dak), canlı probiyotik bakteri sayısının  $10^9$  kob/g'dan  $10^5$  kob/g seviyesine düştüğünü saptamışlardır. Çalışmada, pişirme işlemi üç farklı sıcaklıkta (175, 200, 235 °C) yapılmış, kabuk ve ekmeğin içindeki canlı bakteri sayısı ayrı ayrı tespit edilmiştir. Pişirme işlemi 175 °C'de yapıldığında, kabuk sıcaklığı iç kısma göre daha fazla olmasına rağmen, kabuktaki nem düzeyinin daha düşük olması sebebiyle bakterinin ısıya toleransının daha yüksek olduğu ve ekmeğin içine göre kabukta daha fazla canlı bakteri bulunduğu belirlenmiştir. Pişirme 235 °C'de gerçekleştirildiğinde tam tersi bir durum söz konusu olurken, 200 °C'de kabuk ve ekmeğin içi arasında canlı *L. plantarum* P8 sayısı açısından fark olmadığı saptanmıştır. Ayrıca ekmelerin depolanması süresince mevcut bakterilerin gelişmeye devam ettiği ve canlı probiyotik sayısı açısından 2-3 log artış olduğu belirlenmiştir. Daha sonra bu çalışma, aynı araştırmacılar tarafından biraz daha zenginleştirilerek benzer koşullarda farklı hamur ağırlıklarının *L. plantarum* P8 sayısı üzerine olan etkisi de incelenmiş, pişirme sıcaklığı artırılarak ya da ekmeğin boyutu küçültülerek pişirme süresi kısaltıldığında, canlı *L. plantarum* P8 sayısının daha fazla olabildiği belirlenmiştir (Zhang vd., 2018b).

Probiyotik ekmeğin ve diğer fırın ürünlerine yönelik alınmış bazı patentlerde ise probiyotikleri ısı stresten korumak için ürünler pişirilip soğutulduktan sonra probiyotik mikroorganizma süspansiyonları (Rasmussen ve Tolstoy, 1992; Grahn Håkansson ve Ekbeck, 2006) veya sıvı ekşi maya içindeki probiyotikler (Lönner, 2005) ürünlere enjekte edilmiştir.

Probiyotik fırın ürünleri üretiminde, sıcaklığın probiyotik mikroorganizma üzerindeki tahribatını engellemek ve canlı probiyotik mikroorganizma sayısını olabildiğince koruyabilmek için uygulanan yöntemlerden birisi de probiyotikleri pişirme işleminden sonra ürüne ilave edilen çikolata, krema vb. dolgu materyallerinin formülasyonuna eklemektir. Rampelli vd. (2013) bisküvi yüzeyini kaplamak için kullanılan çikolata kreması formülasyonuna probiyotik mikroorganizma olarak *L. helveticus* Bar13 ve *B. longum* Bar33'ü  $10^9$  kob/g düzeyinde ilave etmiş ve bu bisküvileri 6 aylık süre boyunca yaşlı bireylerin diyetinde kullanmışlardır. Uygulama süresi boyunca haftalık olarak alınan örneklerde yapılan analizlerle probiyotik sayısında bir azalma olmadığı belirlenmiştir.

### Mikroenkapsülasyon

Probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarını korumak amacıyla en yaygın kullanılan ve en etkili yöntem mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonudur. Enkapsülasyon, aktif bileşen üzerinde bir bariyer oluşturarak kimyasal reaksiyonları engelleyen, çevresel faktörlerin (sıcaklık, pH, enzim, oksijen vs.) etkisine karşı aktif bileşeni koruyan, belirli koşullar altında aktif bileşenin kontrollü salınımına izin veren bir proses olarak tanımlanabilmektedir. Gıdalarda biyoaktif bileşen ve probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonu için çeşitli teknikler kullanılabilir, en uygun yöntemin seçimi, kapsüllenecek materyalin ve elde edilecek olan son ürünün özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Martín vd., 2015; Dias vd., 2017). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda, probiyotik hücreler enkapsüle edici bir matriks ya da membrana ilave edilmekte, bu sayede hücreler gerek gıdanın işlenmesi ve depolanması gerekse tüketim sonrası gastrointestinal sistemde, zarar verici faktörlerin etkisinden korunmakta ve hücrelerin kontrollü salınımları sağlanmaktadır (Corona-Hernandez vd., 2013; Mansouripour vd., 2013; De Prisco ve Mauriello, 2016; Dianawati vd., 2016; Shori, 2017). Literatürde probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonuna yönelik farklı matriks ve tekniklerin uygulandığı birçok çalışma bulunmaktadır (Malmo vd., 2013; Yonekura vd., 2014; Bampi vd., 2016; Etchepare vd., 2016a;

Etchepare vd., 2016b; Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017; Holkem vd., 2016; Holkem vd., 2017; Nunes vd., 2018).

Fırın ürünleri üretimindeki zorlu koşullar ve bisküvi gibi bazı ürünlerde depolama süresinin uzunluğu da göz önünde bulundurulduğunda probiyotik mikroorganizmaların korunması açısından mikroenkapsülasyon, uygun bir yöntem olarak değerlendirilebilmektedir (De Prisco ve Mauriello, 2016).

Zanjani vd. (2012), kalsiyum aljinat ve kalsiyum aljinat-dirençli nişasta karışımı ile mikroenkapsüle ettikleri probiyotik *L. casei* ATCC 39392 suşunu kremaya inoküle ederek ( $5 \times 10^{11}$  kob/g) krema dolgulu kek üretmiş, 4 ve 25 °C'de 4 hafta depolama süresince bakterinin hayatta kalma düzeyini takip etmişlerdir. Araştırmacılar, mikroenkapsülasyonun probiyotik suşun canlı kalma oranını artırdığını, kapsüllenmemiş hücre kullanıldığında canlı sayısında yaklaşık 8-log azalma olduğunu, kalsiyum aljinat ve kalsiyum aljinat-dirençli nişasta karışımının taşıyıcı olarak kullanıldığı mikrokapsüllerde ise bu oranın sırasıyla 4.55 ve 3.33 log olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca mikroenkapsülasyonun depolama süresince keklerin tekstür, renk, aroma, tat ve genel duyuşal özellikleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Seyedain-Ardabili vd. (2016) de aljinat, dirençli nişasta ve kitosan ile mikroenkapsüle ettikleri probiyotik *L. acidophilus* LA-5 ve *L. casei* 431 suşlarını, prebiyotik olan inülin ile birlikte hamburger ekmeği ve beyaz tava ekmeği hamuruna ilave ederek sinbiyotik ekmekler üretmiş, mikroenkapsülasyonun suşun canlılığını ve termal direncini artırdığını, ekmeklerin aroma ve tekstürünü etkilemediğini belirlemiştir.

Dondurarak kurutulmuş *L. plantarum*'un dört farklı materyal (rekonstitüe yağsız süt, arabik gum, maltodekstrin, inülin) ile enkapsüle edilip ekmek üretiminde kullanıldığı, Zhang vd. (2018a) tarafından yapılan çalışmada, ekmeğin pişirilmesi sırasında bakterinin hayatta kalma durumunun, probiyotik ilave şeklinden ve taşıyıcı materyalin fiziksel özelliklerinden etkilendiği rapor edilmiştir. Kullanılan materyal, bakteri hücrelerinin nemli ısıya

maruz kalma derecesini etkilediğinden canlılık düzeyi üzerinde etkili olmuştur. Pişirme işleminin (100 °C'de 15 dak) ardından maksimum canlı kalma oranının ( $>10^8$  kob/g ekmek), rekonstitüe süt ile enkapsüle edilmiş bakterilerin fermentasyon öncesinde hamur toplarının yüzeyine dağıtılması yoluyla üretilen ekmeklerde olduğu belirlenmiştir.

Probiyotik bisküvi üretiminin amaçlandığı bir çalışmada 1:1:1 oranında karıştırılan *L. acidophilus* (NCDC11), *L. rhamnosus* (NCDC 17) ve *B. bifidum* (NCDC 236) suşları mikroenkapsülasyonun ardından dondurarak kurutulmuş ve krema bileşenlerine ilave edilmiştir. Krema, düşük sıcaklıkta karıştırılarak hazırlanıp oda sıcaklığına soğutulduktan sonra bisküvilerin arasına tabaka halinde sürülmüştür. Bisküvilere  $10^{10}$  kob/g olarak ilave edilen suşların canlılığının 8 hafta depolama sonunda  $10^8$  kob/g seviyesinde olduğu ve ürünlerin duyuşal değerlendirme puanlarının da kabul edilebilir sınırlarda olduğu belirlenmiştir (Muzzafar ve Sharma, 2018).

Arslan-Tontul vd. (2018) tek ve çift katlı olarak mikroenkapsüle ettikleri (püskürterek kurutma ve dondurma yoluyla) probiyotik *Saccharomyces boulardii*, *L. acidophilus* LA-5, *B. bifidum* BB-12 suşlarını sade, çikolata kreması dolgulu, marmelat dolgulu ve çikolata kaplamalı kek üretiminde kullanmışlardır. Probiyotik mikrokapsüller, sade kekin merkezine eklendikten sonra kek pişirilmiş (200 °C'de 20 dak), dolgulu ve kaplamalı keklerde ise pişirme işleminden sonra ürünlere ilave edilmiştir. Araştırma sonucunda sade keklerde püskürterek dondurma ile çift katlı mikroenkapsülasyon uygulandığında *S. boulardii* ve *L. acidophilus* LA-5'in hayatta kalma oranlarının yaklaşık %67-70 olduğu ancak canlı *B. bifidum* BB-12'nin olmadığı; dolgulu keklerde ise en iyi koruyucu etkinin püskürterek dondurma ile tek katlı mikroenkapsülasyon uygulandığı zaman sağlandığı tespit edilmiştir. Ürünlerde 90 gün depolama sonunda bayatlamaya bağlı tekstürel değişimler olsa da bu durumun keklerin duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin sınırlı düzeyde olduğu bildirilmiştir.

### Yenilebilir Film ve Kaplama Uygulama

Yenilebilir filmler ve kaplamalar, yarı geçirgen bir bariyer oluşturarak gıdaların kalitesini ve güvenliğini artırdığından bunların gıdalara uygulanması yeni muhafaza yöntemi (aktif gıda ambalajlama) olarak değerlendirilmektedir. Yenilebilir film ve kaplamalar gıdaların besinsel ve duysal kalitelerini koruyarak raf ömürlerini uzatabilmenin yanı sıra ilave edilen spesifik bileşenleri de koruyarak ürünlerin fonksiyonel özelliklerini de geliştirebilmektedir. Film ve kaplama terimleri eş anlamlı olarak kullanılsa da filmler genellikle kılıf ya da sargı olarak kullanılabilirken, kaplamalar doğrudan korunması amaçlanan ürünün yüzeyinde oluşmaktadır. Film ve kaplamaların üretiminde kullanılan materyaller temelde polisakarit, protein, lipit ve bunların kombinasyonlarıdır. Ayrıca karışıma emülsifiye edici ve plastikleştirici madde ilavesi son ürün özelliklerinin iyileşmesini sağlamaktadır (Guimarães vd., 2018).

Koruyucu bir bariyer görevi görebilmeleri nedeniyle son zamanlarda araştırmacılar film ve kaplamalara probiyotik ilavesi üzerine de çalışmalar yapmaktadır. Kullanılan film-kaplama materyali, mikroorganizma türü ve işleme-depolama koşullarına da bağlı olmak üzere probiyotik bakterilerin yenilebilir film ve kaplamalara ilavesiyle, bunların canlı kalma oranlarında artış gözlenebildiği bildirilmektedir (López de Lacey vd., 2012; Kanmani ve Lim, 2013; Romano vd., 2014; Soukoulis vd., 2014a; Espitia vd., 2016; Pereira vd., 2016; Soukoulis vd., 2016; Ebrahimi vd., 2018).

Fonksiyonel fırın ürünlerinin geliştirilmesinde probiyotik yenilebilir film ve kaplamalar yeni bir strateji olarak değerlendirilebilmektedir. Altamirano-Fortoul vd. (2012), fonksiyonel ekmek üretmek için mikroenkapsüle *L. acidophilus* ve nişasta bazlı kaplamaların kombine etkisinden yararlanmışlardır. Çalışmada, farklı probiyotik kaplamalar, kısmi pişmiş ekmeğin üst yüzeyine püskürtme yoluyla uygulanmış ve ardından kısa süreli bir pişirme işlemi yapılmıştır. Tüm uygulamalarda pişirme sonrasında ve depolama sürecinde nişasta çözeltilerinin mikrokapsülü

koruyarak *L. acidophilus*'un canlı kalmasını sağlayabildiği ancak kaplama uygulama şekline göre tam pişirme sonrasında canlılık düzeyinde farklılık olduğu belirlenmiştir. Depolama sırasında canlılık oranındaki azalmanın kaplama uygulama şekline bağımsız olduğu, mikroorganizmanın canlılığını belirleyen tek faktörün mikrokapsülün bileşimi olduğu bildirilmiştir. *L. acidophilus*'un başlangıç konsantrasyonu  $4.83 \times 10^8$  kob/g iken uygulanan kaplama yöntemine göre taze ve 24 saat depolanmış ekmeklerdeki *L. acidophilus* sayısının sırasıyla  $2.4 \times 10^7$ - $3.05 \times 10^7$  kob/ekmek ve  $1.15 \times 10^6$ - $1.7 \times 10^6$  kob/ekmek aralığında olduğu saptanmıştır. Mikroorganizma sayısında azalma olsa da fonksiyonel ekmek elde etmek için ekmek kabuğuna probiyotik kaplama uygulamanın mümkün olabileceği belirtilmiştir.

Probiyotik tava ekmeği üretiminin hedeflendiği bir çalışmada, pişirme işlemi sonrasında ekmeklere probiyotik *L. rhamnosus* GG içeren sodyum aljinat ve sodyum aljinat/peyniraltı suyu konsantresi karışımından oluşan filmler uygulanmıştır. Film çözeltilerinin uygulanmasının ardından ekmeklere hava sirkülasyonlu kurutma odasında  $60^\circ\text{C}$ 'de 10 dakika ve pişirme fırınında  $180^\circ\text{C}$ 'de 2 dakika olmak üzere iki farklı kurutma işlemi yapılmış, ardından ekmekler soğutulup paketlenerek  $25^\circ\text{C}$ 'de 7 gün depolanmış ve depolama süresince *L. rhamnosus* GG'nin canlılığı test edilmiştir. Araştırma sonuçları, filmlerin kurutulması aşamasında bakterinin canlılığını etkileyen faktörün film çözeltilisinin kompozisyonu olduğunu, kurutma metodunun herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiş, peynir altı suyu/sodyum aljinat karışımının muhtemelen içerdiği proteinler ile bozucu kimyasal ve enzimatik reaksiyonları inhibe ederek bakterinin canlılığını daha iyi koruduğu bildirilmiştir. Araştırmada yapay gastrointestinal sistem ile sindirim denemeleri de yapılmış ve 30-40 g'lık ekmek diliminin sindiriminin ardından canlı bakteri sayısının yaklaşık  $6.55$ - $6.91$  log kob/porsiyon olduğu hesaplanmıştır. Pişirme sonrasında probiyotik içeren yenilebilir film uygulamanın, probiyotik fırın ürünleri üretimi açısından umut vaat eden bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Soukoulis vd., 2014b).

### Probiyotik Sporlu Bakteri Kullanımı

Probiyotik etki gösterdiği bilinen sporlu bakteriler *Bacillus*, *Sporolactobacillus* ve *Brevibacillus* cinslerine ait türlerdir (Sanders vd., 2003). Bunlar arasından da *Bacillus* türleri üzerinde daha fazla çalışılmış olan ve öncelikli olarak kullanılanlardır. Bakteri sporlarının ısı, kurutma, dondurma gibi işlemler ve toksik kimyasalların ölümcül etkilerine karşı bakteriyi koruyucu olması, gastrointestinal sistemde zarar görmeden hayatta kalmasını sağlaması, bu bakterilerin probiyotik mikroorganizma olarak kullanılabilmelerine olanak tanımaktadır (Cutting, 2011). *Bacillus* türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmelerini konu alan Türkçe derleme çalışmalar da bulunmaktadır (Erem vd., 2013; Konuray vd., 2017).

*Bacillus* türlerinin sporları aracılığı ile olumsuz koşullarda canlılığını sürdürebilmesi, bunların fırın ürünlerinin üretimi sırasında pişirme işlemi başta olmak üzere diğer uygulama ve koşullara karşı dayanıklılık göstererek probiyotik özelliklerini sergileyebilmesi yönünden avantaj sağlamakta olup bu özellik sayesinde spor oluşturan probiyotiklerin fırın ürünleri üretiminin herhangi bir aşamasında ilave edilmesi mümkün olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada probiyotik *Bacillus subtilis* R0179 ekmek ve kurabiye hamuruna  $10^{10}$  kob/50 g porsiyon olacak şekilde inoküle edilmiş ve depolama süresince bakterinin ürünlerdeki canlılık oranı takip edilmiştir. Sonuç olarak probiyotik sayısının ekmeklerde 21 gün süresince  $10^8$  kob/50 g porsiyon, kurabiyelerde ise 12 ay boyunca  $10^9$  kob/porsiyon düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Côté vd., 2013).

Jao vd. (2011), GanedenBC<sup>30</sup> olarak bilinen *Bacillus coagulans* suşunu kurabiye, kek ve ekmekten oluşan sekiz farklı fırın ürününe ilave etmiş, 4 ve 25 °C'de depolama sırasında suşun canlı kalma düzeyini tespit etmişlerdir. Ticari bir ürün olan GanedenBC<sup>30</sup>'daki *B. coagulans* sayısı  $7.3 \times 10^8$  kob/g'dır ve hamurlara ilave edilmesi, un veya yumurta sarısına karıştırma şeklinde iki farklı yolla yapılmıştır. Pişmiş ürünlerdeki probiyotik sayısının hamurdakinden daha düşük olduğu ve depolama süresince de azaldığı saptanmış, genel olarak GanedenBC<sup>30</sup>'un una ilave edildiği

ürünlerdeki probiyotik canlı sayısının, yumurta sarısına ilave edilen ürünlerdekine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumun sebebi, yumurta sarısının protein gibi besin öğelerince daha zengin olması nedeniyle sporların vejetatif hale daha kolay geçmesi ve vejetatif hücrelerin pişirme sırasında ölmesi şeklinde açıklanmıştır. Diğer bir sebep olarak ise hamurların fermentasyonu sırasında yine sporların vejetatif hale geçerek pişirme işlemi sırasında canlılıklarını kaybetmesi gösterilmiştir. Vejetatif hale geçmeyi azaltmak için fermentasyonun düşük sıcaklıkta ve kısa süreli yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Permpoonpattana vd. (2012), iki farklı *Bacillus subtilis* suşunun gastrointestinal sistemde olumlu etkileri (mide sıvısına dayanma, hızlı sporlaşma, biyofilm oluşturma gibi) olduğunu belirledikten sonra, suşlara ait sporları tam buğday unu bisküvisi üretiminde kullanmış, 235 °C'de 8 dakika pişirme sonunda canlılıkta sadece 1-log azalma olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak bu suşlara ait sporların çeşitli gıda ürünlerinde probiyotik katkı olarak kullanılmasının mümkün olabileceği belirtilmiştir.

Majeed vd. (2016), *Bacillus coagulans* MTCC 5856 suşunun farklı fonksiyonel gıdalardaki stabilitesini belirlemeyi hedefledikleri çalışmada, pişirme ve 12 ay boyunca dondurarak depolama sırasında suşun canlı kalma oranının gofretlerde %86, muzlu muffinlerde ise %92 olduğunu tespit etmiş ve *B. coagulans* MTCC 5856'nın çeşitli gıdalarda kullanılacak mükemmel bir probiyotik katkı olabileceğini bildirmişlerdir.

### SONUÇ

Fonksiyonel gıdalara olan talebin artması hemen hemen her tür gıdanın fonksiyonel olarak üretilmesi konusunda çalışmalar yapılmasını sağlamış, bu amaçla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Fonksiyonel ürünler grubunda yer alan probiyotik gıdalar, sağlığa yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmaların gıdalara ilave edilmesi yoluyla üretilmektedir. Fırın ürünlerinin de probiyotik olarak üretilmesi yönünde çalışmalar yapılmış ancak standart yöntemle yani probiyotiklerin sadece ürün bileşimine doğrudan dahil edilmesiyle yapılan çalışmalarda, pişirme

işleminin canlı probiyotik sayısını büyük ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Üretim, depolama ve tüketim sürecinde probiyotiklerin hayatta kalma oranını artırmak için çeşitli uygulamalar geliştirilmiş olup bu çalışmaların devam etmesi gerektiği açıktır. Uygulanan metotların geliştirilmesi ya da yenilerinin bulunmasının yanı sıra probiyotik özelliklerin suşa özgü olması nedeniyle yeni probiyotik suşların bulunması yönünde çalışmaların da yapılması önem arz etmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Altamirano-Fortoul, R., Moreno-Terrazas, R., Quezada-Gallo, A., Rosell, C.M. (2012). Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocoll* 29: 166-174, doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.02.015.
- Anonim (2017). Türk Gıda Kodeksi. Beslenme ve sağlık beyanları yönetmeliği. Ek 2: Hastalık riskinin azaltılmasına, çocukların gelişimi ve sağlığına ilişkin beyanlar dışındaki sağlık beyanları listesi. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 26 Ocak 2017 tarih ve 29960 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Arslan-Tontul, S., Erbas, M. (2017). Single and double layered microencapsulation of probiotics by spray drying and spray chilling. *LWT-Food Sci Technol* 81: 160-169, doi: 10.1016/j.lwt.2017.03.060.
- Arslan-Tontul, S., Erbas, M., Gorgulu, A. (2018). The Use of probiotic-loaded single- and double-layered microcapsules in cake production. *Probiotics & Antimicro Prot* doi: 10.1007/s12602-018-9467-y.
- Bampi, G.B., Backes, G.T., Cansian, R.L., Matos Jr, F.E., Ansolin, I.M.A., Poletto, B.C., Corezzolla, L.R., Favaro-Trindade, C.S. (2016). Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food Bioprocess Tech* 9: 1422-1428, doi: 10.1007/s11947-016-1724-z.
- Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S.K., Gupta, R.K. (2016). Non-dairy based probiotics: a healthy treat for intestine. *Crit Rev Food Sci Nutr* 56: 1856-1867, doi: 10.1080/10408398.2013.790780.
- Călinoiu, L.F., Vodnar, D.C., Precup, G. (2016). The probiotic bacteria viability under different conditions. *Bulletin UASVM Food Science and Technology* 73(2): 55-60, doi: 10.15835/buasvmcn-fst:12448.
- Cencic, A., Chingwaru, W. (2010). The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. *Nutrients* 2: 611-625, doi: 10.3390/nu2060611.
- Coman, M.M., Cecchini, C., Verdenelli, M.C., Silvi, S., Orpianesi, C., Cresci, A. (2012). Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination. *Int J Food Microbiol* 157: 346-352, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.003.
- Corona-Hernandez, R.I., Álvarez-Parrilla, E., Lizardi-Mendoza, J., Islas-Rubio, A.R., de la Rosa, L.A., Wall-Medrano, A. (2013). Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: A Review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 12: 614-628, doi: 10.1111/1541-4337.12030.
- Côté, J., Dion, J., Burguière, P., Casavant, L., Van Eijk, J. (2013). Probiotics in bread and baked products: A new product category. *Cereal Foods World* 58(6): 293-296, doi: 10.1094/CFW-58-6-0293.
- Cutting, S.M. (2011). *Bacillus* probiotics. *Food Microbiol* 28: 214-220, doi: 10.1016/j.fm.2010.03.007.
- De Prisco, A., Mauriello, G. (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci Technol* 48: 27-39, doi: 10.1016/j.tifs.2015.11.009.
- Dianawati, D., Mishra, V., Shah, N.P. (2016). Survival of microencapsulated probiotic bacteria after processing and during storage: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 56(10): 1685-1716, doi: 10.1080/10408398.2013.798779.
- Dias, D.R., Botrel, D.A., Victoria, R., Fernandes, D.B., Borges, S.V. (2017). Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. *Curr Opin Food Sci* 13: 31-37, doi: 10.1016/j.cofs.2017.02.001.
- Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A.M., Shojaei-Aliabadi, S.,

- Koushki, M.R. (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. *LWT-Food Sci Technol* 87: 54-60, doi: 10.1016/j.lwt.2017.08.066.
- Erem, F., Küçükçetin, A., Certel, M. (2013). *Bacillus* türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmesi. *Gıda* 38(4): 247-254, doi: 10.5505/gida.2013.32042.
- Ergin, F., Çomak Göçer, E.M., Aşçı Arslan, A., Küçükçetin, A. (2015). Probiyotikler ile ilgili yasal düzenlemeler. *Akademik Gıda* 13(3): 229-236.
- Espitia, P.J.P., Batista, R.A., Azeredo, H.M.C., Otoni, C.G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Res Int* 90: 42-52, doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.026.
- Etchepare, M.D.A., Raddatz, G.C., Cichoski, A.J., Flores, E.M.M., Barin, J.S., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Grosso, C.R.F., De Menezes, C.R. (2016a). Effect of resistant starch (hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *J Funct Foods* 21: 321-329, doi: 10.1016/j.jff.2015.12.025 1.
- Etchepare, M.D.A., Raddatz, G.C., Flores, E.M.M., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Barin, J.S., Grosso, C.R.F., de Menezes, C.R. (2016b). Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *LWT-Food Sci Technol* 65: 511-517, doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.039 0.
- FAO/WHO (2002). Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
- FAO/WHO (2006). Probiotics in Food. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Grahn Håkansson, E., Ekbeck, J. (2006). Thermostable *Lactobacillus* strains. European Patent, EP 1 996 696 B1.
- Guimarães, A., Abrunhosa, L., Pastrana, L.M., Cerqueira, M.A. (2018). Edible films and coatings as carrier for living microorganisms: a new strategy towards biopreservation and healthier foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 17: 594-614, doi: 10.1111/1541-4337.12345.
- Gülbandılar, A., Okur, M., Dönmez, M. (2017). Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 10(1): 44-47.
- Holkem, A.T., Raddatz, G.C., Nunes, G.L., Cichoski, A.J., Jacob-Lopes, E., Grosso, C.R.F., de Menezes, C.R. (2016). Development and characterization of alginate microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. *LWT-Food Sci Technol* 71: 301-308, doi: 10.1016/j.lwt.2016.04.012 0.
- Holkem, A.T., Raddatz, G.C., Barin, J.S., Flores, E.M.M., Muller, E.I., Codevilla, C.F., Jacob-Lopes, E., Grosso, C.R.F., de Menezes, C.R. (2017). Production of microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 by emulsification/internal gelation. *LWT-Food Sci Technol* 76: 216-221, doi: 10.1016/j.lwt.2016.07.013 0.
- Jao, C.L., Huang, S.L., Wu, S.C., Kuo-Chiang, H. (2011). The study on SFLAB GanedenBC30 viability on baking products during storage. 11<sup>th</sup> International Congress on Engineering and Food (ICEF11), *Procedia Food Sci* 1: 1601-1609, doi: 10.1016/j.profoo.2011.09.237.
- Kamarlı Altun, H., Akal Yıldız, E. (2017). Prebiyotikler ve probiyotiklerin diyabet ile ilişkisi. *Türk Yaşam Bilimleri Dergisi* 2(1): 149-156.
- Kanmani, P., Lim, S.T. (2013). Development and characterization of novel-probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food Chem* 141:1041-1049, doi:10.1016/j.foodchem.2013.03.103.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakiri, E.M. (2013). Health benefits of probiotics: A review. *ISRN Nutrition* 2013: 1-7, doi: 10.5402/2013/481651.
- Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. (2018). Benefaction of probiotics

- for human health. *J Food Drug Anal* 26: 927-939, doi: 10.1016/j.jfda.2018.01.002.
- Konuray, G., Erginkaya, Z., Koç, G. (2017). *Bacillus* spp.'nin et ürünlerinde probiyotik olarak kullanımları. *Çukurova Tarım Gıda Bil Der* 32(2): 47-60.
- Kumar, B.V., Vijayendra, S.V.N., Reddy, O.V.S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products-a review. *J Food Sci Technol* 52(10): 6112-6124, doi: 10.1007/s13197-015-1795-2.
- Lai, H.M., Lin, T.C. (2006). Bakery products: science and technology. In: *Bakery products: science and technology*, Hui, Y.H. (ed.), Blackwell Publishing, USA, pp. 3-68.
- Longoria-García, S., Cruz-Hernández, M.A., Flores-Verástegui, M.I.M., Contreras-Esquivel, J.C., Montañez-Sáenz, J.C., Belmares-Cerda, R.E. (2018). Potential functional bakery products as delivery systems for prebiotics and probiotics health enhancers. *J Food Sci Technol* 55(3): 833-845, doi: 10.1007/s13197-017-2987-8.
- López de Lacey, A.M., López-Caballero, M.E., Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P. (2012). Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. *Innov Food Sci Emerg Technol* 16: 277-282, doi: 10.1016/j.ifset.2012.07.001.
- Lönner, C. (2005). Probiotic bread and method of its production. European Patent, EP1971231A1.
- Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Natarajan, S., Sivakumar, A., Ali, F. (2016). Evaluation of the stability of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 during processing and storage of functional foods. *Int J Food Sci Technol* 51: 894-901, doi: 10.1111/ijfs.13044.
- Malmo, C., La Stora, A., Mauriello, G. (2013). Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 cells coated in alginate beads with chitosan by spray drying to use as a probiotic cell in a chocolate soufflé. *Food Bioprocess Tech* 6(3): 795-805, doi: 10.1007/s11947-011-0755-8.
- Mansouripour, S., Esfandiari, Z., Nateghi, L. (2013). The effect of heat process on the survival and increased viability of probiotic by microencapsulation: A review. *Ann Biol Res* 4(4): 83-87.
- Markowiak, P., Śliżewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients* 9(1021): 1-30, doi: 10.3390/nu9091021.
- Martín, M.J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M.A., Morales, M.E. (2015). Microencapsulation of bacteria: a review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innov Food Sci Emerg Technol* 27: 15-25, doi: 10.1016/j.ifset.2014.09.010.
- Mohajeri, M.H., La Fata, G., Steinert, R.E., Weber, P. (2018). Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutr Rev* 76(7): 481-496, doi: 10.1093/nutrit/nuy009.
- Muzzafar, A., Sharma, V. (2018). Microencapsulation of probiotics for incorporation in cream biscuits. *J Food Meas Charact* 12: 2193-2201, doi: 10.1007/s11694-018-9835-z.
- Nunes, G.L., Etchepare, M.D.A., Cichoski, A.J., Zepka, L.Q., Jacob-Lopes, E., Barin, J.S., Flores, E.M.M., da Silva, C.B., de Menezes, C.R. (2018). Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. *LWT-Food Sci Technol* 89: 128-133, doi: 10.1016/j.lwt.2017.10.032 R.
- Pandey, K. R., Naik, S.R., Vakil, B.V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *J Food Sci Technol* 52(12): 7577-7587, doi: 10.1007/s13197-015-1921-1.
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products-A healthy approach. *Food Biosci* 21: 80-89, doi: 10.1016/j.fbio.2017.12.003.
- Pereira, J.O., Soares, J., Sousa, S., Madureira, A.R., Gomes, A., Pintado, M. (2016). Edible films as carrier for lactic acid bacteria. *LWT-Food Sci Technol* 73: 543-550, doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.060.
- Permpoonpattana, P., Hong, H.A., Khaneja, R., Cutting, S.M. (2012). Evaluation of *Bacillus subtilis* strains as probiotics and their potential as a food



- ingredient. *Benef Microbes* 3(2): 127-135, doi: 10.3920/BM2012.0002.
- Rampelli, S., Candela, M., Severgnini, M., Biagi, E., Turrone, S., Roselli, M., Carnevali, P., Donini, L., Brigidi, P. (2013). A probiotics-containing biscuit modulates the intestinal microbiota in the elderly. *J Nutr Health Aging* 17(2): 166-172, doi: 10.1007/s12603-012-0372-x.
- Rasmussen, B., Tolstoy, A. (1992). Baked product containing viable microorganisms and process for preparing same. WO199400019A1.
- Romano, N., Tavera-Quiroz, M.J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., Gómez-Zavaglia, A. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Res Int* 64: 560-566, doi: 10.1016/j.foodres.2014.07.018.
- Sanders M.E., Morelli L, Tompkins T.A. (2003). Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus* and *Brevibacillus*. *Compr Rev Food Sci*, F 2: 101-110, doi: 10.1111/j.1541-4337.2003.tb00017.x.
- Sarao, L.K., Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57(2): 344-371, doi: 10.1080/10408398.2014.887055.
- Seyedain-Ardabili, M., Sharifan, A., Tarzi, B.G. (2016). The production of synbiotic bread by microencapsulation. *Food Technol Biotechnol* 54(1): 52-59, doi: 10.17113/ftb.54.01.16.4234.
- Shori, A.B. (2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI J Biosci* 24: 1-5, doi: 10.1016/j.hjb.2016.12.008.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite* 51: 456-467, doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060.
- Song, D., Ibrahim, S., Hayek, S. (2012). Recent application of probiotics in food and agricultural science. In: Probiotics, Rigobelo, E.C. (ed.), InTechOpen, doi: 10.5772/50121.
- Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Yonekura, L., Parmenter, C., Fisk, I.D. (2014a). Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. *Food Chem* 159: 302-308, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.008.
- Soukoulis, C., Singh, P., Macnaughtan, W., Parmenter, C., Fisk, I.D. (2016). Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. *Food Hydrocoll* 52: 876-887, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.08.025.
- Soukoulis, C., Yonekura, L., Gan, H.H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C., Fisk, I. (2014b). Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocoll* 39: 231-242, doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.01.023.
- Soyuçok, A., Başıyigit Kılıç, G. (2017). Süt kaynaklı olmayan probiyotik gıdalar. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 5(12): 1615-1625, doi: 10.24925/turjaf.v5i12.1615-1625.1449.
- Tanner, G., Matthews, K., Roeder, H., Konopasek, M., Bussard, A., Gregory, T. (2018). Current and future uses of probiotics. *JAAPA* 31(5): 29-33, doi: 10.1097/01.JAA.0000532117.21250.0f.
- Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. *J Funct Foods* 9: 225-241, doi: 10.1016/j.jff.2014.04.030.
- Yonekura, L., Sun, H., Soukoulis, C., Fisk, I. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. *J Funct Foods* 6: 205-214, doi: 10.1016/j.jff.2013.10.008.
- Zanjani, M.A.K., Tarzi, B.G., Sharifan, A., Mohammadi, N., Bakhoda, H., Madanipour, M.M. (2012). Microencapsulation of *Lactobacillus casei* with calcium alginate-resistant starch and evaluation of survival and sensory properties in cream-filled cake. *Afr J Microbiol Res* 6(26): 5511-5517, doi: 10.5897/AJMR12.972.

Zhang, L., Chen, X.D., Boom, R.M., Schutyser, M.A.I. (2018a). Survival of encapsulated *Lactobacillus plantarum* during isothermal heating and bread baking. *LWT-Food Sci Technol* 93: 396-404, doi: 10.1016/j.lwt.2018.03.067.

Zhang, L., Huang, S., Ananingsih, V.K., Zhou, W., Chen, X.D. (2014). A study on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability in bread during baking. *J Food Eng* 122: 33-37, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.08.029.

Zhang, L., Taal, M., Boom, R.M., Chen, X.D., Schutyser, M.A.I. (2015). Viability of *Lactobacillus plantarum* P8 in bread during baking and storage. The 20<sup>th</sup> International Drying Symposium (IDS 2016), 07-10 August 2015, Gifu, Japan.

Zhang, L., Taal, M.A., Boom, R.M., Chen, X.D., Schutyser, M.A.I. (2018b). Effect of baking conditions and storage on the viability of *Lactobacillus plantarum* supplemented to bread. *LWT-Food Sci Technol* 87: 318-325, doi: 10.1016/j.lwt.2017.09.005.

Zhang, N., Ju, Z., Zuo, T. (2018c). Time for food: The impact of diet on gut microbiota and human health. *Nutrition* 51-52: 80-85, doi: 10.1016/j.nut.2017.12.005.



## SİYAH ÇAY HARMANINDA PARTİKÜL BOYUTU VE DEMLEME SÜRESİNİN DEM ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Sinem Salman, Negin Azarabadi, Feramuz Özdemir\*\***

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 12.02.2019; Kabul / *Accepted*: 08.04.2019; Online baskı / *Published online*: 30.04.2019

Salman, S., Azarabadi, N., Özdemir, F. (2019). Siyah çay harmanında partikül boyutu ve demleme süresinin dem özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (3): 442-452 doi: 10.15237/gida.GD19041

*Salman, S., Azarabadi, N., Özdemir, F. (2019). Siyah çay harmanında partikül boyutu ve demleme süresinin dem özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2019) 44 (3): 442-452 doi: 10.15237/gida.GD19041*

### ÖZ

Satışa sunulan çaylar, genellikle farklı özellikteki çayların harmanlarıdır. Tüketici talepleri, fiyat, kalite ve volum ağırlığı gibi bazı zorunluluklar çayların harmanlanması gerektirir. Bazen farklı ülke çayları da harmanda yer alabilmektedir. Bu çalışmada, Türkiye pazarında yaygın bulunan siyah çaylardan biri 2mm, 1.4mm, 1mm, 500µm delik çaplarına sahip elek setinde partikül boyutlarına göre ayrılmış; 15, 20 ve 25 dakika süre ile geleneksel çay demleme yöntemine göre demlenmiştir. Demin bazı özellikleri üzerine, partikül boyutunun ve demleme süresinin birlikte ve ayrı ayrı önemli etkisi olmuştur ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ). Nitekim, en yüksek ekstrakt verimi, toplam fenolik madde miktarı ve bulanıklık değerleri 25 dakika süre ile demlenen en küçük partiküllü çayda belirlenmiştir. Kafein, theaflavin (TF), thearubigin (TR), toplam renk ve %parlaklık değeri üzerine demleme süresinin etkisi önemsiz iken, bu değerler üzerine partikül büyüklüğünün önemli ( $P < 0.001$ ) etkisi olmuştur. Sonuçlar, pazara sunulan çayın farklı kalite özelliklerine sahip ve muhtemelen farklı menşeli ülke çaylarından harmanlandığını da göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Siyah çay, harman, partikül boyutu, demleme süresi

## THE EFFECT OF PARTICLE SIZE AND BREWING TIME ON THE INFUSION PROPERTIES OF TEA BLENDS

### ABSTRACT

Teas offered for sale are usually blend of different kinds of teas. Some requirements such as consumer demands, price, quality and bulk density reveals the need for blending of teas. Sometimes, teas from different countries might be used in blends. In this study, a common black tea in market was used. The tea sieved with a sieve set (2mm, 1.4mm, 1mm, 500µm) and separated according to particle size. These were brewed for 15, 20 and 25 minutes. The particle size and brewing times had significant effects on diffusion. The highest extract, phenolic content and turbidity values were determined in infusion of the smallest particle at 25 minutes. There was no significant effect of brewing time on caffeine, theaflavin, thearubigin, total color and %brightness values, however, the particle size has significant ( $P < 0.001$ ) effect on these parameters. Results showed that the analysed sample is a blend and it most probably contains foreign teas.

**Keywords:** Black tea, blend, particle size, brewing time

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ feramuz@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 2434,

☎ (+90) 242 310 6306

## GİRİŞ

Çay (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze) bitkisi çok yıllık, sıcak, nemli ve bol yağışlı iklimi seven, hafif asidik ve geçirgen topraklarda yetişen önemli bir kültür bitkisidir (Williges, 2004). M.Ö. 2737 yılından beri bilinen çay, anavatanı olan Çin'den coğrafi keşifleri takiben tüm dünyaya yayılırken, tarımı da iklim ve toprak özellikleri uygun olan beş kıtada onlarca ülkede yapılır hale gelmiştir (Harbowy vd., 1997; Basu Majumder vd., 2010). Ancak Çin, Hindistan, Sri Lanka (Seylan), Kenya halen en büyük çay üreticileri olup, çay ihracatında da ilk sıradaki ülkelerdir. Türkiye 76361 hektar çay üretim alanı ile çay üreten ülkeler arasında 8. sıradadır (Anonim, 2018). Yaklaşık 50 ülkede tarımı yapılan çay bitkisi, deniz seviyesinden 2200m rakıma kadar 42° N (Gürcistan) ve 27° S (Arjantin) boylamları arasında, ılıman iklime sahip (yıllık ortalama sıcaklığı 18-20°C olan) hafif asidik (4.5-5.5 pH) topraklarda geniş adaptasyon kabiliyeti göstermektedir (Williges, 2004; Anonim, 2018).

Siyah çay, taze çay sürgün ve yapraklarının soldurma, kıvrırma, fermentasyon (oksidasyon), kurutma ve sınıflandırılması ile elde edilir. Bu işlemler arasında kıvrırma, çay yaprağının parçalanma ve kıvrılıp ezilerek boyutunun küçültülmesini, hücre öz suyunun dışarı çıkmasını, hava ile temas etmesini, içerdiği fenolik maddelerin okside olmasını sağlar. Bu işlem, ortodoks, CTC (crushing, tearing, curling), rotorvan metotları ve bunların değişik kombinasyonları ile gerçekleştirilir. Bu kıvrırma metotlarının uygulanmasından elde edilen çaylar birbirinden oldukça farklı ve özgün niteliklere sahiptir (Özdemir vd., 1992). Nitekim bu çaylar tek başına pazara sunulabildiği gibi, birbirleri ile paçal hazırlanarak özel harmanlar da oluşturulabilir.

Öte yandan, aynı kıvrırma işlemi uygulanarak üretilen siyah çay, prosesinin son basamağı olan sınıflandırma aşamasında kalite ve partikül boyutlarına göre farklı gruplara ayrılır. Türkiye'deki işletmelerde çaylar genellikle 4-7 farklı gruba ayrılmaktadır (Özdemir vd., 1999). Sınıflandırma, çay partiküllerinden lifin uzaklaştırılması ve pazar talepleri doğrultusunda

çeşitli kalite, şekil ve boyutlarda ayrılması için yapılmaktadır. Dünyada genellikle ortodoks çaylar, whole leaf (bütün yaprak), broken leaf (kırık yaprak), fannings (küçük parçalı elenmiş) ve dust (toz), şeklinde dört ana ve bunların bazı alt sınıflarını tanımlayacak şekilde sınıflandırılır (Kumar vd., 2013). Homojen, sürekli aynı kalitede ve pakette aynı doluluğu sağlayabilmek için bu kalite sınıflarından da paçal yapma bir zorunluluk olarak ortaya çıkar.

Türkiye'de çay kalitesini en çok etkileyen faktörlerden biri çayın hasat dönemidir. Bilindiği gibi ülkemizde çay Mayıs-Ekim ayları arasında genellikle üç, bazı yıllarda ise dört kez hasat edilir ve bu hasatlar 1., 2. ve 3. sürgün dönemi diye adlandırılır (Özdemir vd., 1992; Özdemir vd., 1993; Özdemir vd. 2000). Yapılan hemen tüm çalışmalarda çay kalitesinin ilk sürgün döneminden son sürgün dönemine doğru düştüğü belirlenmiştir. Bu durumda birinci sürgün döneminden elde edilen farklı sınıf çayların kaliteleri üçüncü sürgün döneminde üretilenlerden daha kaliteli olmaktadır (Özdemir vd., 1993; Türkmen, 2007; Topuz vd., 2014). Örneğin yapılan bir çalışmada üç sürgün döneminde üretilen çayların 1., 2. ve 3. sürgün dönemlerinde sırasıyla % ekstrakt verimi değerleri 32.67, 29.60, 29.44, toplam fenolik madde miktarları %4.75, 4.67, 4.15 ve kafein değerleri %1.99, 1.84, 1.68 olmuştur (Özdemir, 1992; Özdemir vd., 1993). Buradan da anlaşılmaktadır ki pazara sunulan son ürün çayların paçalında farklı sürgün dönemlerinde üretilen aynı sınıf çaylar, farklı oranlarda yer alabilmektedir. Bu durum bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır. Bunun en önemli nedenlerinden birisi de sürgün dönemlerinde ve hatta her sürgün döneminin başı ile sonunda üretilen aynı sınıf çayın volum ağırlığındaki önemli değişimlerdir. Nitekim, yapılan bir çalışmada (Özdemir vd., 1993), çayların volum ağırlıkları sürgün dönemi başı, ortası ve sonunda sırasıyla, 385.00, 421.03 ve 428.30 mL/100 g ve 7 sınıf çayın volum ağırlığı partikül boyutuna bağlı olarak 255.75 ve 535.04 mL/100 g arasında değişim göstermiştir. Bu kadar fazla değişkenliğin söz konusu olduğu durumlarda çay paketlerinde sürekli aynı doluluğu ve kaliteyi sağlamak ciddi zorluklar taşımaktadır. Nitekim

tüketicilerin her defasında aynı marka çayları almış olmalarına rağmen bazen aynı kaliteyi yakalayamamaları bu nedenledir.

Yapılan çalışmalar çay işleme yönteminin çayın fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine önemli etkisi olduğunu göstermiştir (Owuor vd., 1990; Özdemir vd., 1993; Obanda vd., 2001). Dünyadaki önemli ve yaygın üretim yöntemlerinden olan ortodoks ve CTC yöntemi ile üretilen çayların fiziksel özelliklerinin yanı sıra, tat ve aroma özellikleri bariz derecede farklılık arz eder (Mahanta ve Baruah, 1989; Ravichandran ve Parthiban, 2000; Wang vd., 2008). Kenya gibi bazı ülkelerde daha ziyade CTC kıvrıma yöntemi yaygın iken Hindistan ve Sri Lanka'da ortodoks yöntemi yaygındır. Türkiye'de ise ortodoks+rotorvan kombinasyonu en yaygın üretim yöntemini oluşturur. Bu nedenle farklı üretim yöntemleri ile üretilen çayların da değişik oranlarda bazı özel çayların hazırlanmasında paçala girmesi gerekebilir ve hatta bu istenir.

Çayın kalite ve duyuşal özelliklerini etkileyen önemli faktörlerden bir diğeri ise çay bahçelerinin buldukları rakımdır. Çünkü yüksek bölgelerde yetişen çaylıklardan üretilen çayların daha üstün özelliklere sahip olduğuna inanılmaktadır ve bu araştırmalarla da ortaya konmuştur (Owuor vd., 1990; Squire vd., 1993; Nchabeleng vd., 2012; Özdemir vd., 2018). Özel bazı harmanlar için yüksek bölge çaylarına da paçalda yer verilmesi önem arz eder.

Bilindiği gibi Türkiye'nin genellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yabancı menşeli çaylar tüketiciler tarafında özellikle tercih edilir. Bu çaylar tüketicilerde özel bir damak tadı oluşturmuştur. Bu tüketicilere ulaşabilmek için bazı firmalar harmanlarına belirli oranlarda yabancı menşeli çayları eklemeye ihtiyaç duyabilmektedir. Öte yandan mevcut çaylarımızın ekstrakt verimi, kafein, toplam fenolik madde vb. niteliklerini geliştirmek amaçlı da harmanlara bu değerler açısından yüksek çayların girmesi söz konusu olabilmektedir. Bazı hallerde bu husus dava konusu bile olabilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, pazara sunulan ve önemli bir marka olarak çoğunlukla tercih edilen bir çayın paçalında bulunan çayları öncelikle boyutlarına göre ayırıp takiben bu çayların bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerini belirleyerek harmanı oluşturan farklı nitelikteki çayları tanımlayabilmek, özellikle Türk çaylarına yabancı menşeli çayların katılıp katılmadığını ortaya koyabilmektir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Çalışma materyali olarak, Türkiye pazarında önemli firmalardan birinin pazarda yaygın bulunan siyah çayı tercih edilmiş ve Antalya'da yerel bir marketten birer kilogramlık iki ayrı paket satın alınmıştır (Haziran 2016). Analizlerde kullanılan kimyasallar analitik ya da kromatografik saflıkta olup Sigma-Aldrich (St.Louis, ABD)'den temin edilmiştir.

### Yöntem

#### Eleme

Satın alınan paket siyah çay, analitik elek sallayıcı (Retsch, GmbH&Co, Germany) kullanılarak 2.0 mm, 1.4 mm, 1.0 mm ve 500 µm çaplarındaki elekler ile %60 genlikte 1 dakika elenmiş ve eleme sonunda 5 farklı boyutta çay elde edilmiştir. Farklı boyutlara ayrılmış çaylar metin içerisinde en büyükten küçüğe doğru sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 no'lu çaylar olarak tanımlanmıştır. Orijinal örnek (satın alınan paket siyah çay) ise 0 (sıfır) olarak numaralandırılmıştır. Analizler bu örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

### Yığın Yoğunluğu

Farklı boyutlara ayrılmış çay örneklerinin yığın yoğunluğu analizi Özdemir (1992)'e göre kısmen modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 10 g kuru çay örneği 25 mL'lik ölçülü mezüre tartılmış, 7 cm yükseklikten 20 kez serbest bırakıldıktan sonra hacmi okunmuştur. Sonuçlar kg/m<sup>3</sup> olarak verilmiştir.

### Ekstraksiyon

Çay örneklerinin ekstraksiyonu geleneksel metotla demleme yöntemi ile 3 farklı sürede (15, 20 ve 25 dakika) gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2,83 gram örnek tartılmış 250 mL saf su ile demlenmiştir. Bu

çay/su oranı Gürses ve Artık (1987)'e göre belirlenmiştir. Geleneksel yöntemde ekstraksiyonun gerçekleştirildiği demlik içerisindeki sıcaklık  $92\pm 2^\circ\text{C}$  olarak değişmiştir.

#### Nem miktarı

Nem içeriği, 2 gram örneğin  $103\pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta sabit tartıma gelene kadar kurutma dolabında (Memmert, Almanya) kurutulması ile belirlenmiştir (Gürses ve Artık, 1987).

#### Ekstrakt verimi

Farklı partikül boyutuna sahip ve farklı sürelerde demlenmiş çay örneklerinden 15 mL alınarak önceden darası alınmış petrilere aktarılmış ve daha sonra  $65^\circ\text{C}$ 'de etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Ekstrakt verimi kuru madde üzerinden hesaplanmıştır (Hanay, 2011).

#### Theaflavin (TF), Thearubigin (TR), Toplam renk ve % Parlaklık analizi

Çay demlerinin TF, TR, toplam renk ve % parlaklık değerleri Gürses ve Artık (1987)'e göre belirlenmiştir. Bu amaçla elde edilen demden 10 mL alınmış ve üzerine 10 mL %1'lik anhidrosodyumhidrojenfosfat eklenip karıştırılmıştır. Karışım 10 mL etil asetat ile ekstrakte edilmiş ve ardından etil asetat tabakasından 2 mL alınıp metil alkol ile 25 mL'ye seyreltilmiştir (E1). Diğer taraftan 1 mL çay demine 9 mL destile su karıştırılıp metil alkol ile 25 mL'ye tamamlanmıştır (E2). Ayrıca 1 mL %10'luk okzalik asit çözeltisine 1 mL çay demi ve 8 mL destile su ilave edilip metil alkol ile 25 mL'ye seyreltilmiştir (E3). Elde edilen ekstraktlar spektrofotometrede 380 nm ve 460 nm'de okunmuştur. Bu değerler ile aşağıdaki formüller kullanılarak TF, TR, toplam renk ve % parlaklık değerleri hesaplanmıştır.

- 380 nm'deki absorbans değeri kullanılarak,  
(%)TF =  $2.25 \times 2E1$   
(%)TR =  $7.06 \times (4E3 - 2E1)$
- 460 nm'deki absorbans değeri kullanılarak,  
Toplam Renk =  $6.25 \times 4E2$   
% Parlaklık =  $2E1 / E2 \times 100$

#### Renk analizi

Örneklerin renk değerleri UltraScan-VIS Hunterlab (Japonya) renk ölçüm cihazı

kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla elde edilen demlerden 60 mL alınarak sıvı ölçüm haznesinde ölçümler gerçekleştirilmiştir. Farklı partikül boyutuna sahip ve farklı sürelerde demlenen örneklerin  $L^*$  (koyuluk-açıklık),  $a^*$  (yeşillik-kırmızılık),  $b^*$  (mavilik-sarılık) parametreleri ölçülmüş ve bu değerlerden ton açısı (Hue angle, Eşitlik 1) ve doygunluk (Chroma, Eşitlik 2) değerleri aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Ton açısı (Hue angle)} = \left(\frac{180}{\pi}\right) \times \arctan\left(-\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (1)$$

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

#### Bulanıklık Analizi

Örneklerin bulanıklık analizi Hanch (Model 2001) türbidimetre kullanılarak Tajchakavit vd. (2001)'e göre yapılmıştır. Örnekleme hücrelerine yaklaşık 30 mL dem konularak ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar Nephelometric Turbidity Unit (NTU) olarak ifade edilmiştir.

#### Toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla hazırlanan demler 10 kat seyreltilmiş ve bu seyreltik demden 0.5 mL tüplere aktarılmıştır. Üzerine sırasıyla 2.5 mL 0.2 N Folin Cioceltau çözeltisi ve 2 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi (%7.5) ilave edildikten sonra girdap karıştırıcıda karıştırılmış ve  $50^\circ\text{C}$  su banyosunda 5 dk bekletilmiştir. Bu süre sonunda oda sıcaklığında soğutularak, absorbansı aynı şartlarda ekstrakt yerine saf su ile hazırlanmış köre karşı spektrofotometrede (Shimadzu UV-vis 160A, Japonya) 760 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Dincer vd., 2012). Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak gallik asit çözeltileri ile oluşturulan eğri yardımıyla g gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g kuru örnek ağırlığı cinsinden ifade edilmiştir.

#### Kafein tayini

Örneklerin kafein miktarı Wang vd. (2000) tarafından uygulanan metoda göre belirlenmiştir. Bu amaçla elde edilen ekstrakt 10 kat seyreltilmiştir ve  $0.45\mu\text{m}$ 'lik membran filtreden süzülerek ekstraktlar HPLC (Shimadzu, Japonya) sistemine enjekte edilmiştir. HPLC sistemi DGU-20A5 degaz ünitesi, LC-20AD pompa ünitesi, SIL-20AD otomatik örnekleyici, CTO-20AC kolon fırını ve SPD-20M20A diode array

detektörden oluşmaktadır. Ayırım Inertsil ODS 3 (250×4.6 mm, 5µm) (GL Sciences, Japonya) kolonda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A olarak %0.1 ortofosforik asit içeren su, mobil faz B olarak ise %0.1 ortofosforik asit içeren metanol kullanılmıştır. Akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmış olup, akış programı 0-5 dk %20 B, 5-7 dk %20-24 B, 7-10 dk %24 B, 10-20 dk %24-40 B ve 20-25 dk % 40-50 B, şeklinde uygulanmıştır. Dedeksiyon işlemi 280 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

Tanımlama işlemi için dış standart yöntemi kullanılmıştır. Bileşenlerin tanımlanması standard pikinin alınma zamanları, UV spektrumları ve benzerlik indeksleri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki kafein miktarı, örneklerle aynı koşullarda cihaza enjekte edilen 5 farklı konsantrasyondaki standart çözeltileri ile oluşturulan eğri yardımıyla hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında farklı partikül boyutlarına sahip ve farklı sürelerde demlenmiş çay örnekleri tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiş olup her bir uygulama 2 tekerrürlü yapılmıştır. Tekerrürlerden alınan her bir örnekte gerçekleştirilen analizler 2 paralelli olarak yapılmıştır. Ortalamalar varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir (Düzgüneş vd., 1987). Varyans analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi SAS istatistik programı (V9, SAS Institute, North Carolina, ABD) kullanılarak yapılmıştır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

Farklı iki paketteki çayın yukarıda açıklandığı gibi 2.0 mm, 1.4 mm, 1.0 mm ve 500 µm çaplarındaki eleklerden elenmesi ile elde edilen beş farklı partikül boyutuna sahip çayların harman içerisindeki oranları sırasıyla ortalama %10.64, 21.08, 19.13, 34.99 ve 14.16 olarak belirlenmiştir.

Farklı boyuttaki çayların farklı sürelerde demlenmesi ile elde edilen ekstraktlarda ölçülen ekstrakt verimi değeri, TF ve TR, toplam fenolik madde miktarı, kafein değerleri Çizelge 1’de, hue açısı, chroma değerleri ile % parlaklık, toplam

renk ve bulanıklık değerleri ise Çizelge 2’de verilmiştir.

Suda çözünen madde miktarının göstergesi olan ekstrakt verimi değeri kuru siyah çay kalitesinin belirlenmesindeki en önemli kriterlerden birisidir. Nitekim bu değer ISO-9768 çay standartlarına göre kurumadde de en az %32 olması gerekir. Bu oranın altında ekstrakt verimi değerine sahip olan çaylar standart dışı olarak kabul edilir. Türkiye’de mevcut çay tebliğinde (Anonim, 2015) belirtilen ekstrakt verimi değeri ise %29’dur. Nitekim Türk çayları ile ilgili yapılan pek çok çalışma ekstrakt verimi değerlerinin %32’nin altında olduğunu göstermektedir (Nas vd., 1989; Özdemir vd., 1993).

Yapılan bu çalışmada da farklı boyutlardaki çayların bazılarının %32 ekstrakt verimi değerinin altında bir değere sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Elde edilen verilere uygulanan varyans analizinde ekstrakt verimi üzerinde partikül boyutunun önemli ( $P < 0.001$ ) etkisinin olduğu belirlenirken, demleme süresinin önemli ( $P > 0.05$ ) bir etkisi saptanmamıştır (Çizelge 3). Ancak unutulmamalıdır ki bu çalışmada ölçülen ekstrakt verimi değerleri Türk usulü demleme yöntemi ile elde edilen infüzyonlarda ölçülmüştür. Ancak yine de ekstrakt verimi %32’nin üzerinde olması istenir ve beklenir. Çaylardaki ekstrakt verimi öncelikle yaş çayın kalitesi ile ilgilidir. Özellikle yaş çayın toplama standardı ekstrakt verimi üzerinde doğrudan etkilidir. Bu çalışmada Çizelge 1’de görülen 5 no’lu çay, partikül boyutu açısından en küçük partiküllere sahip olan çaydır. Bu nedenle ekstraksiyon yüzeyinin fazla oluşu ekstraksiyon veriminin yüksek olmasının nedenlerinden biri olarak değerlendirilebilir. Ancak bu çayların ekstrakt verimi yaklaşık aynı boyutlardaki Türk çaylarının bilinen ekstrakt veriminin oldukça yüksektir. Nitekim Çizelge 4’deki Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları incelendiğinde 5 no’lu çay %36 ekstrakt verimi değeri ile diğer çayların ekstrakt veriminden önemli seviyede yüksektir. Buradan 500µm delik çapındaki eleğin altına geçen 5 no’lu çayın yabancı menşeli çay olduğu düşünülebilir.

Çizelge 1. Örneklerin ekstrakt verimi, theaflavin (TF), thearubigin (TR), toplam fenolik madde miktarı ve kafein değerlerinin ortalamaları

Table 1. Mean values of extraction yield, theflavin (TF), thearubigin (TR), total phenolic content and caffeine of samples

Süre (dk) Time (min)	Elek boyutu (Sieve size)	Ekstrakt verimi (Extraction yield) (%)	TF (%)	TR (%)	Toplam Fenolik Madde (g/ GAE 100g KM) (Total phenolic content)	Kafein (g/100g KM) (Caffeine)
15	0	32.75±0.11	0.12±0.00	5.70±0.03	7.76±0.03	2.56±0.12
	1	31.46±1.10	0.16±0.02	4.74±0.32	8.24±0.01	2.79±0.05
	2	31.54±0.93	0.12±0.03	5.19±0.25	7.51±0.04	2.66±0.08
	3	31.89±0.67	0.11±0.03	5.39±0.28	7.04±0.10	2.64±0.00
	4	33.41±1.17	0.10±0.01	6.15±0.19	7.93±0.35	2.68±0.04
	5	35.79±0.57	0.13±0.01	6.83±0.18	8.56±0.08	2.72±0.03
20	0	33.12±0.11	0.12±0.01	5.58±0.04	7.94±0.03	2.70±0.00
	1	32.69±0.75	0.16±0.02	4.87±0.10	8.94±0.03	2.95±0.01
	2	31.99±0.91	0.13±0.02	5.05±0.07	7.52±0.01	2.68±0.03
	3	32.29±0.51	0.09±0.01	5.22±0.29	7.31±0.07	2.65±0.01
	4	33.44±0.76	0.11±0.00	5.97±0.39	8.00±0.06	2.68±0.01
	5	36.16±0.58	0.14±0.01	6.75±0.13	8.78±0.02	2.69±0.02
25	0	33.34±0.09	0.11±0.00	5.66±0.04	8.23±0.03	2.72±0.00
	1	33.55±1.34	0.20±0.02	4.76±0.33	9.33±0.71	3.00±0.20
	2	31.63±0.98	0.12±0.01	5.03±0.24	8.08±0.02	2.68±0.05
	3	32.49±1.33	0.09±0.01	5.43±0.33	7.44±0.13	2.68±0.01
	4	33.94±0.57	0.10±0.02	6.09±0.18	8.21±0.09	2.68±0.02
	5	36.05±0.50	0.11±0.01	6.84±0.10	8.96±0.15	2.75±0.02

Çizelge 2. Örneklerin Hue Açısı, Chroma, %parlaklık, toplam renk ve bulanıklık değerleri ortalamaları

Table 2. Mean values of Hue angle, Chroma, %brightness, total color and turbidity value of samples

Süre (dk) Time (min)	Elek boyutu (Sieve size)	Hue Açısı (Hue angle)	Chroma	% Parlaklık (%Brightness)	Toplam Renk (Total color)	Bulanıklık (NTU) (Turbidity)
15	0	47.27±0.24	65.62±0.38	5.87±0.00	1.38±0.01	11.76±0.23
	1	50.49±1.23	70.88±2.52	7.47±0.32	1.16±0.11	17.85±7.00
	2	51.06±1.26	71.70±2.95	7.62±0.25	1.12±0.06	11.05±0.49
	3	49.45±0.97	68.86±2.19	4.37±0.28	1.35±0.03	07.10±2.06
	4	44.97±1.71	61.90±3.15	5.12±0.19	1.53±0.05	10.77±3.44
	5	40.22±1.81	54.74±3.51	5.95±0.18	1.73±0.02	18.65±3.99
20	0	45.09±0.20	61.61±0.30	6.27±0.02	1.44±0.02	15.35±0.32
	1	47.91±0.47	66.16±1.35	9.50±2.35	1.33±0.09	23.55±5.87
	2	48.72±1.18	67.11±2.31	7.66±4.08	1.24±0.15	13.85±1.91
	3	46.67±1.02	63.94±2.16	4.55±1.06	1.38±0.06	09.15±2.62
	4	42.94±1.66	58.25±3.20	5.52±0.60	1.53±0.06	14.30±3.54
	5	39.35±3.40	53.06±5.53	5.84±0.58	1.76±0.06	24.60±4.59
25	0	44.80±0.23	60.85±0.34	6.35±0.06	1.41±0.01	19.67±0.34
	1	47.23±0.70	64.25±1.46	12.22±1.87	1.27±0.12	27.95±5.44
	2	48.39±0.90	66.44±1.81	7.47±1.18	1.24±0.09	19.05±1.20
	3	46.20±1.61	63.09±2.50	4.70±1.43	1.38±0.08	10.95±4.45
	4	43.18±0.70	58.25±1.06	5.46±0.49	1.49±0.01	19.35±4.60
	5	38.17±0.17	50.98±0.11	4.26±1.39	1.68±0.07	29.30±4.50



Çizelge 3. Örneklerde ölçülen değerlere ait varyans analizi sonuçları  
 Table 3. Means Squares and F values from analysis of variance of samples

VK (SV)	SD (DF)	Ekstrakt verimi (Extraction yield)		Kafein (Caffeine)		TF		TR		Toplam fenolik madde (Total phenolic content)	
		KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F
Süre (S) (Time)	2	1.514	2.35	0.0174	3.79*	0.0001	0.76	0.021	0.33	0.858	14.64***
Partikül (P) (Particle size)	5	13.917	21.61***	0.0592	12.87***	0.0027	20.10***	3.197	51.44***	2.235	38.12***
PxS	10	0.287	0.44	0.0046	1.01	0.0009	6.49***	0.011	0.18	0.056	0.95
Hata (Error)	18	0.644		0.0046		0.0001		0.062		0.059	

VK (SV)	SD (DF)	Bulanıklık (Turbidity)		Hue Açısı (Hue Angle)		Chroma		% Parlaklık (% Brightness)		Toplam renk (Total color)	
		KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F	KO (MS)	F
Süre (S) (Time)	2	56.676	2.16	22.817	12.82***	82.515	13.72***	1.450	0.56	0.006	0.87
Partikül (P) (Particle size)	5	267.669	10.19***	84.490	47.47***	197.581	32.85***	21.808	8.49***	0.191	28.88***
PxS	10	7.898	0.3	0.348	0.2	1.136	0.19	2.391	0.93	0.003	0.48
Hata (Error)	18	26.263		1.780		6.014		2.569		0.007	

\*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  düzeyinde farklılığı göstermektedir.

\*, significant at  $P < 0.05$ ; \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

VK: Varyasyon kaynağını, SD: Serbestlik derecesini, KO: kareler ortalaması

SV: Source of variation, DF: Degree of freedom, MS: Mean square.

TF ve TR siyah çaydaki önemli bileşiklerdir ve fenolik bileşiklerin oksidasyon ürünleridir. TF'ler siyah çay deminde açık sarı renk, burukluk ve acılıktan sorumlu iken TR'ler özellikle koyu, mat renkten sorumlu bileşiklerdir (Haslam, 2003). Çizelge 1'deki TF değerleri incelendiğinde 1 nolu çayın (2mm delik çaplı elekten geçemeyen) %TF değerinin 0.16 - 0.20 değeri ile diğer partikül boyutlu çaylardan daha yüksek bir değere sahip olduğu açıkça görülmektedir. 1 no'lu çay en iri partiküllü çay olmasına rağmen yüksek %TF ve diğer örneklerle göre daha düşük %TR (4.74 - 4.87) değerine sahip olması ile dikkat çekmekte ve paçalda yer alan muhtemelen yabancı menşeli bir çay olarak değerlendirilmektedir. Nitekim bu çayın diğer çaylardan olumlu yönde ayrılması Çizelge 4'den de incelenebilir. Çünkü bu çay da kalite ile ilgili fiziksel ve kimyasal özellikler açısından diğerlerinden istatistiksel olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Bu sonuçlar 1 no'lu çayın yabancı menşeli bir çay olduğu kanaatini güçlendirmektedir. Özellikle toplam fenolik madde ve kafein miktarlarının 1 no'lu çaydaki değerleri diğer boyuttaki çayların değerlerinden

önemli ( $P < 0.001$ ) düzeyde yüksektir. Türk çaylarında kafein değeri genellikle araştırmada elde edilen değerlerden oldukça düşüktür ve genellikle %2'nin altındadır. Nitekim bu nedenle Türk Gıda Kodeksi Çay Tebliğinde kafein değeri en az %1.60 olarak belirlenmiştir (Anonim, 2015). Analiz edilen örneklerde bu değer 2.56-3.00 (g/100g KM) arasında değişmiştir (Çizelge 1). Buradan da firmanın pazara sunduğu bu çayın paçalında yabancı menşeli çay bulunduğu söylenebilir. Bu kanaati toplam fenolik madde içeriği de güçlendirmiştir. Çünkü Türk siyah çaylarında toplam fenolik madde miktarı genellikle %6-7 civarındadır (Özdemir ve Karkacier, 1997). Çizelge 4'de görüldüğü gibi 1 no'lu çayın toplam fenolik madde miktarı ortalama %8.84 gibi yüksek bir değere sahiptir.

Örneklerin toplam renk ve % parlaklık değerleri incelendiğinde yine partikül boyutunun önemli ( $P < 0.001$ ) etkisi olurken, demleme süresinin etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $P > 0.05$ ) olmuştur. Ancak Hue (ton açısı) ve Chroma (doygunluk) değerleri üzerine hem demleme süresi hem de partikül boyutunun birlikte önemli ( $P < 0.001$ )

etkisi olmuştur (Çizelge 3). Çayların % parlaklık ve toplam renk değerleri incelendiğinde 1 no'lu çay diğer örneklerden bariz şekilde ayrılmıştır. Nitekim Çizelge 4 incelendiğinde 1 no'lu örnek en düşük ortalama toplam renk değerine (1.26) sahip olurken, % parlaklık açısından ise en yüksek ortalama değere (9.73) sahip olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi bu değerler öncelikle

çayın içerdiği TF ve TR'ler ile ilişkilidir. 1 no'lu çayda %TF en yüksek iken, %TR değerleri diğer çaylara göre en düşük oranda bulunmaktadır. Yüksek TF oranı, parlaklığı ve toplam rengi önemli düzeyde etkilemiş ve bu örnekte TR oranının düşük olması da toplam rengin düşük olmasına neden olmuştur.

Çizelge 4. Örneklerin ölçülen değerlerine ait ortalamaların Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçları  
Table 4. Duncan multiple range test results of mean values of analysed parameters

		2	3	1	0	4	5
Ekstrakt verimi (Extract yield)	Partikül boyutu (Particle size)	31.72±0.72 <sup>d</sup>	32.22±0.54 <sup>cd</sup>	32.57±1.34 <sup>cd</sup>	33.07±0.29 <sup>cb</sup>	33.60±0.79 <sup>b</sup>	36.00±0.42 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	15	20	25			
Toplam fenolik madde (Total phenolic content)	Partikül boyutu (Particle size)	7.84±0.13 <sup>c</sup>	8.08±0.15 <sup>b</sup>	8.37±0.17 <sup>a</sup>			
	Süre (Time)	3	2	0	4	5	1
Kafein (Caffeine)	Partikül boyutu (Particle size)	7.26±0.20 <sup>d</sup>	7.70±0.29 <sup>c</sup>	7.98±0.21 <sup>cb</sup>	8.05±0.24 <sup>b</sup>	8.77±0.21 <sup>a</sup>	8.84±0.29 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	15	20	25			
%TF	Partikül boyutu (Particle size)	2.68±0.10 <sup>b</sup>	2.73±0.11 <sup>ab</sup>	2.75±0.13 <sup>a</sup>			
	Süre (Time)	3	0	2	4	5	1
%TR	Partikül boyutu (Particle size)	2.65±0.02 <sup>b</sup>	2.66±0.11 <sup>b</sup>	2.68±0.04 <sup>b</sup>	2.68±0.02 <sup>b</sup>	2.72±0.03 <sup>b</sup>	2.92±0.13 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	3	4	0	5	2	1
Toplam Renk (Total color)	Partikül boyutu (Particle size)	0.10±0.02 <sup>c</sup>	0.11±0.01 <sup>cb</sup>	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>b</sup>	0.16±0.02 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	1	2	3	0	4	5
% Parlaklık (% Brightness)	Partikül boyutu (Particle size)	4.79±0.26 <sup>e</sup>	5.10±0.21 <sup>d</sup>	5.35±0.29 <sup>d</sup>	5.65±0.07 <sup>c</sup>	6.07±0.19 <sup>b</sup>	6.82±0.04 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	1	2	3	0	4	5
Bulanıklık (Turbidity)	Partikül boyutu (Particle size)	1.26±0.13 <sup>d</sup>	1.26±0.10 <sup>d</sup>	1.37±0.04 <sup>c</sup>	1.41±0.03 <sup>c</sup>	1.52±0.04 <sup>b</sup>	1.73±0.06 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	3	5	4	0	2	1
Hue Açısı (Hue Angle)	Partikül boyutu (Particle size)	4.54±1.28 <sup>c</sup>	5.35±1.27 <sup>c</sup>	5.37±0.53 <sup>c</sup>	6.16±0.23 <sup>cb</sup>	7.59±2.03 <sup>b</sup>	9.73±2.63 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	3	0	2	4	1	5
Chroma	Partikül boyutu (Particle size)	10.35±3.19 <sup>c</sup>	15.59±3.56 <sup>cb</sup>	17.32±2.92 <sup>b</sup>	17.67±4.21 <sup>b</sup>	26.48±4.89 <sup>a</sup>	27.73±7.75 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	15	20	25			
Yığın Yoğunluğu (Bulk Density)	Partikül boyutu (Particle size)	44.63±1.24 <sup>b</sup>	45.12±1.24 <sup>b</sup>	47.24±1.41 <sup>a</sup>			
	Süre (Time)	5	4	0	3	1	2
Yığın Yoğunluğu (Bulk Density)	Partikül boyutu (Particle size)	39.24±1.96 <sup>d</sup>	43.70±1.49 <sup>c</sup>	45.72±1.23 <sup>b</sup>	47.44±1.84 <sup>b</sup>	48.54±1.68 <sup>ba</sup>	49.39±1.57 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	15	20	25			
Yığın Yoğunluğu (Bulk Density)	Partikül boyutu (Particle size)	60.60±1.87 <sup>b</sup>	61.70±1.93 <sup>b</sup>	65.62±2.25 <sup>a</sup>			
	Süre (Time)	5	4	0	3	1	2
Yığın Yoğunluğu (Bulk Density)	Partikül boyutu (Particle size)	52.93±3.38 <sup>c</sup>	59.47±2.79 <sup>d</sup>	62.69±2.32 <sup>c</sup>	65.30±3.30 <sup>bc</sup>	67.10±3.37 <sup>ba</sup>	68.42±3.17 <sup>a</sup>
	Süre (Time)	1	0	2	5	3	4
Yığın Yoğunluğu (Bulk Density)	Partikül boyutu (Particle size)	200.00±0.00 <sup>d</sup>	205.27±7.45 <sup>d</sup>	205.27±7.45 <sup>d</sup>	222.22±0.00 <sup>c</sup>	242.65±10.4 <sup>b</sup>	333.33±0.00 <sup>a</sup>
	Süre (Time)						

Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).  
Values in a row followed by different letters are significantly ( $P < 0.05$ ) different.

5 no'lu çayda ortalama toplam renk en yüksek değere (1.73) sahip olmuştur (Çizelge 4). Bu 5 no'lu örneğin TR ve ekstrakt verimi değerleri de diğer örneklerin bu değerlerinden önemli derecede yüksektir. Buradan toplam renk değeri ile ekstrakt verimi ve TR değeri arasında doğrusal bir ilişki olduğu açıkça görülmektedir. Bu durum örneklerin bulanıklık değerleri ile de ilişkilidir. Çizelge 4'den de görüldüğü gibi 5 no'lu çayın bulanıklık değerleri de en yüksek (27.73 NTU) olarak bulunmuştur.

Benzeri ilişkiler Hue ve Chroma değerlerinden de anlaşılabilir ve 5 no'lu çay daha koyu renkli bir dem ile dikkat çekmektedir (Çizelge 4). 1 no'lu çay ise yine bu değerler açısından diğer örneklerden ayrılmıştır. 2 no'lu örnek bu kriterler açısından daha yüksek değerlere sahip olmakla birlikte 1 no'lu örnekle aralarında istatistiksel olarak önemli ( $P > 0.05$ ) bir farklılık bulunmamaktadır.

Örneklerin yığın yoğunluğu diğer bir ifade ile volum ağırlıkları dikkate alındığında ilginç sonuçlar görülmüştür. Çünkü genel olarak çaylarda beklenen, partikül boyutu küçüldükçe volum ağırlığının artmasıdır. Ancak bu çalışmada elde edilen sonuçlar bu yaygın kanaat ile kısmen çelişmektedir. Nitekim 1 no'lu çay en iri partiküllere sahip olarak volum ağırlığı en düşük çay örneği olmuş ve beklenen sonuçlarla uyumlu olmuştur. Ancak partikül boyutu en küçük olan 5 no'lu çayın volum ağırlığı  $222.22 \text{ kg/m}^3$  ile örnekler arasında ortalama bir değere sahip olmuştur. Elde edilen bu sonuçlar örneklerin toplandığı sürgün dönemi, toplama kalitesi, kıvrırma metodu gibi faktörlerle ilişkilidir. Çünkü iyi kıvrılmış bir çay ile pulcuklar halindeki bir çayın aynı partikül boyutunda olmalarına rağmen volum ağırlıkları farklı olabilmektedir. Nitekim örneklerin paçal içerisindeki oranları dikkate alındığında orijinal pazara sunulan çayın (0 no'lu çay) volum ağırlığı beklenen değerlere yakın olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Bütün bu sonuçlar ile pazara sunulan çayın paçalında çok büyük bir olasılıkla yabancı menşeli çayın bulunduğunu, paçala iki farklı yabancı menşeli çayın girdiğini, ya da kendi içerisinde iki temel boyuta sahip bir çayın paçalda kullanıldığı

ve bunların eleme sonucunda elde edilen 1 ve 5 no'lu çaylar olduğu kanaatine ulaşılmıştır.

## SONUÇ

Araştırma sonuçları pazara sunulan paketli çayların harmanında yabancı menşeli çay olup olmadığını araştırma amaçlı olarak bu yöntemin kullanılabilirliğini göstermiştir. Elbette daha net ve kesin sonuçlara ulaşmak için değişik analizler ve yöntemler (orijin testi, indikatör bileşik testleri vb.) de bulunmaktadır. Ancak harmanlanmış çayları partikül boyutlarına göre sınıflandırarak her grubun fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyip karşılaştırmak, bu yöntemler arasında hızlı ve maliyeti düşük sayılabilecek bir yöntem olarak kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

Anonim (2015). Türk Gıda Kodeksi. Çay Tebliği (2015/30). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 17 Haziran 2015 tarih ve 29389 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonim (2018). <http://www.fao.org/faostat> Son erişim tarihi: 11 Aralık 2018.

Basu Majumder, A., Bera, B., Rajan, A. (2010). Tea statistics: global scenario. *Inc. J. Tea Sci*, 8(1): 121-124.

Dincer, C., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Ozdemir, K.S., Cam, I.B., Tontul, I., Gokturk, R.S., Ay, S.T. (2012). A comparative study on phenolic composition, antioxidant activity and essential oil content of wild and cultivated sage (*Salvia fruticosa* Miller) as influenced by storage. *Industrial Crops and Products*, 39: 170-176, doi:10.1016/j.indcrop.2012.02.032.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). Araştırma Ve Deneme Metotları, Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay. (1021).

Gürses, Ö. L., Artık, N. (1987). Çay analiz yöntemleri. Ankara: Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çaykur Yay. Ankara, Türkiye.

Hanay, N. (2011). Farklı ekstraksiyon süre ve sıcaklıklarının çaydan deme geçen fenolik ve alkaloid madde miktarı üzerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 117 s.

- Harbowy, M. E., Balentine, D. A., Davies, A. P., Cai, Y. (1997). Tea chemistry. *Crit Rev Plant Sci*, 16(5): 415-480, doi:10.1080/07352689709701956.
- Haslam, E. (2003). Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*, 64(1): 61-73. doi:10.1016/S0031-9422(03)00355-8.
- ISO, T. 9768 (1997). Su Ekstraktının Tayini. (Son erişim tarihi: 16 Ocak 2019).
- Kumar, R. S. S., Murugesan, S., Kottur, G., Gyamfi, D. (2013). Black tea: The plants, processing/manufacturing and production. *In Tea in health and disease prevention*, 41-57, doi: 10.1016/B978-0-12-384937-3.00004-5.
- Mahanta, P. K., Baruah, S. (1989). Relationship between process of withering and aroma characteristics of black tea. *J Sci Food Agric*, 46(4): 461-468, doi:10.1002/jsfa.2740460408.
- Nchabeleng, L., Mudau, F. N., & Mariga, I. K. (2012). Effects of chemical composition of wild bush tea (*Athrixia phyllicoides* DC.) growing at locations differing in altitude, climate and edaphic factors. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(9), 1662-1666, doi:10.5897/JMPR11.1453.
- Nas, S. Özdemir, F., Ulutaş, F., Gökalp H.Y. (1989). Türk çayları üzerinde yapılan araştırma sonuçlarına göre çay sanayiinin kuruluşlarından bugüne kadar Türk çayı kalitesindeki ilerlemeler. Bursa I. Uluslararası Gıda Sempozyumu. 4-6 Nisan 1989, Bursa, Türkiye. 354-365.
- Obanda, M., Owuor, P. O., Mang'oka, R. (2001). Changes in the chemical and sensory quality parameters of black tea due to variations of fermentation time and temperature. *Food Chem*, 75(4), 395-404, doi: 10.1016/S0308-8146(01)00223-0.
- Owuor, P. O., Obaga, S. O., Othieno, C. O. (1990). The effects of altitude on the chemical composition of black tea. *J Sci Food Agric*, 50(1), 9-17, doi: 10.1002/jsfa.2740500103.
- Özdemir, F. (1992). Farklı kıvrım metotlarının üç sürgün dönemi çayın siyah çaya işlenmesinde uygulanma etkinliği ve üretilen siyah çaylarının bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi, Doktora Tezi, Erzurum, Türkiye, 151 s.
- Özdemir, F., Gokalp, H., Nas, S. (1992). Influence of flushing period, different times within each flushing period and different processing methods on some quality parameters of black tea. *Tea*. 13(2), 138-147.
- Özdemir, F., Gökalp, H., Nas, S. (1993). Effects of shooting period, times within shooting periods and processing systems on the extract, caffeine and crude fiber contents of black tea. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 197(4), 358-362, doi: 10.1007/BF01242061.
- Özdemir, F., Karkacier M. (1997). Bazı siyah ve yeşil çayların kimyasal bileşimi ve ekstraksiyon verimi. *Ekonomik ve Teknik Dergi Standard*. 86-91.
- Özdemir, F., Topuz, A., Erbaş, M. (1999). Ortodoks ve Çaykur yöntemleri ile üretilen farklı sınıf siyah çayların mineral içerikleri. *Türk J Agric For*, 23(Ek 4), 809-816.
- Özdemir, F., Ünal, D., Certel, M. (2000). Harmanlanmamış bazı siyah çayların kurşun ve kadmiyum içeriği. *Gıda/The Journal of Food*, 25(5), 331-336.
- Özdemir, F., Nadeem, H. Ş., Akdoğan, A., Dinçer, C., Topuz, A. (2018). Effect of altitude, shooting period, and tea grade on the catechins, caffeine, theaflavin, and thearubigin of Turkish black tea. *Türk J Agric For*, 42(5), 334-340, doi:10.3906/tar-1710-21.
- Ravichandran, R., Parthiban, R. (2000). Lipid occurrence, distribution and degradation to flavour volatiles during tea processing. *Food Chem*, 68(1), 7-13, doi:10.1016/S0308-8146(99)00143-0.
- Squire, G. R., Obaga, S. M. O., Othieno, C. O. (1993). Altitude, temperature and shoot production of tea in the Kenyan Highlands. *Exp Agric*, 29(1), 107-120, doi:10.1017/S0014479700020457.
- Tajchakavit, S., Boye, J. I., Bélanger, D., Couture, R. (2001). Kinetics of haze formation and factors influencing the development of haze in clarified apple juice. *Food Res Int*, 34(5), 431-440, doi:10.1016/S0963-9969(00)00188-5.

Topuz, A., Dinçer, C., Torun, M., Tontul, I., Nadeem, H. Ş., Haznedar, A., Özdemir, F. (2014). Physicochemical properties of Turkish green tea powder: effects of shooting period, shading, and clone. *Türk J Agric For*, 38(2), 233-241, doi:10.3906/tar-1307-17.

Wang, H., Provan, G.J. Helliwell, K. (2000). Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis. *Trends in Food Sci & Techn*, 11 (4): 152-160, doi:10.1016/S0924-2244(00)00061-3.

Wang, L. F., Lee, J. Y., Chung, J. O., Baik, J. H., So, S., Park, S. K. (2008). Discrimination of teas

with different degrees of fermentation by SPME–GC analysis of the characteristic volatile flavour compounds. *Food Chem*, 109(1), 196-206, doi:10.1016/j.foodchem.2007.12.054.

Williges, U. (2004). Status of organic agriculture in Sri Lanka with special emphasis on tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) production systems, Doctoral dissertation, Ph. D. dissertation, Justus-Liebig-University of Giessen, Germany, 119 p.



## VEGAN VE VEJETARYAN BESLENMEDE PROBİYOTİK BİTKİSEL BAZLI SÜT ÜRÜNLERİNİN YERİ

**Gizem Erk, Ahmet Seven, Aslı Akpınar\***

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, Türkiye

Geliş / Received: 07.08.2018; Kabul / Accepted: 12.02.2019; Online baskı / Published online: 08.05.2019

Erk, G., Seven, A., Akpınar, A. (2019). Vegan ve vejeteryan beslenmede probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri. GIDA (2019) 44 (3): 453-462 doi: 10.15237/gida.GD18083

Erk, G., Seven, A., Akpınar, A. (2019). Feature of plant-based probiotic dairy products in vegan and vegetarian nutrition. GIDA (2019) 44 (3): 453-462 doi: 10.15237/gida.GD18083

### ÖZ

Bilinçli tüketici kavramı doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucunda probiyotik süt ürünleri sağlıklı gıda olarak tüketiciler tarafından daha çok tercih edilmektedir. Tüketicilerin sağlıklı yaşam için besin desteğinin önemini anlaması, hayvanları koruma ve ekolojik olarak dengenin sağlanması gibi sebeplerle beraber vegan ve vejeteryan beslenme tipleri ortaya çıkmıştır. Vejeteryan beslenme tiplerinden semi, lakto-ova vejeteryanlar süt ürünleri tüketirken; ova vejeteryanlar, lakto vejeteryanlar ve veganlar ise hayvan kaynaklı süt ürünleri tüketmemektedirler. Bu beslenme tarzını benimseyen kişiler için ise hayvansal kaynaklardan arındırılmış, tamamen bitki kaynaklı süt ürünlerine ihtiyaç hızla artmıştır. Probiyotik vegan ve vejeteryan ürünlerin geliştirilmesi beslenme ve sağlığa etkilerinin yanısıra bitkisel kaynaktan gelen prebiyotiklerden dolayı sinbiyotik ürün oluşumunu sağlamaktadır. Probiyotik ürünlerin veganlar ve vejeteryanlar tarafından tüketilmesiyle bağışıklık sisteminin direnç kazanması, immünoglobulin üretimi artması, kolon ve karaciğerin temizlenmesi ve kalsiyum emiliminin artması gibi faydaları bulunmaktadır. Bu derlemede bitkisel bazlı sütler ve probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen yoğurtlar ve içecekler, vegan ortamda geliştirilmiş probiyotik kültürler hakkında değerlendirme yapılacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Vegan, vejeteryan, beslenme, probiyotik, süt ürünleri

## FEATURE OF PLANT-BASED PROBIOTIC DAIRY PRODUCTS IN VEGAN AND VEGETARIAN NUTRITION

### ABSTRACT

As a result of studies conducted in line with the conscious consumer concept, probiotic dairy products are preferred by consumers as healthy food. Understanding the importance of nutritional support for healthy lifestyle, protection of animal and the ecological balance has emerged to vegan and vegetarian diet types. While semi and lacto-ovo vegetarians consume dairy products; ovo, lacto vegetarians and vegans don't consume milk products from animal origin. The need for herbal-derived dairy products has increased rapidly for vegan and vegetarian diet. The development of probiotic vegan and vegetarian products enables the formation of synbiotic products due to their nutritional and health effects as well as prebiotics from the plant source. The use of probiotic products by vegans and vegetarians provide to develop resistance of the immune system, increasing the production of immunoglobulin and calcium absorption. In this article, evaluation of plant-based probiotic dairy products in vegan-vegetarian diets are evaluated.

**Keywords:** Vegan, vegetarian, nutrition, probiotic, dairy products

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉ asli.akpinar@cbu.edu.tr

☎ (+90) 236 201 2058

☎ (+90) 236 241 2143

## GİRİŞ

İnsan yaşamının tüm evresinde tüketilen süt makro ve mikro besin öğelerini yeteri düzeyde içeren önemli bir besin kaynağıdır. Özellikle kemik sağlığı açısından büyük bir öneme sahip olan sütün; kanser, hipertansiyon, obezite gibi birçok kronik hastalıklara karşı olumlu etkisi üzerine yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Onurlubaş ve Çakırlar, 2016). Süt ve süt ürünleri bazı önemli mineraller (özellikle fosfor ve kalsiyum), protein, B gurubu vitaminler bakımından zengin bir kaynaktır. Bu nedenle halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Sütte bulunan proteinlerin; kalsiyum emilimi ve immün fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerinin olduğu, kanser ve kan basıncını azalttığı, obezite tedavisinde ve diş çürüklerine karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Pereira, 2014). Büyüme ve gelişmenin yanı sıra; yapısında bulunan ve fizyolojik olarak önemli olan immünoglobulinler, enzimler, enzim inhibitörleri, büyüme hormonları, diğer hormonlar, büyüme faktörleri, antibakteriyel ajanlar gibi protein ve peptit yapıları öğeler ile yağ asitleri, vitamin ve minerallerden dolayı yaşam döngüsü içerisinde birçok önemli özelliğe sahiptir (Mcgregor ve Poppitt, 2013). Yarım litre süt 5 yaşındaki bir çocuğun protein ihtiyacının %40'ını, kalsiyum ve riboflavin ihtiyacının %70'ni, tiamin, folik asit, A vitamini ihtiyacının 1/3'ni, B<sub>12</sub> vitamini ihtiyacının ise tamamını karşılayabilmektedir (Sezgin, 1977).

Dünyada farklı adlarda fakat birbirine çok yakın özellikler gösteren 400'den fazla süt ürünü bulunmaktadır. Süt ürünleri arasında yer alan fermente süt ürünleri birçok ülkede değişik isimlerle ve değişik tür sütlerden üretilmekte ve tüketilmektedir. Söz konusu ürünler, ilk olarak, sütün uzun süre muhafaza edilmesi ve istenilen duyu özellikler kazandırılması amacıyla ortaya çıkmıştır. Sütün starter kültürler tarafından fermente edilmesi ile ürünün raf ömrünü arttıran laktik asit oluşmakta ve ürüne istenilen duyu özellikler ve yapı kazandırılmaktadır (Sezen, 2013). Fermente süt ürünleri ile birlikte sağlık açısından olumlu özellikleri yapılan çalışmalarla desteklenmiş probiyotik mikroorganizmaların kullanılmasıyla tüketicilerin probiyotik fermente süt ürünlerine olan taleplerinde artış meydana

gelmiştir. Probiyotik fermente süt ürünlerinde bulunan laktik asit bakterileri bağırsak florası üzerine olumlu etki yaratarak kanser, kolestrol, diabet, tansiyon, kalp damar rahatsızlıkları gibi bir çok hastalığın engellenmesinde rol oynamaktadır (Kechagia vd., 2013).

Sağlıklı bir yaşam için bağırsak florasının önemi oldukça büyüktür. İnsanların bağırsak florası doğumdan hemen sonra doğum şekli ve çevreden, daha sonra ise annenin beslenme şekli, probiyotik tüketimi gibi faktörlerden etkilenerek hızla mikroorganizmalar ile kolonize olur. Bağırsak florası erişkin ve yetişkin bireylerde denge halindedir. Bu dengenin bozulmasına yiyeceklerle birlikte alınan saprofit ve patojen mikroorganizmalar sebep olabilir. Probiyotik bakterilerin hem sindirim sistemine tutunabilmesi hem de patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe edebilmesi mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı koruyucu ve tedavi edici bir ürün olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Özyurt ve Ötleş, 2014; Abdel-Rahman vd., 2013). Probiyotikler bu yüzden günümüzde büyük öneme sahiptir ve bugün çoğu tükettiğimiz gıdaya eklenecek sağlıklı ürünlerin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (Soomro vd. 2002). Süt ve süt ürünlerini tüketemeyen vejeteryan ve vegan insanlar için bitkisel bazlı sültere ilave edilen probiyotikler ile üretilen ürünler, bu beslenme tarzını seçen insanların ihtiyaçlarını karşılayacaktır.

Vejeteryan diyetler et, kümes hayvanları veya balık içermiyorken, vegan diyetleri bunlara ek olarak süt ürünleri ve yumurtaları da diyetlerinden hariç tutmaktadır. Yapılan araştırmalarda vegan ve vejeteryan beslenme düzenini benimseyen kişi sayısının son 6 yılda %500 oranında artmış olduğu belirtilmektedir (Joyce vd., 2012). Vejeteryan diyetler besin maddeleri açısından genellikle karbonhidratlar, n-6 yağ asitleri, diyet lifi, karotenoidler, folik asit, C vitamini, E vitamini ve Mg bakımından zengin olmakla birlikte; protein, doymuş yağ, omega-3 yağ asitleri bakımından nispeten zayıftır. Vegan diyetler ise B<sub>12</sub> vitamini ve Ca bakımından yetersiz olmaktadır. Vejeteryanlar ve veganlar ile yapılan çalışmalarda, bu beslenme tarzını seçen insanların ortalama olarak düşük

vücut kitle indeksi ve düşük plazma kolesterol konsantrasyonuna sahip oldukları gözlemlenmiştir (Le ve Sabate, 2014).

Son yıllarda vegan diyetin daha sağlıklı bir beslenme düzeni olduğunu savunan çalışmaların artması, hayvansal gıdaların üretiminin neden olduğu çevre kirlilikleri üzerine birçok olumsuz araştırmaların ortaya çıkması, hayvan haklarına olan duyarlılığın artması, gıda trendinin bu yöne çekilmesi ve laktoz intoleransı gibi hayvansal gıdalarda bulunan alerjik reaksiyonların bitkisel türevlerinde bulunmaması nedeniyle vegan diyetini benimseyen kişi sayının hızla arttığı görülmüştür (Vegetarian Society, 2016). Bu derlemenin hazırlanmasındaki amaç; son yıllarda sayısı hızla artan bu beslenme tarzında probiyotik bitkisel bazlı süt ürünlerinin yeri ve önemi hakkında bilgiler vermektir.

### VEGAN VE VEJETERYAN BESLENME

Vegan/vejetaryen beslenme düzeni son yıllarda popüler olsa da, bu iki tip beslenme de çok uzun yıllar önce ortaya çıkmış bir felsefedir. Antik Yunan'da MÖ 500'lü yıllarda, Pythagoras of Samos'ın vejetaryen beslenmeyi destekleyerek hayvansal ürün ve gıdaların tüketilmemesini önerdiği bilinmektedir. Aynı zamanlarda, Siddhārtha Gautama yani Buddha'nın da vejetaryen beslenmeyi benimsediği ve dolayısıyla birçok kitleye bunu yaydığı bilinmektedir. Hinduizm ve Jainizm vejetaryenliği savunarak insanların hayvanları kullanmaya hakkı olmadığına inanmaktadır (Kınıkoğlu, 2015; Son ve Bulut, 2016).

1900'lü yıllarda sayıca yok denecek kadar az olmasına rağmen, ilerleyen zaman içinde batılı ülkelerde yaşayan insanlarda vegan ve vejetaryen beslenme tarzı benimsenmiştir. 1979 yılında Avrupa'da ilk vegan dernek açılarak Avrupa kıtası da vegan/vejetaryen beslenmeyi resmen tanımıştır (Kınıkoğlu, 2015). Günümüzde ise etik, çevreci ve sağlık yaklaşımları ile özdeşleşen vegan yaşam ve beslenme felsefesi kendi içinde de farklılık göstermektedir.

Vejetaryen kelimesi; canlı, sağlıklı ve yaşam dolu anlamına gelen “*vegetus*” Latin kelimesinden

gelmektedir (Tuncay, 2016). Vejetaryenlik, çoğunlukla bitki kaynaklı besin ürünlerinin tüketilmesini içeren bir beslenme tarzıdır (Karabudak, 2008). Uluslararası Vejetaryenler Birliği (IVU), 2011 yılında vejetaryenliği "yalnızca süt ürünleri, yumurta ve bal gibi hayvansal ürünlerin bulunduğu ya da bitkilerden alınan gıda tüketimi" olarak tanımlamıştır (Vegetarian Society, 2016). Vejetaryenler diyetlerinde tahıl, bakla, meyve, sebze, tohum, süt ürünleri ve yumurta tüketirken, kırmızı et, tavuk ve deniz ürünleri (balık, ıstakoz, yengeç ve karides vb.) de dâhil olmak üzere herhangi bir hayvandan elde edilen etleri yememektedirler (Vegetarian Society, 2016).

Veganlar ise hayvan kaynaklı hiçbir ürünü tüketmeyerek sadece bitki kaynaklı besinlerle beslenmektedirler. Tavuktan sağlandığı için yumurtayı, arıdan sağlandığı için balı, süt içerdiği için çikolatayı bile tüketmemektedirler (Karabudak, 2008). Vegan ve vejetaryen beslenme grupları kendi aralarında da diyetlerinde yaptıkları değişikliklerle alt gruplara ayrılmaktadır.

### VEJETERYEN BESLENME TİPLERİ

Vejetaryan beslenme, tüketilen ve sınırlanan besin türlerine göre farklılık göstermektedir.

**Semi Vejetaryen Diyeti:** Diyetlerinde yumurta, süt ve süt ürünlerinde herhangi bir kısıtlama yoktur. Tavuk ve balık etini sınırlı miktarda tüketirken kırmızı et hiç tüketmezler.

**Lakto-ova Vejetaryen Diyeti:** Diyetlerinde semi vejetaryenlerde olduğu gibi yumurta, süt ve süt ürünlerinde herhangi bir kısıtlama yok iken, et ürünlerini hiç tüketmezler. Genel olarak bunun nedeni ölü hayvan etinin yenmesine karşı olmaları ile ilgilidir. Özellikle Hindistan nüfusunun büyük bir kısmı, hayvanların kutsal sayılması nedeni ile Lakto-ova vejetaryendir.

**Ova Vejetaryen Diyeti:** Diyetlerinde yumurta dışında, süt de dâhil olmak üzere hayvansal gıda yoktur.



**Lakto Vejetaryen Diyeti:** Diyetlerinde süt ve süt ürünleri dışında herhangi bir hayvansal gıda yoktur. Yumurta ve et ürünlerini tüketmezler.

**Veganlar:** Diyetlerinde hiçbir hayvansal ürünü tüketmemekle beraber hayvanlardan elde edilen deri, fildişi kolye, boynuzdan yapılan objeler vb ürünleri de kullanmazlar. Veganlar tamamen bitkiler ve bitki kaynaklı gıdalarla beslenirler. Veganlar da kendi arasında alt gruplara ayrılmaktadır.

### VEGAN BESLENME TİPLERİ

**Fruitarian ve Frütist Vegan Diyeti:** Diyetlerinde, sadece botanik özellikleri nedeniyle meyve sayılan domates, biber, salatalık vb. sebzeler ve tüm meyveleri tüketirler.

**Zenmakrobiyotik Vegan Diyeti:** Zenmakrobiyotik veganlar da kendi arasında ikiye ayrılmaktadır. Bir kısım diyetlerinde tahıl, kuru baklagiller, meyve ve sebzeleri tüketirken bir kısmı da meyve ve sebzeyi de tüketmeyerek sadece tahıl ürünlerine diyetlerinde yer verirler.

**Ravist Vegan Diyeti:** Bu diyeti tercih edenler tükettikleri tüm vegan ürünleri çiğ olarak tüketirler. Besinlerin pişirilerek tüketilmesini reddederler (Karabudak, 2008).

### VEJETARYEN BESLENMENİN SAĞLIK AÇISINDAN ETKİLERİ

Vejetaryen beslenmenin sağlık üzerine etkisi ile ilgili yapılan araştırmalar, vejeteryan bir diyetin tedavi amacıyla kullanımının, aşırı kilo tedavisi için etkili olduğunu ve aynı amaç için alternatif omnivor (hem hayvansal hem de bitkisel yiyecekleri yiyenler) diyetlerden daha iyi performans gösterebileceğini belirtmektedir. Cramer vd. (2017) yaptıkları çalışmada, 12 ay boyunca vejeteryan ve vegan diyeti yapan kişilere uyguladıkları anket neticesinde, katılımcıların %75.4'ü vejeteryan ve vegan diyeti genel sağlık sorunları ve hastalıkları önlemesinden dolayı, %57.6'sı enerjilerini geliştirmek için %23'ü gibi az bir kesimi ise atletik ya da spor performansını artırmak için tercih ettikleri cevabını vermiştir. Yüksek kolesterol, aşırı kilo, hipertansiyon ve diyabet gibi sağlık sorunlarının engellenmesinde

yardımcı olması ve bu beslenme tarzının doğal olduğunu düşünmeleri, tüketicilerin vejeteryan diyetlerini tercih etmelerinin başlıca sebepleri arasında yer almaktadır.

Tüm vejeteryan diyet tiplerinin önemli bir bölümünü oluşturan sebze ve meyve tüketiminin kardiyovasküler sistem üzerinde faydalı etkileri vardır. Bitki kaynaklı gıda maddeleri (elma, soğan, brokoli, çilek, zeytin, marul, domates, kırmızı biber, greyfurt vb.) vücut için çoklu antioksidanlar sağlar. Bunların en aktif olanları arasında antioksidan vitaminler (a-tokoferol, askorbik asit), flavonoidler ve karotenoidler (likopen, lutein,  $\beta$ -karoten, kriptoksin, zeaksantin) bulunur. Biyolojik aktiviteleri LDL kolesterolün oksidasyonunu inhibe etmeye, HDL kolesterolü artırmaya ve dolaşımdaki total kolesterol konsantrasyonlarını azaltmaya dayanır. Böylelikle, damar sertliği oluşum riski azalır (Fuchs-Tarloysky, 2013). Koroner kalp hastalıkları için toplam ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeyleri, vücut ağırlığı ve vücut yağları gibi faktörler risk oluşturmaktadır. Bu risk oluşturan faktörleri ortadan kaldırmak için kolesterol düşürücü ilaçların kullanımına alternatif olarak vejeteryan beslenme ile iyileşme sağlanacağı belirtilmektedir (Melina vd., 2016).

Vejeteryan diyetle yüksek miktarda alınan karbonhidrat, doymuş yağ asitlerinin miktarını azaltarak vücut için faydalı olabilir; bu da lipit metabolizmasının ve düşük kan basıncının korunmasına neden olur ve arterioskleroz, koroner kalp hastalığı, tip 2 diyabet ve metabolik sendromun insidansını azaltır (Pilis vd., 2014).

Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda düzenli olarak meyve, sebze, baklagiller veya tam tahıl tüketiminin belirli kanser risklerinin azalması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sebzelerde bulunan sülforafan, ferulik asit, genistein, indol-3-karbinol gibi çok çeşitli fitokimyasallar, baklagillerde, meyvelerde, baharatlarda ve kepekli tahıllarda bulunan curcumin, epigallocatechin-3-gallate, dialildisülfid, resveratrol, likopen ve kersetin, kansere karşı koruma sağlayabilmektedir. Bu fitokimyasalların bir dizi hücreye müdahale ederek kanserin ilerleme sürecinde etkili olduğu

belirtilmektedir (Melina vd., 2016). Sağlığa olumlu özelliklerinin yanısıra bilinçsiz bir şekilde uygulanan vejetaryan diyetlerde görülen başlıca sorun, B<sub>12</sub> vitamini eksikliğidir. B<sub>12</sub> vitamini eksikliği kandaki homosistein düzeylerinde bir artışa neden olarak, kardiyovasküler hastalığa yakalanma riskini arttırmaktadır (Pilis vd., 2014). B<sub>12</sub> vitamini yetersizliği aynı zamanda anemiye neden olup, sinir sisteminde kalıcı hasarlar oluşturmaktadır. Vejetaryan ve vegan beslenmeye kemik gelişimi çağında başlayan çocuk ve gençlerde süt ve süt ürünlerinin yetersiz tüketilmesi sonucu kemik rahatsızlıkları görülmektedir (Karabudak, 2008).

Vegan diyetleri, çoklu doymamış yağ asitleri, diyet lifi, C ve E vitaminleri, folat, magnezyum, demir ve bakır bakımından zengindir. Vejetaryanların diyetinde ise B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> ve D vitaminleri, iyot ve kalsiyum en düşük dozlara sahiptir. Vejetaryen ve özellikle vegan diyetlerinin, yüksek lif içeriğine ve elverişli yağ asitleri bileşimine dayanarak, kardiyometabolik hastalıklara karşı en çok koruyucu oldukları belirtilmiştir (Sobiecki vd., 2016). Vejetaryan ve vegan diyeti ve türlerini uygularken bilinçli olunmalı; dışarıdan takviye

olarak protein, B<sub>12</sub> vitamini, kalsiyum, demir, çinko, iyot ve D vitamini alınmalıdır.

### VEGAN/VEJETARYEN BESLENMEDE PROBİYOTİKLER

Probiyotik, köken olarak Yunancadan gelen ve 'yaşam için' anlamına gelen bir kelimedir (Çelikel vd., 2018). Ferdinand Vergin'in 1954 yılında bazı mikroorganizmaların bağırsak florası üzerindeki yararlı etkiler gösterdiğine dair gözlemlerinin yer aldığı makalesinde probiyotiklerden ilk kez bahsedilmiştir (Sarowska vd., 2013). 20. yüzyılda ise probiyotik bakteriler; 'Yeterli miktarda bulunduğu konakçıya sağlık açısından yarar sağlayan canlı mikroorganizma' olarak tanımlanmaktadır (Behnsen vd., 2013). Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürün probiyotik nitelik taşıması için belirli kriterlere uygunluk göstermesi gerekmektedir (Çizelge 1). Bu mikroorganizmalar çoğunlukla yoğurt, fermente içecekler ve kefir formunda tüketilir (Özer ve Kırmacı, 2010; Ceyhan ve Alıç, 2012). Sağlık üzerine olumlu etkilerin bilimsel araştırmalarda ilk olarak Laktobasiller üzerinde saptanmasından dolayı günümüzde en popüler probiyotikler Laktobasiller'dir (Ouweland vd., 2002).

Çizelge 1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalarda aranan özellikler

Özellik	Kaynak
- Güvenilir olmalı, kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.	
- Stabil olmalı, düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.	Fijan, 2014;
- Kanserojenik ve patojenik bakterilere antagonist etki göstermelidir.	Ashraf ve Shah, 2014;
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.	Delikanlı ve Özcan, 2014;
- Antibiyotiklere dirençli olmalıdır.	Vitetta vd., 2014
- Gıdalara ilave edildiğinde kaliteyi düşürmemelidir.	
- Bağırsak mukozasına tutunabilme yeteneğine sahip olmalıdır.	

Başta fermente süt ürünleri olmak üzere, turşu, kefir, kıymız, ekmek, bira, şarap zengin probiyotik içeren gıda maddeleridir (Nielsan vd., 2014; Uymaz, 2010). Vücuda alınan probiyotiklerin mideden geçerek bağırsak florasına canlı olarak ulaşması için gıda maddesinde en az 10<sup>6</sup> KOB/g probiyotik bakteriye ihtiyaç vardır (Argyri vd., 2013). Bu sayıya ulaşamayan gıdalar probiyotik olarak kabul edilmez ve bağırsak florasına

ulaşamadığından, sağlık üzerine olumlu etkileri çok azdır. Probiyotik bakteriler mide asitliğine diğer bakterilere göre daha dayanıklıdır. Safra tuzuna ve lizozim enzimine daha dirençlidir. Probiyotik bakteriler laktik asit, asetik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üreterek, bağırsaklarda istenmeyen mikroorganizmaların çoğalma hızını kontrol ederler (Fijan, 2014).

Probiyotik bakterilerin intestinal flora üzerine olumlu etkileri uzun zamandır çalışılan bir konudur (Laurens-Hattinh ve Viljoen, 2001). Probiyotiklerin fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için ince bağırsakta günlük olarak en

az  $10^8$  - $10^9$  canlı bakteri bulunması gerektiği düşünülmektedir (Gürsoy ve Kınık, 2006). Probiyotik etkiyi sağlayan miktarda alınacak olan probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerine etkileri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Probiyotiklerin tüketici sağlığı üzerindeki etkileri.

Etki	Kaynak
Laktoz intoleransı hastalarının semptomlarının azaltılması ya da tamamen iyileştirme	Heyman ve Menard, 2002
<i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonları üzerine azaltıcı etki göstermesi	Zhang vd., 2015
Crohn Hastalığı lezyonlarının tekrarlanmasını engelleyici etki	Fedorak, 2015
Poşitis hastalığının tedavisinde	Guslandi, 2015
Rahatsız Bağırsak Sendromunun tedavi edilmesinde	Tachon vd., 2014; Kerry vd., 2018
Kanser oluşma riskini azaltıcı	Redman vd., 2014; Vidya ve Thirunelakandan, 2015
Kolestrolü düşürücü etki	Laures-Hattinh ve Viljoen, 2001
Obeziteyi önleyici etki	Kobyliak vd., 2016

## BİTKİSEL BAZLI PROBIYOTİK ÜRÜNLER

Teknolojik olarak veganlar ve vejeteryanlar tarafından tüketilebilen sütler, suda çözülmüş bitki ikamesi ve parçalanmış bitki materyalini içeren süspansiyonlar olup, görünüş olarak inek sütünü andırmaktadır (Mäkinen vd., 2015). Bitki kaynaklı sütler mineral, vitamin, diyet lifleri ve antioksidanlar gibi sağlığa yararlı biyoaktif bileşenler bakımından zengin olduklarından dolayı fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler olarak kabul edilmektedir (Das vd., 2012). Bitkisel kaynaklardan elde edilen sütlere probiyotik mikroorganizmalar eklenerek üretilen fermente içecek, yoğurt ve peynir gibi süt ürünleri, vegan ve vejeteryan tüketiciler için alternatif olmaktadır. Ancak, vegan ve vejeteryan beslenmede eklenecek olan probiyotik mikroorganizmaların kaynağı oldukça önemlidir. Öncelikli olarak bu mikroorganizmaların bitkisel kaynaklardan elde edilmiş olması gereklidir. Probiyotik vejeteryan gıdalarda bulunan inokulum da dâhil olmak üzere, hayvan kaynaklı bileşikler içermemelidir (Pathak ve Martirosyan, 2012).

Probiyotik starter kültürler geliştirildikten sonra süt veya et türevi maddeleri içeren ortamlarda muhafaza edilir. Bu ürünler vejeteryan ürünlerde kullanılamaz. Vejeteryan ürünlerinin hayvan türevli içeriklerden arındırılmış olması gerekmektedir. Pathak ve Martirosyan (2012) yaptıkları çalışmada, vejeteryan gıdalarda kullanılacak olan probiyotik bakteriler için bitkisel bir gelişme ortamı oluşturmuşlar ve *Lactobacillus lactis* suşunu sığır özü, pepton ve maya özütü yerine bitkisel besin kaynağı olarak maş fasulyesi, mercimek, nohut, yer fıstığı, bengal fasulyesi ve buğday bulunan MRS agarda geliştirmişlerdir. Bitkisel kaynaklar 45°C'de kurutulup toz hale getirildikten sonra kültür ortamına inoküle edilerek 37°C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Deney sonuçlarına göre, mercimek tohumu tozu içeren kültür ortamı diğer kültür ortamlarına kıyasla koloni oluşturan birimlerin gelişmesi için en verimli kaynak olarak bulunmuştur.

İnek sütüne karşı laktoz intolerans ve alerjik reaksiyon nedeniyle hassasiyet gösteren bireyler için de, bitkisel bazlı süt kullanılarak üretilen ürünler inek sütü kullanılarak üretilen ürünlere

alternatif oluşturmaktadır. Soya sütü insan beslenmesinde inek sütüne en iyi alternatif olarak görülmektedir. Fakat soyadan gelen fasulyemsi lezzet ve bazı besin öğelerinin eksikliği nedeniyle, son zamanlarda fermentasyonda badem sütünün kullanımına ilgi artmıştır (Vanga ve Raghavan, 2018). Bernat vd. (2014) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus reuteri* ve *Streptococcus thermophilus* ile fermente ettikleri badem sütünün viskozitesinde artış meydana gelmesiyle birlikte probiyotik mikroorganizmanın  $>10^7$  KOB/mL olduğunu belirtmişlerdir. Sinbiyotik ürünlerde bulunan prebiyotikler, sağlığa yararlı etkiler sağlamasıyla birlikte son ürünün viskozitesinde artış sağlayarak yarattığı sinerjik etki vasıtasıyla, ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında probiyotik mikroorganizmaların canlılığına olumlu yönde katkı sağlamaktadır. He ve Hekmat (2014), süt içermeyen probiyotik içeceklerde 28 günlük bir depolama süresi boyunca *Lactobacillus rhamnosus* GR-1'in ürün içerisinde canlılık süresi ile birlikte ürünleri görünüm, tutarlılık, lezzet, doku ve genel kabul edilebilirlik bakımından değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda bütün ürünlerde, probiyotik etkinin sağlanması için gerekli sayısının depolama boyunca sağlanmış olduğu görülmüştür. Aynı zamanda duyusal değerlendirme sonucunda, probiyotik badem içeren yoğurdun, tutarlılık, lezzet, doku ve genel kabul edilebilirlik ölçüleri bakımından en fazla sevilen olduğunu ortaya koymaktadır. Vejetaryenler ve laktoz intoleransı olan bireyler için probiyotik badem içecekleri bu pazar için potansiyel oluşturabilir.

Probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde bitkisel bazlı sütlerin kullanılması, beslenme ve sağlığa yararlı etkilerinin yanısıra içeriğinde bulunan prebiyotiklerden dolayı, sinbiyotik bir ürün oluşumunu da sağlamaktadır. Jayarathna vd. (2014), yaptıkları çalışmada %0,2 agar agar içeren soya sütünü, yoğurt starterleri ve *Lactobacillus acidophilus* + *Bifidobacterium* spp.'leri kombine ederek fermente etmiştir. Yapılan duyusal değerlendirme sonucunda, sadece yoğurt starter kültürleri ve *Bifidobacterium* spp. kullanılarak üretilen soya yoğurtlarının lezzet ve doku bakımından beğenildiği ve iki haftalık süreç içerisinde probiyotik bakteri sayısının inek sütü ile yapılan yoğurtlardan daha yüksek olduğu tespit

edilmiştir. Probiyotik bakteri sayısının yüksek olmasının sebebinin soyanın içeriğinde bulunan oligosakkaritlerden kaynakladığı belirtilmiştir. Bitki kaynaklı sütlerde bulunan doğal antioksidan maddeler ve prebiyotikler bu ürünlerin yapısının oluşumunda katkı sağlayan probiyotik mikroorganizmalar için teşvik edici rol oynamaktadır.

Vegan ve vejetaryan beslenme tarzına uygun, duyusal açıdan kabul edilebilir formülasyonlar oluşturmak adına yapılan çalışmalar son yıllarda hızlı bir şekilde artarak, bu beslenme tarzının kısıtlı olan pazarına geniş bir yelpaze kazandırmayı amaçlamaktadır. Chavan vd. (2018), yaptıkları çalışmada çimlenmiş ve çimlenmemiş arpa, parmak darı ve güve fasulyesi tohumları kullanılarak probiyotik içecekler geliştirmişlerdir. Çimlendirilmiş ve çimlendirilmemiş tohumlar şeker ve kakule ile karıştırılarak, farklı konsantrasyonlarda (0, 2, 4, 6 ve 8 g) damıtılmış suya, soya, badem ve hindistancevizi gibi sültere eklemiş ve *Lactobacillus acidophilus* ile fermente edilmiştir. Duyusal değerlendirmede hindistan cevizi sütü bazlı probiyotik içeceğin su, soya sütü, badem sütü probiyotik içeceğinden daha fazla kabul edilebilir olduğu tespit edilmiştir. Farklı şekillerde ilave edilen ve ürünlere fonksiyonel özellik kazandıran besin öğeleri, ürünlerin kabul edilebilirliğini arttırdığı gibi sağlık üzerine de olumlu yönde etkiler sağlamaktadır.

### SONUÇ

Son yıllarda vegan diyetin daha sağlıklı bir beslenme düzeni olduğunu savunan çalışmaların artması, hayvansal gıdaların üretiminin neden olduğu çevre kirlilikleri üzerine birçok olumsuz araştırmaların ortaya çıkması, hayvan haklarına olan duyarlılığın artması bu diyeti benimseyen kişi sayısının hızla artışına sebep olmuştur. Bu nedenle, vegan diyetinde tüketilemeyen hayvansal süt ve süt ürünlerine alternatif olarak bitkisel bazlı süt ve süt ürünlerinin öneminin arttığı görülmektedir. Yapılan çalışmalara bakıldığında, probiyotik kültürün bile hayvansal katkı içermeyen besi ortamında çoğalabilmesi bitkisel bazlı probiyotik sülterin vegan ve vejetaryanlar tarafından tüketilmesinin mümkün olacağı görülmektedir. Probiyotik bitkisel sülterin probiyotik inek sütüne

oranla daha çok probiyotik mikroorganizma içerdiği görülmüştür. Vegan ve vejeteryanlarda görülen B<sub>12</sub> vitamini ekliliğini gidermek adına da B<sub>12</sub> ilave edilmiş probiyotik bitkisel sütlerin tüketilmesinin son derece sağlıklı olacağı öngörülmektedir. Bu alanda daha çok uygulamalı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR

Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol Adv*, 31:877–902.

Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A., Tsakalidou, E., Nychas, G. J., Panagou, E. Z., Tassou, C.C. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by *in vitro* tests. *Food Microbiol*, 33:282–291.

Ashraf, R., Shah, N.P. (2014). Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 54:938–956.

Behnsen, J., Deriu, E., Sassone-Corsi, M., Raffatellu, M. (2013). Probiotics: Properties, examples, and specific applications. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3.

Bernat, N., Cháfer, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2014). Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond milk and inulin. *Food Res Int*, 21(6): 440–453.

Ceyhan, N., Alıç, H. (2012). Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Derleme*, 5(1): 107-113.

Chavan, M., Gat, Y., Harmalkar, M., Waghmare, R. (2018). Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT - Food Sci Technol*, 91: 339–344.

Cramer, H., Kessler, C.S., Sundberg, T., Leach, M.J., Schumann, D., Adams, J., Lauche, R. (2017). Characteristics of Americans choosing vegetarian and vegan diets for health reasons. *J Nutr Educ Behav*, 49: 561-567.

Çelikel, A., Göncü, B., Akın, M.B., Akın, M.S. (2018). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörler. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2): 59-68.

Das, A., Chaudhuri, U. R., Chakraborty, R. (2012). Cereal based functional food of Indian subcontinent. *J Food Sci Technol*, 49: 665-672.

Delikanlı, B., Özcan, T. (2014). Probiyotik içeren yenilebilir filmler ve kaplamalar. *U.Ü. Zir Fak Derg*, 28: 59-70.

Fedorak, R.N., Feagan, B.N., Hotte, N., vd. (2015). The probiotic VSL# 3 has anti-inflammatory effects and could reduce endoscopic recurrence after surgery for Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 13(5): 928–935.

Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health*, 11: 4745–4767.

Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29: 15–21.

Guslandi, M. (2015). Role of probiotics in Crohn's disease and in pouchitis. *J Clin Gastroenterol*, 49: 46–49.

Gürsoy, O., Kınık, Ö. (2006). Peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı: Probiyotik peynir. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 12(1): 105-116.

He, S., ve Hekmat, S. (2014). Sensory evaluation of non-dairy probiotic beverages. *Food Res Int*, 4(1): 186.

Heyman, M. ve Menard, S. (2002). Probiotic microorganisms how they affect intestinal patophysiology. *Cell Mol Life Sci*, (59): 1151.

Jayarathna, B.G.S., Jayawardana, B.C., Vidanarachchi, J.K., Liyanage, R. (2014). Development of probiotic vegan yoghurt. Proceedings of the Peradeniya Univ. *International Research Sessions Sri Lanka*, 18:225.

Joyce, A., Dixon, S., Comfort, J., Hallett, J. (2012) Reducing the environmental impact of dietary choice: perspectives from a behavioural and social change approach. *J Environ Publ Health*. 2012: 978672.

Karabudak, E. (2008). Vejeteryen Beslenmesi. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 726, Klasmat Matbaacılık, Ankara, s. 48. ISBN: 978-975-590-242.

- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakiri, E.M. (2013). Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr.* -2013:481651.
- Kerry, G.K., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S., Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *J Food Drug Anal* 26: 927-939.
- Kınıkoğlu, M. (2015). *Vegan Beslenme*. 1. Baskı, Oğlak Yayıncılık, İstanbul, 2015, s. 74. ISBN: 9753298902.
- Kobyliak, N., Conte, C., Cammarota, G., Haley, A.P., Styriak, I., Gaspar, L., Fusek, J., Rodrigo, L., Kruzliak, P. (2016). Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view. *Nutr Metab (Lond)*, 13:14.
- Laurens-Hattin, A. ve Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*, 11: 1-17.
- Le, L.T., Sabaté, J. (2014). Beyond meatless, the health effects of vegan diets: Findings from the adventist cohorts. *Nutrients* 6(6): 2131–2147.
- Makinen, O.E., Wanhalinna, V., Zannini, E. vd. (2015). Foods for special dietary needs: non-dairy plant based milk substitutes and fermented dairy type products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56: 339–349.
- McGregor, R.A., Poppitt, S.D. (2013). Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence. *Nutr Metab (Lond)*,10:46.
- Melina V, Craig W, Levin S. (2016). Position of the academy of nutrition and dietetics: vegetarian diets. *J Acad Nutr Diet*, 116: 1970–1980.
- Nielsen, B., Gürakan, G. C., Unlu, G. (2014). Kefir: a multifaceted fermented dairy product. *Probiot Antimicrob Proteins*, 6: 123-135.
- Onurlubaş E. ve Çakırlar, H. (2016). Tüketicilerin süt ve süt ürünleri tüketimini etkileyen faktörlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Çankırı Karatekin Üniversitesi SBE Dergisi*, 7(1): 217-242.
- Ouweland, A.C., Salminen, S., Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Leeuwenhoek*, 82: 279.
- Özer, B.H. ve H.A. Kirmaci. (2010). Functional milks and dairy beverages. *Int J Dairy Technol*, 63(1): 1-15.
- Özyurt, V. H., ve Ötleş, S. (2014). Prebiyotikler: Metabolizma için önemli bir gıda bileşeni. *Akademik Gıda*, 12(1): 115-123.
- Pathak, M., Martirosyan, D. (2012). Optimization of an effective growth medium for culturing probiotic bacteria for applications in strict vegetarian food products. *Funct Foods Health Dis*, 2(10): 369-378.
- Pereira, P.C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30: 619–627.
- Pilis, W., Stec, K., Zych, M., Pilis, A. (2014). Health benefits and risk associated with adopting a vegetarian diet. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 65(1): 9-14.
- Redman, M. G., Ward, E. J., Phillips, R. S. (2014). The efficacy and safety of probiotics in people with cancer: a systematic review. *Ann Oncol*, 25: 1919–1929.
- Sarowska, J., Choroszy-Król, I., Regulska-Ilow, B., Frej-Mądrzak, M., Jama-Kmieciak, A. (2013). The therapeutic effect of probiotic bacteria on gastrointestinal diseases. *Adv Clin Exp Med*, 22: 759–766.
- Sezen, A.G. (2013). Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8 (3): 248-258.
- Sezgin, E. (1977). UHT yöntemiyle işlenmiş sterilize sütün besin değeri. *GIDA*, Sayı:4-5, sf:165-170.
- Sobiecki, J.G., Appleby, P.N., Bradbury, K.E., Key, T.J. (2016). High compliance with dietary recommendations in a cohort of meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Oxford study. *Nutr Res*, 36: 464-477.
- Son, G. Y. T. ve Bulut, M. (2016). Vegan and vegetarianism as a life style. *Journal of Human Sciences*, 13(1): 830-843.

- Soomro, A.H., Masud, J. ve Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health. *Pak J Nutr*, 1(1):20–24.
- Tachon, S., Lee, B., Marco, M.L. (2014). Diet alters probiotic *Lactobacillus* persistence and function in the intestine. *Environ Microbiol*, 16: 2915–2926.
- Tuncay, G. Y. (2016). Veganism in terms of bioethics from different viewpoints, *Journal of Current Researches on Health Sector*, 6(1): 51-62.
- Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve kullanım alanları. *Pamukkale Üniv.. Müh. Bilim Derg*, 16:(1): 95-104.
- Vanga, S. K., Raghavan, V. (2018). How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *J Food Sci Technol*, 55(1):10–20.
- Vegetarian Society, (2016). Retrieved from <https://www.vegsoc.org>, Accessed date: 25 September 2016.
- Vidya, S., Thiruneelakandan. G. (2015). Probiotic potentials of *Lactobacillus* and its anti-cancer activity. *Int J Curr Res*, 7: 20680- 20684.
- Vitetta, L., Briskey, D., Alford, H., Hall, S., Coulson, S. (2014). Probiotics, prebiotics and the gastrointestinal tract in health and disease. *Inflammopharmacology*, 22: 135-154.
- Zhang, M.M., Qian, W., Qin, Y.Y., He, J., Zhou, Y.H. (2015). Probiotics in Helicobacter pylori eradication therapy: a systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol*, 21: 4345–4357.

## ISOLATION OF PHAGES INFECTING *LISTERIA MONOCYTOGENES*

**Pınar Şanlıbaba<sup>1\*</sup>, Başar Uymaz Tezel<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ankara University Engineering Faculty, Department of Food Engineering, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart University Bayramiç Vocational School, Food Technology Program, Çanakkale, Turkey

Received / Geliş: 04.02.2019; Accepted / Kabul: 21.04.2019 Published online / Online baskı: 10.05.2019

Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B. (2019). Isolation of phages infecting *Listeria monocytogenes*. GIDA (2019) 44 (3): 463-471 doi: 10.15237/gida.GD19036

Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B. (2019). *Listeria monocytogenes* spesifik fajların izolasyonu. GIDA (2019) 44 (3): 463-471doi: 10.15237/gida.GD19036

### ABSTRACT

It was aimed to isolate, purify and determine host ranges of lytic phages that infect *Listeria monocytogenes* in this study. Out of 68 samples screened, 4 positive isolates were recovered from feces, food processing waste water, fisheries waste water, and fish samples. Recovery status of the *L. monocytogenes* phage was found to be 5.88%. To determine host ranges of phages, soft agar overlay plaque assay was used. While eleven *L. monocytogenes* strains showed resistant to all four isolated phages, 24 strains were sensitive. The plaque sizes of the 4 phages against 24 *L. monocytogenes* strains ranged from 0.4 and 2.6 mm. None of the phages had identical host ranges.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Phage, Isolation, Host Range, Susceptibility

### *LISTERIA MONOCYTOGENES* SPESİFİK FAJLARIN İZOLASYONU

#### ÖZ

Bu çalışmada *Listeria monocytogenes*'i enfekte eden litik fajların izole edilmesi, saflaştırılması ve konakçı etkinliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Toplamda 68 örnek taranmış ve dışkı, gıda işleme atık suları, balıkçılık atık suları ve balık örneklerinden 4 pozitif izolat elde edilmiştir. Faj varlığı bakımından taranan örneklerin % 5.88'inde *L. monocytogenes* fajı izole edilmiştir. Faj konakçı etkinliğinin belirlenmesi amacıyla, çift tabaka agar yöntemi kullanılmıştır. 11 *L. monocytogenes* suşu denenen dört faja karşı dirençli bulunurken, 24 suşa ise duyarlılık saptanmıştır. Dört fajın 24 *L. monocytogenes* suşuna karşı oluşturduğu faj plak çapı ise 0.4 ve 2.6 mm arasında değişmiştir. Hiçbir faj birbiri ile aynı konakçı etkinliği göstermemiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Listeria monocytogenes*, Faj, İzolasyon, Konakçı Etkinliği, Duyarlılık

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉sanlibab@ankara.edu.tr

☎(+90) 312 203 3300/3617

☎(+90) 312 317 8711



## INTRODUCTION

*Listeria monocytogenes* is a Gram (+), rod-shaped facultative anaerobic foodborne bacterium. *L. monocytogenes* has been isolated from soil, rivers, water, silage, animal, plants, the intestinal track of many mammals, and food sources (Gutierrez et al., 2017; Yang et al., 2017). This organism has ability to survive and grow in different adverse environmental conditions, such as low temperature, high salt content, low oxygen levels, and acidic conditions (Perera et al., 2015). Foods can be contaminated with *L. monocytogenes* during fermentation, processing, storage, or even packaging of foods. Ready to eat foods (RTE), dairy products, different types of meats, smoked fish, and sea foods are risky foods in terms of *L. monocytogenes* (Carlton et al., 2005; Lacumin et al., 2016).

It has been associated with a number of serious foodborne outbreaks. It has been reported that listeriosis, caused by *L. monocytogenes*, has a low incidence but high morbidity and mortality (up to 40%) (Sadekuzzaman et al., 2017). The disease is most frequently clinically manifested as septicemia, meningitis or meningoencephalitis, central nervous system infection, and fetomaternal infections. Persons over the age of 65, young persons, pregnant women, and immunocompromised individuals account for approximately 75% of these infections (Klumpp and Loessner, 2013; Perera et al., 2015). In 2014, 675 listeriosis cases were reported, caused by 543 hospitalizations and 462 deaths (CDC, 2019). Additionally, the last report from European Food Safety Authority (EFSA) informed that the frozen corn outbreak in 2018 caused 47 cases including 9 deaths (EFSA, 2019).

Bacteriophages (also called phage) were first discovered in 1915 by William Twort, and in 1917 by Felix d'Herelle (Coffey et al. 2010; Clokie et al. 2011). Phages can be lytic or lysogenic. The lytic life cycle is where phages are able to infect and rapidly kill their infected host cells without integrating with the host DNA. A large number of progeny phages are released and then, they able to infect neighboring host cells (Soni and Nannapaneni, 2010; Lone et al., 2016). However,

lysogenic life cycle in contrast to lytic cycle is where phages integrate into their host genome, or exist as plasmids within their host cell. It has been reported that lysogenic life cycle can be stable for thousands of generations (Sulakvelidze, 2013).

*Listeria* phages can be isolated from several of sources by the soft agar overlay method. Sewage plants, silage, food processing environments, foods we eat and even from lysogenic strains can be listed as phage isolation materials. Phages are also normal commensals of humans and animals. They are especially abundant in the gastrointestinal tract (Carlton et al., 2005; Soni et al., 2010). The first *L. monocytogenes* specific phage was published in 1945 (Kim et al., 2008). To date, more than 500 listerial phages have been isolated, while only a limited number has been fully characterized on molecular and genomic level (Hagens and Loessner, 2014). Phages have been found in all major *Listeria* species and serovars. However, no phages for *L. monocytogenes* serovar 3 or *L. grayii* strains or the newly proposed species *L. rocourtii* and *L. marthii* have yet been found. All *Listeria* specific phages, found to date, are the members of the *Caudovirale* (tailed phages) which includes *Myoviridae* (long, inflexible contractile tails), *Siphoviridae* (long, flexible non contractile tails), and *Podoviridae* (short non contractile tails). Although members of both the *Siphoviridae* and *Myoviridae* are common, no *Podoviridae* infecting *Listeria* has yet been found and reported (Klumpp and Loessner, 2013). Many lysogenic *Listeria* strains carrying multiple prophages are determined. Exposure to DNA-damaging agents such as UV light or Mitomycin C can induce the lytic cycle, and also lead to production of infective phage. Temperate *Listeria* phages generally display narrow host ranges, infecting only a small percentage of strains. It is also noteworthy that the temperate phages of *Listeria* appear to be largely serovar-specific (Hagens and Loessner, 2014).

Phages can be regarded as natural predators of bacteria (Carlton et al., 2005; Lacumin et al., 2016). Therefore, phages have been used effectively to control several foodborne pathogens, such as *L. monocytogenes*, *Escherichia coli*

O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, and *Bacillus cereus* (Guenther et al., 2009; Soni et al., 2010; Akhtar et al., 2017). As of now, two *Listeria* specific phage products are commercially available: ListShield™ (Intralytix Inc, USA) and Listex™ P100 (Microcos Food Safety). These commercial phage preparations have been used for direct food application in different countries including the United States of America, Europe, Canada, and Australia (Yang et al. 2017). Listex™ P100 that is a broad host range myovirus was isolated from a sewage effluent sample taken from a dairy plant in Germany (Carlton et al., 2005). This phage was granted Generally Recognized as Safe (GRAS) status by Food and Drug Administration (FDA) and United States Department of Agriculture (USDA) in 2007 for use in all food products such as cheese, ready to eat meats and poultry, fruits, vegetables, and smoked fish. Listex™ P100 can be used either alone or in combination with a growth limiting antimicrobial (Hagens and Loessner, 2014). Another product is termed ListShield™. ListShield™ (formerly known as LMP-102™) was the first commercial phage preparation approved by FDA and the Environmental Protection Agency. It has also been approved in Canada and Israel. This product is composed of a mixture of six natural and safe phages. This phage cocktail can be used on food and surfaces in food production facilities (Gutierrez et al., 2017; Roy et al., 2018).

Several studies (Özkan et al., 2016; Sağlam et al., 2017; Ata, 2018; Uğur and Öner, 2018; Yıldırım et al., 2018) have been conducted to isolate the phage efficacy against foodborne-pathogen in Turkey. To the best of our knowledge, there is no information about listerial phage isolation in Turkey. The objective of the present study, therefore, was to isolate, and purify lytic phages infecting *L. monocytogenes* and determine their host ranges.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling

A total of 68 samples were collected from different sources from Ankara and Çanakkale. The samples were transported to the laboratory

under cold conditions on the sampling day and analyzed immediately.

### Bacterial Strains and Culture Conditions

Thirty-five *L. monocytogenes* strains isolated from RTE foods previously described by Şanlıbaba et al. (2018) and the reference strain (*L. monocytogenes* ATCC 7644) were obtained from the culture collection of Food Microbiology Culture Collections, Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ankara University, Ankara, Turkey. Bacteria were routinely culture at 35 °C in Tryptic Soy Broth supplemented with 0.6% of yeast extract (TSB-YE) (Sigma, Germany). The *Listeria* spp. was stored at -20 °C with 30% (v/v) glycerol (Merck, Germany).

### Isolation of *Listeria monocytogenes* Specific Phages

To isolate *L. monocytogenes*-specific phages, 68 samples were collected from Ankara and Çanakkale. Phage isolation samples were divided into two groups in this study. First of all, liquid samples were only centrifuged at 6000 rpm for 10 min (Lee et al., 2017). Feces and soft samples were in the second group. Twenty grams of samples were mixed in 100 mL SM buffer (0.05 M TRIS, 0.1 M NaCl, 0.008 M MgSO<sub>4</sub>, 0.01% (w/v) gelatin pH 7.5). After chloroform (50 µL/mL) extraction, samples were mixed on a rotary shaker (40 rpm) at room temperature for 15 min. Then, samples were centrifuged at 10000 rpm for 10 min, as described by Bigot et al. (2011). Finally, all of the supernatant was filtered using 0.22 µm in pore size (Milipore™, Ireland).

The presence of phage in the samples was determined by soft agar overlay method (Adams, 1953). In short, a 1 in 10 dilution of the filtrates was made in TSB-YE supplemented with 10mM CaCl<sub>2</sub> and 0.2 mL of exponential phase *L. monocytogenes* strains was added (Arachchi et al. 2013). Each filtrate was tested in a separate tube with each of the thirty-five indicator strains. After incubation overnight at 35 °C, each culture was centrifuged at 10000 rpm for 10 min and filtered using 0.22 µm in pore size. The supernatant was used in a plaque assay with the same strains. Phage filtrates (150 µL filtrate and 10 mM CaCl<sub>2</sub>) were

prepared in a sterile test tube. Then, 100 µL of the exponential phase *L. monocytogenes* strains with a concentration of approximately 10<sup>6</sup> CFU/mL was added, separately. After 30 min of incubation at 35 °C, 5 mL of soft TSA-YE (0.45% agar) was poured on the filtrate-bacterium mixture. The resulting mixture was gently vortexed and spotted on the pre-solidified TSA-YE plate containing 10 mM CaCl<sub>2</sub>. After solidification of agar for one hour at room temperature, the plates were incubated at 35 °C for 20–24 h to determine plaque formation. This part of the study was repeated twice. The presence of phage was identified by the formation of clear plaques. Individual plaques were used in the next round of purification.

#### **Propagating Plaques and Purifying Phages**

For the propagation and purifying of phages, the soft agar overlay technique was performed, as previously described by Kim et al. (2008). An overnight culture of *L. monocytogenes* strains was diluted (1:100) into fresh TSB-YE and incubated at 35 °C for 3 h for phage propagation. Then, 200 µL phage suspension and 10 mM CaCl<sub>2</sub> were added. After further incubation at 35 °C for 6 h, a phage lysate was obtained by centrifugation (10000 rpm for 10 min at 4 °C) and filtration (0.22 µm filter). Phage titers were determined following infection of host strain and enumeration of plaques. To determine of phage titer, soft agar overlay method was also used as described by Lacumin et al. (2016). In this assay the phage suspension was first serially diluted in sterile physiological saline buffer (PBS). Briefly, 100 µL of each dilution was mixed with 100 µL of any overnight grown cells of *L. monocytogenes* strains. After mixing both suspensions were added to 4 milliliters of sterile soft agar. Then, resulting mixture was vortexed and poured onto a TSA-YE agar plate. The plates were incubated at 35 °C for 24 h for plaque formation. The number of visible plaques were counted and multiplied with the dilution factor to quantify the plaque forming units (PFU)/mL. For phage purifying, well isolated unique single plaque from each positive sample was taken and mixed in TSB-YE. Each tube was placed on an orbital shaker (Optima, Tokyo, Japan) at 100 rpm for 3 h and filtered

using a sterile 0.22 µm syringe filter. Later, 100 µL of the filter-sterilized sample was mixed with 200 µL of overnight-grown bacterial culture and 10 mM CaCl<sub>2</sub>. Finally, 4 mL of TSA-YE soft agar were added and the mixtures were poured onto a pre-solidified TSA-YE plate. The plates were incubated overnight 35 °C. Individual plaques were picked. The single plaque isolation was repeated three times and final lysates were used to prepare high titer phage stocks for further analyses. Phage stocks were prepared by adding 15% glycerol to the phage suspensions with 10<sup>7</sup> PFU/mL and above phage titers. The prepared stocks were maintained at three different temperatures as + 4 °C, - 4 °C and - 20 °C (Loessner and Buse, 1990). Phage lysates containing approximately 10<sup>7</sup> PFU/mL were prepared using *L. monocytogenes* strains as host.

#### **Host Range Determination**

Host ranges were determined by soft agar overlay plaque assay as described by Zinno et al. (2014). Each *L. monocytogenes* strains was grown individually to log phase and combined with the individual phages. Briefly, 0.5 mL of *L. monocytogenes* culture at mid exponential growth phase was added to 5 mL of soft agar, mixed gently swirling and then poured on a TSA-YE agar base plate. Ten µL of a phage suspension at 10<sup>7</sup> PFU/mL was spotted onto the bacterial lawn and the plate incubated at 35 °C for 24 h. The lytic activity was checked by the appearance of clear zones. Cleared zones were measured for positive lytic spots against *L. monocytogenes* strains. The control plates were treated with a suspension without phage.

#### **RESULTS AND DISCUSSION**

Although there are several studies (Arachchi et al., 2013; Sulakvelidze, 2013; George et al., 2014; Pulido et al., 2016; Lee et al., 2017) on listerial phage isolation from different sources in the world, there is no information about listerial phage isolation in Turkey. Earlier studies in Turkey (Özkan et al., 2016; Sağlam et al., 2017; Ata, 2018; Uğur and Öner, 2018; Yıldırım et al., 2018) were focused on *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomonas aeruginosa*, and *S. aureus* specific phage. Therefore, we aimed to

isolate of lytic phages infecting *L. monocytogenes* and determine their host ranges.

Sixty-eight samples were tested for presence of *L. monocytogenes* phage in this study. Of the 68 samples, 5 were taken from soil, 20 from raw foods (milk, fish, chicken meat, red meat, vegetable, and fruit), 15 from feces, 4 from fisheries waste water, 15 from food processing waste water, 5 from sea water and, 4 from river. From these, 4 virulent phages were isolated from chicken feces, food processing waste water, fisheries waste water, and fish samples against four strains of *L. monocytogenes*. The results of phage screening were given in Table 1. All four isolated phages formed clear plaques with the strains used for isolation. Phage titers (PFU/mL) were ranged from 10<sup>8</sup> PFU/mL for  $\Phi$ PLB33, 10<sup>10</sup> PFU/mL for  $\Phi$ PLB39, 10<sup>7</sup> PFU/mL for

$\Phi$ PLB47, and 10<sup>8</sup> PFU/mL for  $\Phi$ PLB92. Listerial phages are naturally present in fresh water, silage, marine environments, soil, foods, feces, sewage, humans and animals, chicken processing plants (Arachchi et al., 2013; Sulakvelidze, 2013; George et al., 2014; Pulido et al., 2016; Lee et al., 2017). Kim et al. (2008), Bigot et al. (2011), Arachchi et al. (2013), George et al. (2014), Akhtar et al. (2017), and Lee et al. (2017) were isolated listerial phages from turkey processing plant, sheep feces, seafood waste water, sewage, raw sewage sludge and chicken feces, respectively. The recovery of *L. monocytogenes* phage from isolation samples in this study was found to be 5.88%. In contrast to our study, George et al. (2014) could isolate a total of 18 listerial phage, with a recovery status of 16.36%.

Table 1. Occurrence of phages in samples

Source	Number of Samples	Number of Positive Samples
Soil	5	-
Raw foods (milk, fish, chicken meat, red meat, vegetable, and fruit)	20	1
Chicken Feces	15	1
Fisheries waste water	4	1
Food processing waste water	15	1
Sea water	5	-
River	4	-
Total	68	4

Each phage was then screened for its ability to lyse *L. monocytogenes* strains as well using soft agar overlay method in this study, as can be seen in Table 2. The four isolated phages infected many of the *L. monocytogenes* strains tested in this study. It was observed that *L. monocytogenes* specific phages do not have strain specificity. Eleven *L. monocytogenes* strains showed resistant to all four isolated phages. Plaque size of the all of the phages varied depending on the isolate. The plaque sizes of the 4 phages against 24 *L.*

*monocytogenes* strains ranged from 0.4 and 2.6 mm. Moreover, the plaque sizes of the all phages against reference strain ranged from 1.2 and 1.7 mm. Phage  $\Phi$ PLB39 produced the largest plaque with 2.6 mm. None of the phages had identical host ranges. The prevalence of resistance to the phages was found to be between 48.57-57.14% (Table 3). An important finding of this study was the high phage resistant rate. In order to reduce *L. monocytogenes* strains, phage resistant strains are undesirable. These finding also may suggest that

phage resistant may be an important component of the ecology of *L. monocytogenes* strains. Several phage resistant mechanisms have been identified (Kim et al., 2008). Further studies are needed to determine which mechanisms are being responsible for phage resistance in such strains. Genetic nature of the determined phage resistance system observed in this study should be also important to account for their powerful antiphage characters. In this study, twenty-four strains were susceptible to phages. While phage

ΦPLB33 was susceptible to 15 *L. monocytogenes* strains, ΦPLB47 was susceptible to 17 strains. Moreover, in contrast, ΦPLB39 and ΦPLB92 were susceptible to 18 and 16 strains, respectively. Only six tested strains (L38, L39, L48, L70, L96, and L97) were susceptible to all four phages. Among all phages, ΦPLB39 was found to be the most virulent phages infecting 51.42% of the tested strains.

Table 2. Phage susceptibility of *Listeria monocytogenes* strains

<i>Listeria monocytogenes</i> strains	ΦPLB33		ΦPLB39		ΦPLB47		ΦPLB92	
	Susceptibility	Phage Plaque Diameter (mm)	Susceptibility	Phage Plaque Diameter (mm)	Susceptibility	Phage Plaque Diameter (mm)	Susceptibility	Phage Plaque Diameter (mm)
L9	-	-	-	-	-	-	-	-
L15	-	-	-	-	-	-	-	-
L16	-	-	-	-	-	-	-	-
L17	-	-	-	-	-	-	-	-
L22	+	1.1	+	0.9	-	-	+	1.2
L26	+	1.5	+	1.6	-	-	+	1.3
L33	HOST	2.4	-	2.0	-	-	-	-
L35	-	-	-	-	+	1.2	+	1.5
L37	-	-	-	-	-	-	-	-
L38	+	1.5	+	0.8	+	0.4	+	0.7
L39	+	1.7	HOST	2.6	+	1.2	+	1.2
L41	+	2.0	-	-	+	0.9	+	1.0
L47	+	1.9	-	-	HOST	2.4	+	0.6
L48	+	1.5	+	1.1	+	2.0	+	2.0
L49	-	-	+	1.6	+	1.9	-	-
L53	-	-	+	1.4	+	1.5	-	-
L54	-	-	-	-	-	-	-	-
L55	-	-	-	-	-	-	-	-
L56	+	0.5	-	-	+	0.9	-	-
L61	+	0.9	-	-	+	1.0	-	-
L62	+	1.1	+	0.9	-	-	-	-
L65	-	-	+	0.7	-	-	-	-
L67	+	0.6	+	1.0	-	-	-	-
L70	+	1.6	+	1.1	+	1.5	+	1.7
L72	-	-	+	0.9	+	1.3	+	1.4
L74	-	-	-	-	+	0.9	+	0.7
L80	-	-	+	0.7	+	1.1	+	1.3
L83	-	-	-	-	-	-	-	-
L86	+	1.4	+	1.2	-	-	+	1.5
L87	-	-	-	-	-	-	-	-
L88	-	-	-	-	-	-	-	-
L91	-	-	-	-	-	-	-	-
L92	-	-	+	1.5	+	1.4	HOST	2.1
L96	+	1.5	+	1.3	+	1.2	+	1.0
L97	+	1.3	+	0.6	+	0.8	+	0.9
ATCC7644	+	1.2	+	1.4	+	1.5	+	1.7

+ : Susceptible  
 - : Plaque not formed

Table 3. Prevalence of phage resistant strains

Phage	Number of strains resistant to phage (%)
ΦPLB33	57.14
ΦPLB39	48.57
ΦPLB47	51.42
ΦPLB92	54.28

The work presented here is novel, as it presents the first *L. monocytogenes* phage isolation in Turkey. This makes comparisons with studies on similar research difficult to make in Turkey. Further studies are needed to isolate and characterize of *L. monocytogenes* specific phages.

**CONCLUSIONS**

*L. monocytogenes* is an important food-borne pathogen. Phages are known as the natural enemies of bacteria. Nowadays listerial phages have again moved into focus of research interest in the world. Several hundred *Listeria* specific phages have been described until today. Our research is novel as we have isolated the *Listeria* genus- specific phage. These isolated *L. monocytogenes* specific phage can be used as a possible alternative to chemical antimicrobials against *L. monocytogenes*.

**CONFLICT OF INTEREST**

The authors express no conflict of interest associated with this work.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This research was financially supported by Ankara University Scientific Research Projects Coordination Unit (Project number 15B0443010).

**REFERENCES**

Adams, M. H. (1953). Criteria for a biological classification of bacterial viruses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 56: 442-447.

Akhtar, M., Viazis, S., Christensen, K., Kraemer, P., Diez-Gonzalez, F. (2017). Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 75: 108-115. doi:10.1016/j.foodcont.2016.12.035

Arachchi, G. J. G., Mutukumira, A. N., Dias-Wanigasekera, B. M., Cruz, C. D., McIntyre, L., Young, J., Flint, S. H., Billington, C. (2013). Characteristics of three listeriophages isolated from New Zealand Seafood environments. *J. Appl. Microbiol.*, 115: 1427-1438. doi:10.1111/jam.12332

Ata, A. (2018). Türkiye’de sık rastlanan *Salmonella* Enteritidis serovarlarına spesifik bakteriyofajların izolasyonu. *Etlük Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 29(2): 136-142.

Bigot, B., Lee, W. -J, McIntyre, L., Wilson, T., Hudson, J. A., Billington, C., Heinemann, J. A. (2011). Control of *Listeria monocytogenes* growth in a ready-to-eat poultry products using a bacteriophage. *Food Microbiol.*, 28: 1448-1452. doi:10.1016/j.fm.2011.07.001

Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., de Meester, E. D., Loessner, M. J.(2005). Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 43: 301-312. doi:10.1016/j.yrtph.2005.08.005

CDC (Centers of Disease Control andPrevention). (2019). National Enteric Disease Surveillance: *Listeria* Annual Summary, 2014. <https://www.cdc.gov/national-surveillance/pdfs/listeria-annual-summary-2014-508.pdf>, Access Date: (02.02.2019).

Clokie, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, 1(1): 31-45. doi:10.4161/bact.1.1.14942

Coffey, B., Mills, S., Coffey, A., McAlliffe, O., Ross, R. P.(2010). Phage and their lysins as biocontrol agents for food safety applications. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 1: 449-468. doi:10.1146/annurev.food.102308.124046

EFSA (European Food Safety Authority). (2019). *Listeria monocytogenes*: update on foodborne outbreak. <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180703>, Access Date: (02.02.2019).

George, S., Menon, K. V., Latha, C., Sunil, B., Sethulekshmi, C., Jolly, D. (2014). Isolation of

- Listeria*-specific bacteriophage from three different towns in Kerala, India. *In. J. Curr. Microbiol. Sci.*, 3(9): 667-669.
- Guenther, S., Huwyler, D., Richard, S., Loessner, M. J. (2009). Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to eat foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(1): 93-100. doi:10.1128/AEM.01711-08
- Gutierrez, D., Rodriguez-Rubio, L., Fernandez, L., Martinez, B., Rodriguez, A., Garcia, P. (2017). Applicability of commercial phage-based products against *Listeria monocytogenes* for improvement of food safety in Spanish dry-cured ham and food contact surfaces. *Food Control*, 73: 1474-1482. doi:10.1016/j.foodcont.2016.11.007
- Hagens, S., Loessner, M. J. (2014). Phages of *Listeria* offer novel tools for diagnostics and biocontrol. *Front. Microbiol.*, 5: Article 159. doi:10.3389/fmicb.2014.00159
- Kim, J. -K., Siletsky, R. M., Kathariou, S. (2008). Host ranges of *Listeria monocytogenes* from the turkey processing plant environment in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(21): 6623-6630. doi:10.1128/AEM.01282-08
- Klumpp, J., Loessner, M. J. (2013). *Listeria* phages. *Bacteriophage*, 3:3 e26861, doi:10.4161/bact.26861
- Lacumin, L., Manzano, M., Comi, G. (2016). Phage inactivation of *Listeria monocytogenes* on san daniele dry-cured ham and elimination of biofilms from equipment and working environments. *Microorganisms*, 4:4. doi:10.3390/microorganisms4010004
- Lee, S., Kim, M. G., Lee, H. S., Heo, S., Kwon, M., Kim, G. (2017). Isolation and characterization of *Listeria* phages for control of growth of *Listeria monocytogenes* in milk. *Korean J. Food. Sci. An.*, 37(2):320-328. doi:10.5851/kosfa.2017.37.2.320
- Loessner, M. J., Busse, M. (1990). Bacteriophage typing of *Listeria* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56:1912-1918.
- Lone, A., Anany, H., Hakeem, M., Aguis, L., Avdjian, A-C, Bouget, M., Atashi, A., Brovko, L., Rochefort, D., Griffiths, M. W. (2016). Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 217: 49-58. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.011
- Özkan, I., Akturk, E., Yeshenkulov, N., Atmaca, S., Rahmanov, N., Atabay, H.I. (2016). Lytic activity of various phage cocktails on multidrug-resistant bacteria. *Clin. Invest. Med.*, 39(6): 66-70.
- Perera, M. N., Abuladze, T., Li, M., Woolston, J., Sulakvelidze, A. (2015). Bacteriophage cocktail significantly reduces or eliminates *Listeria monocytogenes* contamination on lettuce, apples, cheese, smoked salmon and frozen foods. *Food Microbiol.*, 52: 42-48. doi:10.1016/j.fm.2015.06.006
- Pulido, R. P., Burgos, M. J. G., Galvez, A., Lopez, R. L. (2016). Application of bacteriophages in post-harvest control of human pathogenic and food spoiling bacteria. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 36(5): 851-861. doi:10.3109/07388551.2015.1049935
- Roy, B., Philippe, C., Loessner, M., Goulet, J., Moineau, S. (2018). Production of bacteriophages by *Listeria* cells entrapped in organic polymers. *Viruses*, 10:324. doi:10.3390/v10060324
- Sadekuzzaman, M., Yang, S., Mizan, Md. F. R., Kim, H. -S., Ha, S. -D. (2017). Effectiveness of a phage cocktail as a biocontrol agent against *L. monocytogenes* biofilms. *Food Control*, 78: 256-263. doi:10.1016/j.foodcont.2016.10.056
- Sağlam, A. G., Şahin, M., Çelik, E., Çelebi, Ö., Akça, D., Otlu, S. (2017). The role of staphylococci in subclinical mastitis of cows and lytic phage isolation against *Staphylococcus aureus*. *Veterinary World*, 10(12): 1481-1485.
- Şanlıbaba, P., Tezel, B. U., Çakmak, G. A. (2018). Prevalence and Antibiotic Resistance of *Listeria monocytogenes* Isolated from Ready-to-Eat Foods in Turkey. *Hindani Journal of Food Quality*, 2018: Article ID 7693782, 9 pages, doi:10.1155/2018/7693782
- Soni, K. A., Nannapaneni, R. (2010). Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *J. Food Prot.*, 73(1): 32-38.
- Soni, K. A., Nannapaneni, R., Hagens, S. (2010). Reduction of *Listeria monocytogenes* on the surface

of fresh channel catfish fillets by bacteriophage Listex P100. *Foodborne Pathog. Dis.*, 7(4): 427-434. doi:10.1089/fpd.2009.0432

Sulakvelidze, A.(2013). Using lytic bacteriophages to eliminate or significantly reduce contamination of food by foodborne bacterial pathogens. *J. Sci. Food Agric.*, 93: 3137-3146. doi:10.1002/lfsa.6222

Uğur, E., Öner, Z. (2018). Ticari *Salmonella* faj preparatının beyaz peynirde *Salmonella* spp. üzerine etkisinin araştırılması. *Türk Tarım-Gıda Bilim. Teknol. Derg.*, 6(8): 995-1001. doi:10.24925/turjaf.v6i8.995-1001.1828

Yang, S., Sadekuzzaman, M., Ha, S. -D. (2017). Reduction of *Listeria monocytogenes* on chicken breasts by combined treatment with UV-C light

and bacteriophage ListShield. *LWT-Food Sci. Technol.*, 86: 193-200. doi:10.1016/j.lwt.2017.07.060

Yıldırım, Z., Sakin, T., Çoban, F. (2018). Isolation of anti-*Escherichia coli* O157:H7 bacteriophages and determination of their host ranges. *Türk Tarım-Gıda Bilim. Teknol. Derg.*, 6(9): 1200-1208. doi:10.24925/turjaf.v6i9.1200-1208.2000

Zinno, P., Devirgiliis, C., Ercolini, D., Ongeng, D., Mauriello, G. (2014). Bacteriophage P22 to challenge *Salmonella* in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 191: 69-74. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.037





## KURUTULMUŞ ET ÜRÜNLERİNİN KALİTE ÖZELLİKLERİ

**Elif Aykın Dinçer\*, Mustafa Erbaş**

Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 21.12.2018; Kabul / *Accepted*: 07.05.2019; Online baskı / *Published online*: 15.05.2019

Aykın Dinçer, E., Erbaş, M. (2019). Kurutulmuş et ürünlerinin kalite özellikleri. *GIDA* (2019) 44 (3): 472-482 doi: 10.15237/gida.GD18124

*Aykın Dinçer, E., Erbaş, M. (2019). Quality properties of dried meat products. GIDA (2019) 44 (3): 472-482 doi: 10.15237/gida.GD18124*

### ÖZ

Kurutma, eş zamanlı olarak ısı ve kütle transferi ile gıdadan suyun uzaklaştırılmasına dayanan kompleks bir işlemdir. Kurutulmuş et ürünleri; sığır, domuz, kümes hayvanları ve balık gibi farklı et kaynağı, baharat, antioksidan ve stabilizatörler gibi fonksiyonel katkı maddeleri ve kürlenme, tütsüleme ve kurutma gibi üretim yöntemlerinin kullanılmasıyla çeşitli şekillerde üretilir. Bu yöntemlerle elde edilen kurutulmuş et ürünlerine pastırma, ham, jerky, pemmican, biltong, kaddid ve cecina örnek verilebilir. Ancak, kurutma işlemi sıcaklık ve süre gibi çeşitli faktörler yönünden optimum koşullarda yapılmadığında, et ürünlerinde esmerleşme reaksiyonları, renk kaybı, lipid oksidasyonu, yoğun ve sert bir yapı, boyut küçülmesi, rehidrasyon yeteneğinin azalması gibi birtakım olumsuz değişiklikler meydana gelebilir. Ayrıca, depolama koşulları da kurutulmuş et ürünlerinin kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu makalede kurutulmuş et ürünlerinin kalite özellikleri ve depolama işleminin ürün kalitesi üzerine etkileri derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Depolama, kalite, kurutma, kurutulmuş et ürünleri

## QUALITY PROPERTIES OF DRIED MEAT PRODUCTS

### ABSTRACT

Drying is a complex process based on simultaneous removal of water from food by heat and mass transfer. Dried meat products are produced in various ways by using different meat sources such as cattle, pig, poultry and fish; functional additives such as spices, antioxidants and stabilizers; and production methods such as curing, smoking and drying. Pastırma, ham, jerky, pemmican, biltong, kaddid and cecina can be exemplified dried meat products obtained by these methods. However, some negative changes such as browning reactions, discoloration, lipid oxidation, intense and hard structure, reduction in dimension and lower rehydration ability may occur in meat products when drying process isn't carried out under optimum conditions for factors, such as temperature and time. Furthermore, storage conditions also have a significant impact on quality of dried meat products. In this article, quality characteristics of dried meat products and effects of storage process on product quality have been compiled.

**Keywords:** Storage, quality, drying, dried meat products

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ elifaykin@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 4345

☎ (+90) 242 227 4564

## GİRİŞ

Toplum sağlığı için tüketimi oldukça önemli olan kırmızı et, sahip olduğu yüksek su içeriği, su aktivitesi değeri ( $a_w \approx 0.99$ ) ve zengin besin maddeleri nedeniyle mikrobiyolojik olarak hızlı bir şekilde bozulma riski taşır (Başlar vd., 2014; 2015; Aykın-Dinçer ve Erbaş, 2018). Et ağırlığının yaklaşık %75 kadarını oluşturan suyun büyük çoğunluğu miyofibrillerin içerisinde bulunurken, daha az bir kısmı ise miyofibriller arasında bulunur (Traffano-Schiffo vd., 2014). Ette suyun çoğunluğunun miyofibriller içerisinde bulunması etten suyun uzaklaştırılmasını zorlaştırır ve uzun zaman gerektirir. Bu uzun zamanda ise et mikrobiyolojik olarak bozulabilir. Diğer taraftan etin yapısında bulunan suyun miktarı ve fizikokimyasal durumu olumsuz biyokimyasal reaksiyonları da artırabilir. Bunlara bağlı olarak da etin kalitesi düşebilir ve raf ömrü kısalsabilir.

Genel olarak kurutma, herhangi bir üründeki; mikrobiyolojik, biyokimyasal ve kimyasal faaliyetleri kontrol altına almak için hijyenik şartlar altında ürünün bünyesinde bulunan suyun uygun sıcaklık ve/veya nispi nem farklılığı prensibi ile üründen uzaklaştırılması ve ürünün su aktivitesi değerinin düşürülmesi olarak tanımlanır (Petit vd., 2014; Kilic, 2017a; b; Ponwiboon ve Rojanakorn, 2017). Etin bozulma riski nedeniyle kurutma işlemi tek başına uygulanmayıp; genellikle tuzlama, kürlenme veya tütsüleme gibi işlemlerle birlikte uygulanır (Ahmat vd., 2015). Kurutma işlemi ile ürünün bozulması önlenerek raf ömrü artırılabilir ve ambalajlama, nakliye ve depolama giderleri azaltılabilir (Traffano-Schiffo vd., 2014; Kumar vd., 2017). Kuru et ürünleri bu avantajları sayesinde sporcular, seyahat edenler ve ordu mensupları tarafından tercih edilir ve ayrıca yurt içinde ve dışında güçlü bir şekilde rekabet edebilme şansı da yakalayabilir.

## KURUTULMUŞ ET ÜRÜNLERİ

Geçmişten günümüze kadar insanlar, gıdaların uzun süre bozulmadan saklanmasını sağlayacak muhafaza yöntemlerini araştırmış ve yeni muhafaza yöntemleri geliştirmeye çalışmıştır. Hayvansal gıdalar arasında önemli bir yere sahip olan et için de çeşitli muhafaza teknikleri kullanılmış ve geliştirilmiştir. Etlerin tuzlandıktan

sonra güneşte kurutulması bilinen en eski muhafaza yöntemlerinden biridir. Geleneksel yöntemde etler güneşte ya da sıcaklık uygulamalarıyla kurutulur (Martins vd., 2015). Bu yöntemle elde edilen et ürünleri soğuk zincire gereksinim duyulmadan satışa sunulur ve böylece üretim maliyetleri de düşer. Geleneksel yöntemlerle elde edilen bu et ürünleri oda sıcaklığında birkaç hafta ile birkaç ay arasında bozulmadan muhafaza edilebilir (Heldman ve Lund, 2006).

Orta Doğu ve Güney Asya ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede geleneksel olarak üretilen kurutulmuş et ürünleri (Çizelge 1) temel olarak üç gruba ayrılır. Bunlar;

- Tuzlama ve kurutma işlemi ile üretilen ürünler,
- Tuz ve çeşitli katkı maddeleri ile muamele edildikten sonra kurutma ile üretilen ürünler,
- Tuzlama ve kürlenme işlemine ilaveten ısı işlem uygulanarak üretilen ürünlerdir.

Çizelge1. Dünya'daki bazı kurutulmuş et ürünleri ve orjinleri (Aykın-Dinçer, 2018)

Et ürünü	Orjin
Charque	Latin Amerika
Jerky	Kuzey Amerika
Pemmican	Kuzey Amerika
Carne-de-sol	Brezilya
Biltong	GüneyAfrika
Kaddid	Kuzey Afrika
Jirge	Afrika
Tasajo	Küba
Kilishi	Nijerya
Qwanta	Etiyopya
Cecina	İspanya, Meksika
Bündnerfleisch	İsviçre
Serano ham	İspanya
Black Forest ham	Almanya
Parma ham	İtalya
Pancetta	İtalya
Parma coppa	İtalya
Rougan	Çin
Roupu	Çin
Pastırma	Orta Asya, Türkiye

Pastırma; kendine özgü üretim teknolojisiyle asırlardan beri üretilen Türklere özgü kurutulmuş bir et ürünü olup, temel itibariyle sığır karkaslarının belirli bölgelerinden çıkarılan bütün kasların kürlenmesi, kurutulması, kurutmanın belirli aşamalarında baskılanması ve daha sonra da çemen adı verilen bir sos ile kaplanıp tekrar kurutulması ile elde edilir (Aksu ve Kaya, 2005; Akköse ve Aktaş, 2014; Akköse vd., 2018). Pastırmanın anavatanı Orta Asya olup, burada yaşayan Türkler tarafından uzun yolculuklarda tüketildiği bilinir. Ayrıca, pastırmanın Selçuklular zamanında Anadolu'ya getirildiği ve Osmanlılar zamanında da hüküm sürülen ülkelere yayıldığı ileri sürülür. Ülkemizde pastırma üretimi ikliminin uygunluğu nedeniyle Kayseri başta olmak üzere; Afyon, Ankara, Bursa, Çorum, Çankırı, Erzurum, Erzincan, Karaman, Kastamonu, Sakarya, Sivas ve Tokat illerinde yapılır.

Genellikle kürlenmiş et ürünleri olgunlaştırılmış, kurutulmuş ve/veya tütsülenmiş bütün et parçalarından oluşur. Bu et ürünlerinin işleme teknolojileri kuruma yoğunluğuna, olgunlaşma süresine ya da tütsülemeye bağlı olarak farklılık gösterir (Toldrá, 2011). Akdeniz'de yaygın olarak domuz etinden üretilen ve *ham* olarak adlandırılan kuru-kürlenmiş ürünler tüketilmekte olup, bunlardan İspanya'daki *Iberian* ve *Serranoham*, İtalya'daki *Parma* ve *San Danielleham* ve Fransa'daki *Bayonneham* en çok bilinenleridir. Bu kuru kürlenmiş et ürünlerinin ortak özellikleri en az 6 ay olan uzun işlem süresi ve kurumadan sonra %32-34 ağırlık kaybına sahip olmalarıdır. Çin'de ise *Xuanwei*, *ChingHua* ve *Yunnanham* yaygın olarak tüketilen kuru kürlenmiş et ürünleridir. Kuzey Avrupa ve ABD'de üretilen ürünler ise, nispeten diğer kuru kürlenmiş et ürünlerine göre birkaç hafta gibi daha kısa süren bir olgunlaştırma periyoduna sahiptir. Bu ürünlere ABD'de *Kentucky* ve *Virginianham*, Almanya'da *Westphalianham* ve Finlandiya'da *Sannaham* örnek verilebilir (Aykın-Dinçer, 2018).

Kuzey Amerika'da üretilen *jerky* isimli kurutulmuş et ürünü düşük su içeriği, uzun süre depolanabilmesi, küçük boyutlarda olması ve kolay taşınabilmesi gibi özellikleriyle atıştırma gıdalarının önemli bir parçasıdır (Li vd., 2014; Choi

vd., 2015). İnce bir şekilde dilimlenmiş bütün kasların tuzlandıktan sonra 50-70°C sıcaklıklarda kurutulmasıyla elde edilen bu kuru et ürününün üretimi, su aktivitesinin düşürülmesi yoluyla mikrobiyel gelişimin engellenmesi prensibine dayanır (Kucerova vd., 2015). Bu kuru et ürününde, protein içeriğinin %75'i kadar su bulunur. *Jerky* tipi ürünler; sığır, domuz, kümes hayvanları, geyik ve balık gibi farklı et kaynağı, baharat, antioksidan ve stabilizatörler gibi fonksiyonel katkı maddeleri ve kürlenme, tütsüleme ve kurutma gibi üretim yöntemlerinin kullanılmasıyla çeşitli şekillerde üretilir (Konieczny vd., 2007; Ojha vd., 2017).

## **KURUTMA İŞLEMİNİN ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

### **Esmerleşme reaksiyonu ve renk kaybı**

Gıdaların rengi üzerine enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları önemli etkilerde bulunur. Kurutulmuş et ürünlerinin rengi üzerine ise, kasta bulunan az miktardaki glukoz ve serbest aminoasitlerin kuruma süresi boyunca reaksiyona girmesiyle oluşan ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak tanımlanan Maillard reaksiyonu etkili olur. Maillard reaksiyonu ürünleri, kuru etin rengi yanı sıra tekstürü, aroması, lezzeti ve besin değeri üzerine de etkili olur. Bunlara ilaveten, kurutulmuş et ürünlerinde et rengi, tüm kesilmiş dilim boyunca homojen olmalıdır (Heldman ve Lund, 2006).

Nathakaranakule vd. (2007), tüketime hazır makarnalarda ingredient olarak kullanılacak tavuk etini farklı şekillerde kombine edilmiş kızgın buharlı bir kurutucuda kurutmuşlardır. Kurutulmuş ürünlerin parlaklığı azalırken, kırmızılığı kurutma sıcaklığına bağlı olarak artmıştır. Ürünün rengindeki bu değişikliklerin yüksek kurutma sıcaklığında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları sonucunda oluştuğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada havada kurutma sırasında diğer kalamar çeşitlerine göre Japon kalamarlarının (*Todarodespacificus*) yüksek proteaz aktivitesi ve arginin ve riboz konsantrasyonuna bağlı olarak daha fazla kahverengileştiği saptanmıştır. Ayrıca, kurutulmuş çığ etin haşlandıktan sonra kurutulmuş örneklerle

göre daha fazla kahverengileştiği tespit edilmiştir (Geng vd., 2015).

Kurutulmuş kırmızı et ürünlerinde renk gelişimi etteki miyoglobinin formu ve miktarı ile ilişkilidir (Toldrá, 2011). Sığır ve domuz etlerinin rengi üzerine düşük sıcaklıkta vakum ve dondurarak kurutma yöntemlerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sıcaklık artışının ve dondurarak kurutma yönteminin örneklerde daha çok miyoglobin kaybına neden olduğu tespit edilmiştir (King ve Chen, 1998). Yapılan başka bir çalışmada da, taze et örneklerine göre dondurarak kurutulmuş kırmızı et örneklerinin  $L^*$  ve  $b^*$  değerlerinin daha yüksek ve  $a^*$  değerinin ise daha düşük olduğu tespit edilmiş ve bu durumun kurutma sırasında miyoglobin proteininin üç boyutlu yapısının deformasyonundan kaynaklandığı değerlendirilmiştir (Aykın ve Erbaş, 2016).

#### Lipid oksidasyonu

Kurutulmuş gıdalarda lipid oksidasyonu ransit tada, kötü lezzet oluşumuna ve yağda çözünen vitaminlerin ve pigmentlerin kaybına neden olur (Heldman ve Lund, 2006). Kuru kürlenmiş et ürünlerinde bulunan gliseritler ve fosfolipitler, lipoliz sonucunda serbest yağ asitlerine dönüşür. Lipolizden sorumlu olan enzimler, kas dokudaki lizozomal asit lipaz ve asit fosfolipazlar iken, adipoz dokuda nötral lipazlardır. Lipoliz sonucunda çoğunlukla palmitik, stearik, oleik ve linoleik asitler meydana gelir (Toldrá, 2011). Oluşan bu serbest yağ asitlerinden doymamış olanlar, oksidasyon reaksiyonlarına daha çok yatkınlık gösterir.

Kuru kürlenmiş et ürünlerinde oksidatif reaksiyonlar; lipoksigenazlar gibi kas oksidatif enzimlerinin ya da ışık, sıcaklık ve metal iyonları gibi çevresel faktörlerin etkisi ile başlar (Fu vd., 2015). Oksidasyon reaksiyonları, peroksit radikalleri ile ilerler ve primer oksidasyon ürünü olan hidroperoksitler oluşur. Peroksit radikalleri çok reaktif olup çok düşük konsantrasyonlarda aromaya da katkıda bulunan alifatik hidrokarbonlar, alkoller, aldehytler ve esterler gibi ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşmasını da sağlar (Toldrá, 2011).

Jin vd. (2010), kurutulmuş ve kürlenmiş bir et ürünü olan *bacon* örneklerinin kas içi yağlarında meydana gelen lipoliz ve lipit oksidasyonunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda toplam serbest yağ asidi miktarının fosfolipitlerden daha yüksek olduğu, lipolitik aktivitenin artan işlem süresi ile azaldığı, asidik lipazların nötral lipazlara göre daha aktif olduğu ve yüksek tuz içeriğinin ise asidik lipazın aktivitesini engellerken lipoksigenazın aktivitesini teşvik ettiği tespit edilmiştir. Ying vd. (2016) ise, kurutulmuş ve kürlenmiş kaz eti örneklerinde meydana gelen lipoliz ve lipit oksidasyonu reaksiyonlarını araştırmışlardır. Araştırmada lipoksigenaz ve tiyobarbitürik asit reaktif bileşikleri (*TBARS*) değerlerinin kürlenme ve marinasyon aşamalarında arttığı, olgunlaşma aşamasında ise azaldığı ve yüksek miktarda tuzun kullanıldığı örneklerde ise lipoksigenaz aktivitesi ve *TBARS* değerinin arttığı tespit edilmiştir.

#### Boyut küçülmesi ve rehidrasyon

Kurutma yöntemi ve koşulları; ürünün boyut küçülmesi, porozite ve yoğunluk özellikleri üzerinde etkili olur. Sıcaklık uygulaması ve su kaybı et proteinlerinin yapısında büzülme, gözenek oluşumuna ve mikro yapıda birtakım değişikliklere yol açar. Gıdaların kurutulması sırasında meydana gelen ve materyaldeki düzensiz su ve sıcaklık değişiminden kaynaklanan düzensiz hacim değişiminin yol açtığı kırılma ve çatlama önemli kalite bozulmaları olarak tanımlanır (Heldman ve Lund, 2006). Kalamar filetosunun mikro yapısına kızılötesi ile kurutmanın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; nem kaybı, protein denatürasyonu ve liflerin büzülmesine bağlı olarak daha yoğun ve sert bir kas lifi yapısının meydana geldiği belirlenmiştir (Deng vd., 2014).

Kurutulmuş gıdaların rehidrasyon yetenekleri kurutma işlem koşulları, etin bileşimi, pH değeri, yoğunluğu ve gözenekliliğine bağlıdır (Heldman ve Lund, 2006). Büzülme gibi hücresel ve yapısal bozulmalar en aza indirildiğinde ürünün rehidrasyonu en yüksek düzeye ulaşabilir. Dondurarak kurutma işlemi ile elde edilen gözenekli yapıdaki ürünler; daha az büzülme, üstün tat sağlama ve daha iyi rehidrasyon özelliklerine sahiptir (Yalçın ve Şeker, 2016).

Kızgın buharlı bir kurutucuda kurutulmuş tavuk etinin kalitesinin araştırıldığı bir çalışmada, boyut küçülme oranının uygulanan sıcaklığa bağlı olduğu ve kontrole göre kızgın buharla kurutma yönteminin örneklerde daha az boyut küçülmesine ve daha yüksek rehidrasyona neden olduğu tespit edilmiştir (Nathakaranakule vd., 2007).

### **Tekstür**

Nem içeriği, bileşim, pH değeri, örnek boyutu ve kurutma yöntemi gibi faktörler kuru et ürününün tekstürel özelliklerine etki eder. Özellikle çiğ etin pH değeri, kuru kürlenmiş et ürünlerinin üretimi sırasında enzim aktivitesini etkiler. Yüksek pH değerinde bir hammadde kullanıldığında, proteolitik aktivite yükseldiği için kuru kürlenmiş et ürünleri daha yumuşak, soluk, parçalanabilir ve yapışkan bir yapıya sahip olabilir.

Kurutulmuş et ürünlerinin tekstürü kuruma derecesiyle yakından ilişkilidir. Bu nedenle daha yoğun bir kuruma ve buna bağlı nem kaybına sahip ürünler daha sert dokuya sahiptir. Ayrıca, hızlı kurutma işlemi ürün dışında yoğun bir kuruma sağlarken, ürünün iç kısımlarının daha yüksek nem içeriğinde kalmasını sağlar (Toldrá, 2011). Kuru kürlenmiş *ham* örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, kritik su içeriği değerinin (%60) altında su içeren örneklerin sertliğinde önemli bir artış meydana geldiği ve bunun ürünlerin dış bölgesinde oluşan kabuktan kaynaklandığı bildirilmiştir (Serra vd., 2005). Diğer taraftan, sertleşmeye katkıda bulunan etkenlerle proteinlerin proteazlarla parçalanmasına katkıda bulunan etkenler arasında bir denge bulunur. Özellikle kuru kürlenmiş et ürünlerinde bulunan endoproteazlar, peptidazlar ve aminopeptidazlar gibi kas proteazlarının aktivitesi, kürlenme sırasında ilave edilen tuz miktarı ile kontrol edilir ve böylece aşırı yumuşak bir yapının oluşması engellenebilir. Żochowska-Kujawska (2016), *biceps femoris*, *semimembranosus* ve *longissimus lumborum* gibi farklı geyik kaslarından üretilen kurutulmuş-kürlenmiş et ürünlerinin tekstürel özellikleri üzerine tuz miktarının (%4, 6 ve 8) ve kas lifi yapısının etkisini belirlemiştir. Bu çalışmada kırmızı kas lifi ve tuz içeriği yüksek örneklerin daha yüksek sertlik, kohezyon, esneklik

ve çiğnenebilirlik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Et gibi kuru gıdaların viskoelastik davranışları gerilim ve deformasyon ilişkisine dayalı olarak incelenir. Kuru et ürünlerinin diğer özellikleri gibi viskoelastik özellikleri de sıcaklık ve su içeriğine bağlı olarak değişir (Heldman ve Lund, 2006). Yapılan bir et kurutma çalışmasında kurutmanın farklı zamanlarında örnekler alınmış ve örneklerin duyuşal olarak en yüksek çiğnenebilirlik özelliğinin, örneğin nem/protein oranının 0.5 olduğu kuruma süresinde sağlandığı tespit edilmiştir (Konieczny vd., 2007).

### **Lezzet ve aroma**

Kurutulmuş et ürünlerinin lezzeti; üründen ürüne değişebilen baharatların kombinasyonu, endojen enzim aktiviteleri, mikrobiyel aktiviteler, otooksidasyon ve koku bileşiklerinin interaksiyonu gibi faktörlere bağlıdır. Proteoliz ve lipoliz; kurutulmuş et ürünlerinde görülen önemli enzimatik reaksiyonlar olup, bunları oksidasyon takip eder. Tüm bu reaksiyonlar kurutulmuş et ürünlerinde aroma bileşiklerinin oluşumundan sorumlu olur (Toldrá, 2011). Özellikle kuru kürlenmiş et ürünlerinde proteoliz sonucunda meydana gelen serbest aminoasitler kürlenmiş flavor oluşumuna katkı sağlar.

Gıdanın aroma ve lezzetinden sorumlu uçucu bileşiklerin kaynama noktası, suyun kaynama noktasından daha düşüktür. Bu nedenle kurutma işlemi sırasında bu bileşikler gıdadan uzaklaşabilir. Kurutma işleminin başlangıcında ürün yüzeyde ince bir kabuk oluşturularak bu bileşiklerin kaybı önenebilir (Heldman ve Lund, 2006).

Kaban (2009) pastırmanın geleneksel üretimi sırasında uçucu bileşenleri belirlemiş ve toplamda 48 uçucu bileşik tespit etmiştir. Araştırmada, ikinci kurutmanın sonlarında aldehit yapısındaki bileşiklerin en yüksek seviyelere ulaştığını ve aromatik hidrokarbonların ise son üründe baskın uçucu bileşikler olduğunu belirlemiştir. Lorenzo (2014) *cecina* örneklerinin üretimi sırasında esterler, aldehitler, hidrokarbonlar, alkoller, furanlar ve ketonlardan oluşan 55 kadar uçucu bileşiğin aroma oluşumuna katkıda bulunduğunu

bildirmiştir. Sha vd. (2017) Kazakistan'a özgü kuru kürlenmiş sığır etinin aroması üzerine birincil temel bileşenler olarak sırasıyla yağ, doymuş yağ asitleri, TBARS, furanlar, çoklu doymamış yağ asitleri, nem ve hidrokarbonların ve ikincil temel bileşenler olarak da esterler, alkoller, ketonlar ve aldehitlerin etkili olduğunu belirlemiştir.

Fu vd. (2015), yaptıkları çalışmada gümüş sazan balığı filetoalarını sıcak hava, mikrodalga ve mikrodalga-vakum yöntemleriyle kurutmuşlardır. Kurutma işlemi balıksız istenmeyen kokunun azalmasını sağlarken okside olmuş yağ kokusunun artmasına neden olmuştur. Mikrodalgada kurutma işleminin topraksı-küfsü kokuyu büyük ölçüde azalttığı, mikrodalga ve mikrodalga vakum yöntemleriyle kurutulmuş örneklerin TBARS değerlerinin daha düşük olduğu ve TBARS değerinin mikrodalga kurutma sırasında güç yoğunluğu ile azalırken, vakum işlemiyle arttığı belirlenmiştir.

### Mikrobiyolojik kalite

Mikroorganizmaların gelişimi için taze et ideal bir ortam olmasına rağmen; gastrointestinal sistem, solunum yolları ve lenf düğümleri haricinde hayvanın iç kısmında organizmalar bulunmaz. Ancak, kesimden önce ve işleme sırasındaki çevresel koşullar et yüzeyindeki kirlilik derecesini ve etin mikrobiyel bozulmasını etkiler. Diğer taraftan, işlenmiş et ürünlerinde taze ete göre farklı bir mikrobiyel grup bulunur. Özellikle, su aktivitesi aralığı 0.60-0.90 olan ve orta nemli olarak tanımlanan et ürünlerinde bazı bakteriler (*Pediococcus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Vibrio* ve *Staphylococcus*), mayalar (*Hansenula*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Torulopsis*, *Debaryomyces* ve *Saccharomyces*) ve küfler (*Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Emericella*, *Eremascus*, *Wallemia*, *Eurotium*, *Chrysosporium* ve *Monascus*) gelişebilir. Bu mikroorganizmaların büyük bir kısmı üründe bozulmaya ve tüketici de sağlık sorununa sebep olabilir (Huang ve Nip, 2001).

Kesimle birlikte ete bulaşan soğuğa dayanıklı *Enterobacter* spp., *Protens* spp., *Citrobacter* spp. ve özellikle *Serratia* spp. gibi Enterobacteriaceae familyası üyesi mikroorganizmalar da üründe bozulmaya neden olur. Bunlara ilaveten,

bozulmuş ürünlerde *Clostridium* and *Staphylococcus* cinsi mikroorganizmalar da bulunabilir. Gıdanın su aktivitesi değeri 0.95'in altına düşürüldüğünde *Clostridium botulinum*'un A ve B tipi ile *C. perfringens*'in gelişimi engellenebilirken, aerobik koşullarda 0.86 su aktivitesi değerine kadar *Staphylococcus aureus* gelişim gösterebilir (Huang ve Nip, 2001).

Gıdanın su aktivitesi 0.85 değerinin altına düşürülmesiyle mikroorganizmaların gelişimi engellenebilir, fakat bu işlem ürünü güvenli hale getirmez. Kurutma işleminin sıcaklığı mikroorganizmaların sayısını azaltırken canlı kalabilen ve gıdada bozulma yapabilen mikroorganizmalar üründe sorunlara neden olabilir (Heldman ve Lund, 2006). Kuru kürlenmiş et ürünlerinin mikrobiyel güvenliğini etkileyen başlıca patojen *Listeria monocytogenes*'dir. Bu mikroorganizma insanlarda listeriosis gibi ciddi enfeksiyonlara neden olabilir. Listeriosis kaynaklı ölümlerin oranı (%20) oldukça yüksek olduğundan, ürün pazarlanmadan önce *L. monocytogenes*'in ortadan kaldırılması veya azaltılması gerekir (Sara vd., 2014). ABD Tarım Bakanlığı Gıda Güvenliği ve Denetimi Birimi (FSIS/USDA) tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* için sıfır tolerans politikasını uygular. Avrupa Birliği ise, bu ürünler için 100 kob/g değerinde bir gıda güvenliği hedefi belirlemiştir. Kurutulmuş et ürününün mikrobiyel açıdan daha stabil olmasını sağlamak amacıyla; nitrit kullanımı, düşük pH, tuz ilavesi, vakum ambalajlama ve ısı işlem gibi faktörler bir arada uygulanır (Huang ve Nip, 2001). Plavsic vd. (2015) tarafından ev yapımı kurutulmuş ve tütsülenmiş bir et ürününün özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, son ürünün %37.8 su, %5.1 tuz içerdiği ve su aktivitesi değerinin 0.89 olduğu, maya ve küf sayısının ise sırasıyla 10<sup>7</sup> ve 10<sup>6</sup> kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Scheinberg vd. (2014), yüksek basınç uygulama ve kaynar suya daldırma olmak üzere iki farklı işlemin *jerkey* üretimi sırasındaki patojen sayısını azaltmaya etkisini araştırmışlar ve yüksek basınç uygulamasının (550 MPa, 60s) *Salmonella* spp. sayısında 6.83 log kob/şerit ve *E. coli* O157:H7 sayısında ise 4.45 log kob/şerit düzeyinde önemli bir azalma sağladığını ancak *L. monocytogenes*

sayısında 1.28 log kob/şerit ve *S. aureus* sayısında 1.32 log kob/şerit olmak üzere daha düşük bir azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Kaynar su uygulamasının (100±2°C, 20-30s) ise; *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* sayılarını 5.0 log kob/şerit düzeyinden daha fazla azalttığını belirlemiştir.

Kurutulmuş et ürünlerinde mikroflora genellikle Koagulaz (-) stafilokoklardan oluşur. Bu mikroorganizmalar stabil ve güçlü bir et renginin oluşmasına katkı sağlar ve sahip olduğu katalaz enzimi ile hidrojen peroksiti parçalayarak uzun süre kurutulmuş üründeki acılaşmayı geciktirir. Hava ile kurutulmuş et ürünlerinde ise mikroflora genellikle LAB'den oluşur. Son üründe bulunan ve birlikte sayılan *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Pediococcus* cinslerinin sayısı 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> kob/g ürün aralığında değişir. Öz vd. (2017), 14 farklı üreticiden temin edilen pastırma örneklerinden 106 farklı tür LAB'sini izole etmişler ve izolatların %27.4'ünü *Lactobacillus sakei*, %24.5'ini *Weissella cibaria* ve %19.8'ini *W. confusa* olarak tanımlamışlardır. Ayrıca, pastırma örneklerinde *Micrococcus/Staphylococcus*, LAB ve maya-küf sayılarının sırasıyla 5.28-7.69, 3.30-7.90 ve 2.30-6.42 log kob/g aralığında olduğu ve Enterobacteriaceae sayısının ise tespit edilebilir düzeyin altında (< 2 log kob/g) olduğu belirlenmiştir.

### DEPOLAMA İŞLEMİNİN ÜRÜN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Taze ve işlenmiş et ürünlerinde kullanılan ambalajlama teknolojileri temel olarak atmosferik ambalajlama (AP), vakumlu ambalajlama ve modifiye atmosfer ambalajlama (MAP) şeklinde sınıflandırılır (Yu vd., 2018). AP uygulamasında gıdanın içinde bulunduğu havanın bileşimi %78 azot (N<sub>2</sub>), %21 oksijen (O<sub>2</sub>), az miktarda karbondioksit (CO<sub>2</sub>), su buharı ve diğer gazlardan oluşur. Vakum ambalajlamada gıdayı çevreleyen hava uzaklaştırılır ve düşük O<sub>2</sub> geçirgenliğine sahip bir film kullanılır. Bu yöntemle, gıdanın O<sub>2</sub> ile teması sonucunda meydana gelebilecek bozulmaların önüne geçilebilir. Ancak, vakum ambalajlamanın en önemli dezavantajı *C. botulinum* gibi anaerobik patojenlerin gelişimi ve toksin üretimi için uygun ortam sağlamasıdır. Vakum

ambalajlamada görülen bu mikrobiyolojik bozulmaların ve basıncın gıda maddesi üzerindeki zararlı etkilerinin önüne geçebilmek amacıyla MAP uygulaması geliştirilmiştir.

MAP, gıdanın raf ömrünü ve güvenliğini arttırmak için ambalaj içindeki gaz atmosferinin arzu edilen gaz bileşimine dönüştürülmesi işlemi olup çoğunlukla %75 N<sub>2</sub> ve %25 CO<sub>2</sub> olarak uygulanır. MAP işlemi minimal işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatma özelliğinin yanı sıra yüksek ürün kalitesi ve koruyucu kullanımını azaltma gibi ilave faydalar da sağlar (Wani vd., 2014). MAP işlemi, duyuusal ve mikrobiyolojik kaliteyi sağlama amacıyla genellikle soğuk depolama ile birlikte uygulanır. MAP uygulamasında CO<sub>2</sub> gazı (≥ %20), aerobik bakteri gelişiminin lag fazını uzatma ve logaritmik fazda çoğalma hızını azaltma için kullanılır. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda CO<sub>2</sub> kullanımı lezzet bozulması ve ambalajda çökme gibi sorunlara neden olabilir. İnerit bir gaz olan N<sub>2</sub> ise; oksidasyonu, lezzet bozulmalarını ve CO<sub>2</sub>'in neden olduğu çökmeleri önlemek için kullanılır.

Taze meyve ve sebzelerde genellikle anaerobik solunumu ve yoğunlaşmayı önlemek için optimal düzeyde O<sub>2</sub> içeren ve belli bir miktar su buharı geçirgenliğine sahip ambalajlamaya ihtiyaç duyulur. Çiğ soğutulmuş etlerde depolama sırasında görülen solunum ise taze meyve sebzelerde olduğu gibi belirgin değildir. Posmortem kas mitokondrisi O<sub>2</sub>'i metabolize etmeye devam ederken, posmortem zamanına bağlı olarak aktif O<sub>2</sub> tüketimi ve CO<sub>2</sub> oluşumu azalır. Dolayısıyla taze etlerin ambalajlanmasında daha yüksek düzeylerde O<sub>2</sub> arzu edilirken, işlenmiş etlerde daha düşük konsantrasyonlarda kullanılabilir. Taze et ürünlerinin ambalajlanmasında yüksek O<sub>2</sub> konsantrasyonunun tercih edilmesinin nedeni; kırmızı renkli myoglobin pigmentinin parlak kiraz kırmızısı renkli oksimyoglobine dönüşmesini sağlamaktır. Aksi durumda düşük O<sub>2</sub> konsantrasyonu oksimyoglobinin metmyoglobine okside olmasına neden olur. Özellikle taze etler %80 O<sub>2</sub> ve %20 CO<sub>2</sub> ve işlenmiş et ürünleri %70 N<sub>2</sub> ve %30 CO<sub>2</sub> içeren modifiye atmosfer ambalajlarda depolanır. Dolayısıyla, her ürün için

optimum gaz kompozisyonlarının kullanımı gerekir (Wani vd., 2015).

AP ve vakum ambalajlamaya göre MAP işlemi kurutulmuş et ürünlerinin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini daha iyi koruyabilir. Aksu ve Kaya (2005), dilimlenmiş pastırmanın MAP (%50 N<sub>2</sub> ve %50 CO<sub>2</sub>) uygulamasıyla 150 gün depolanabileceğini ve 4°C'de depolanan örnekler için 10°C'de depolanan örneklerin daha yüksek TBARS değerine sahip olduğunu ancak, renk özelliklerini daha iyi koruyabildiğini tespit etmişlerdir. Parra vd. (2010) 4°C'de 120 gün depolanan *Iberian ham* örneklerinin TBARS değerini en düşük vakum ambalajlanan ve en yüksek %40 CO<sub>2</sub> uygulanan örneklerde belirlemişlerdir. Parra vd. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise; 4°C'de 60 gün boyunca karanlıkta depolanan *Iberian ham* örneklerinin daha açık renge, düşük TBARS değerine ve hekzenal içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Piras vd. (2016) 2 ve 8°C'de depolanan vakum ambalajlanmış *ham* örneklerinin mikrobiyel profilini koagülaz negatif stafilkoklar ve *Pseudomonas* spp. bakterilerinin oluşturduğunu, depolamanın 63. gününde TAMB sayısının önemli düzeyde bir artış göstererek bozulma sınırı olan 7 log kob/g'a ulaştığını ve *ham* dilimlerinin kabul edilebilir raf ömrünün 43 gün olduğunu belirlemişlerdir. Olmo vd. (2014) 120 gün depolama süresince Gram-negatif bakterilerin kontrolünü sağlamada vakum ambalajlanmış *lacon* örneklerine 500 MPa yüksek basınç uygulamasının en iyi korumayı sağladığını belirlemişlerdir. Rubio vd. (2006), 6°C'de 210 gün depolanan *cecina* örneklerinin pH değerinin depolama süresince arttığını ve su aktivitesi değerinin ise vakum uygulanan örneklerde azalırken, MAP uygulanan örneklerde değişmediğini belirlemişlerdir. Aynı çalışmada, MAP grubu örneklerin mikrobiyel yükleri vakum uygulanan örnekler için daha düşük tespit edilmiştir. Kim vd. (2014) benzer olarak, MAP uygulanan kuru kürlenmiş örneklerin TAMB sayısı ve Enterobacteriaceae sayısını vakum ambalajlanmış örnekler için daha düşük tespit etmişlerdir. Ayrıca, depolama süresince tüm

örneklerde duyuşal özelliklerin azaldığını belirlemişlerdir. Zouaghi ve Cantalejo (2016) ise, %40'dan fazla CO<sub>2</sub> içeren MAP uygulamalarının örneklerin duyuşal sertlik ve çiğnenabilirlik özelliklerini düşürdüğünü ve dondurarak kurutulmuş tavuk etinin ambalajlanması için en uygun MAP koşulunun %80 N<sub>2</sub> ve %20 CO<sub>2</sub> bileşimi şeklinde olduğunu belirlemişlerdir.

## SONUÇ

En eski muhafaza yöntemlerinden biri olan kurutma, geçmişte sadece güneşte doğal yolla yapılırken günümüzde teknolojinin ilerlemesiyle çok farklı yöntemlerle uygulanmaya başlanmıştır. Bu yöntemler temel olarak, su aktivitesinin düşürülmesi yoluyla mikrobiyel gelişimin engellenmesi prensibine dayanır. Ancak, kurutma yöntemi ve koşulları her zaman gıda güvenliğini sağlayamamakla birlikte ürünün rengi, lezzet ve aroması, boyutu ve tekstüründe çeşitli sorunlara neden olabilmektedir. Sonuç olarak; bu derlemede optimum kurutma ve depolama koşulları sağlanarak yüksek kalitede kurutulmuş et ürünlerinin üretilmesi gerekliliğine yer verilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Ahmat, T., Barka, M., Aregba, A.-W., Bruneau, D. (2015). Convective drying kinetics of fresh beef: An experimental and modeling approach. *J Food Process Pres*, 39: 2581-2595, doi: 10.1111/jfpp.12508.
- Akköse, A., Aktaş, N. (2014). Curing and diffusion coefficient study in pastırma, a Turkish traditional meat product. *Meat Sci*, 96: 311-314, doi: 10.1016/j.meatsci.2013.07.026.
- Akköse, A., Kaban, G., Karaoğlu, M.M., Kaya, M. (2018). Characteristics of pastırma types produced from water buffalo meat. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 24(2): 179-185, doi: 10.9775/kvfd.2017.18551.
- Aksu, M.I., Kaya, M. (2005). Effect of storage temperatures and time on shelf-life of sliced and modified atmosphere packaged pastırma, a dried meat product, produced from beef. *J Sci Food Agric*, 85: 1305-1312, doi: 10.1002/jsfa.2118.
- Aykın, E., Erbaş, M. (2016). Quality properties and adsorption behavior of freeze-dried beef



- meat from the *Biceps femoris* and *Semimembranosus* muscles. *Meat Sci*, 121: 272–277, doi:10.1016/j.meatsci.2016.06.030.
- Aykın-Dinçer, E. (2018). Kurutulmuş et ürünü üretmek için soğuk kurutucu tasarımı ve elde edilen kuru et ürününün kuruma-kalite karakteristiklerinin belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 121 s.
- Aykın-Dinçer, E., Erbaş, M. (2018). Drying kinetics, adsorption isotherms and quality characteristics of vacuum-dried beef slices with different salt contents. *Meat Sci*, 145: 114-120, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.06.007.
- Başlar, M., Kiliçli, M., Yalinkiliç, B. (2015). Dehydration kinetics of salmon and trout fillets using ultrasonic vacuum drying as a novel technique. *Ultrason Sonochem*, 27: 495-502, doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.06.018.
- Başlar, M., Kiliçli, M., Toker, O.S., Sağdıç, O., Arici, M. (2014). Ultrasonic vacuum drying technique as a novel process for shortening the drying period for beef and chicken meats. *Innov Food Sci Emerg*, 26: 182-190, doi: 10.1016/j.ifset.2014.06.008.
- Choi, Y.-S., Ku, S.-K., Park, J.-D., Kim, H.-J., Jang, A., Kim, Y.-B. (2015). Effects of drying condition and binding agent on the quality characteristics of ground dried-pork meat products. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 35(5): 597-603, doi: 10.5851/kosfa.2015.35.5.597.
- Deng, Y., Wang, Y., Yue, J., Liu, Z., Zheng, Y., Qian, B., Zhong, Y., Zhao, Y. (2014). Thermal behavior, microstructure and protein quality of squid fillets dried by far-infrared assisted heat pump drying. *Food Control*, 36: 102-110, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.08.006.
- Fu, X., Lin, Q., Xu, S., Wang, Z. (2015). Effect of drying methods and antioxidants on the flavor and lipid oxidation of silver carp slices. *LWT - Food Sci Technol*, 61: 251-257, doi: 10.1016/j.lwt.2014.10.035.
- Geng, J.T., Kaido, T., Kasukawa, M., Zhong, C., Sun, L.C., Okazaki, E., Osako, K. (2015). Mechanism study of high browning degree of mantle muscle meat from Japanese common squid *Todarodes pacificus* during air-drying. *Food Chem*, 176: 158-166, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.029.
- Heldman, D.R., Lund, D.B. (2006). Food Dehydration. In: *Handbook of Food Engineering*, Okos, M.R. (chief ed.), CRC press, New York, the USA, pp. 601-744.
- Huang, T.C., Nip, W.K. (2001). Intermediate-moisture meat and dehydrated meat. In: *Meat Science and Applications*, Hui, Y.H. (chief ed.), Marcel Dekker Inc., New York, the USA, pp. 403-442.
- Jin, G., Zhang, J., Yu, X., Zhang, Y., Lei, Y., Wang, J. (2010). Lipolysis and lipid oxidation in bacon during curing and drying-ripening. *Food Chem*, 123: 465-471, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.031.
- Kaban, G. (2009). Changes in the composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. *Meat Sci*, 82: 17-23, doi: 10.1016/j.meatsci.2008.11.017.
- Kilic, A. (2017a). LTHV (Low Temperature and High Velocity) drying characteristics and mathematical modeling of anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *J Food*, 42(6): 654-665, doi: 10.15237/gida.GD17043.
- Kilic, A. (2017b). Mathematical modeling of low temperature high velocity (LTHV) drying in foods. *J Food Process Eng*, 40(2): e12378, doi: 10.1111/jfpe.12378.
- Kim, I.-S., Jin, S.-K., Yang, M.-R., Ahn, D.U., Park, J.-H., Kang, S.-N. (2014). Effect of packaging method and storage time on physicochemical characteristics of dry-cured pork neck products at 10°C. *Asian-Australas J Anim Sci*, 27(11): 1623-1629, doi: 10.5713/ajas.2013.13728.
- King, V.A.-E., Chen, J.-F. (1998). Oxidation of controlled low-temperature vacuum dehydrated and freeze-dried beef and pork. *Meat Sci*, 48(1-2): 11-19, doi: 10.1016/S0309-1740(97)00070-3.
- Konieczny, P., Stangierski, J., Kijowski, J. (2007). Physical and chemical characteristics and

- acceptability of home style beef jerky. *Meat Sci*, 76: 253-257, doi: 10.1016/j.meatsci.2006.11.006.
- Kucerova, I., Hubackova, A., Rohlik, B.A., Banout, J. (2015). Mathematical modeling of thin-layer solar drying of eland (*Taurotragus oryx*) jerky. *Int J Food Eng*, 11 (2): 229-242, doi: 10.1515/ijfe-2014-0227.
- Kumar, A., Elavarasan, K., Kishore, P., Uchoi, D., Devi, H.M., Ninan, G., Zynudheen, A.A. (2017). Effect of dehydration methods on physico-chemical and sensory qualities of restructured–dehydrated fish product. *J Food Process Pres*, 41: e13277, doi: 10.1111/jfpp.13277.
- Li, M., Wang, H., Zhao, G., Qiao, M., Li, M., Sun, L., Gao, X., Zhang, J. (2014). Determining the drying degree and quality of chicken jerky by LF-NMR. *J Food Eng*, 139: 43-49, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.04.015.
- Lorenzo, J.M. (2014). Changes on physico-chemical, textural, lipolysis and volatile compounds during the manufacture of dry-cured foal “cecina”. *Meat Sci*, 96: 256–263, doi: 10.1016/j.meatsci.2013.06.026.
- Martins, M.G., Martins, D.E.G., Pena, R.D.S. (2015). Drying kinetics and hygroscopic behavior of pirarucu (*Arapaima gigas*) fillet with different salt contents. *LWT - Food Sci Technol*, 62: 144-151, doi: 10.1016/j.lwt.2015.01.010.
- Nathakaranakule, A., Kraiwanchkul, W., Soponronnarit, S. (2007). Comparative study of different combined superheated-steam drying techniques for chicken meat. *J Food Eng*, 80(4): 1023-1030, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.04.067.
- Ojha, K.S., Kerry, J.P., Tiwari, B.K. (2017). Investigating the influence of ultrasound pre-treatment on drying kinetics and moisture migration measurement in *Lactobacillus sakei* cultured and uncultured beef jerky. *LWT - Food Sci Technol*, 81: 42-49, doi: 10.1016/j.lwt.2017.03.011.
- Olmo, A.D., Calzada, J., Nuñez, M. (2014). Effect of high pressure processing and modified atmosphere packaging on the safety and quality of sliced ready-to-eat “lacón”, a cured–cooked pork meat product. *Innov Food Sci Emerg*, 23: 25-32, doi: 10.1016/j.ifset.2014.03.003.
- Öz, E., Kaban, G., Barış, Ö., Kaya, M. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from pastırma. *Food Control*, 77: 158-162, doi: 10.1016/j.foodcont.2017.02.017.
- Parra, V., Viguera, J., Sánchez, J., Peinado, J., Espárrago, F., Gutierrez, J.I., Andrés, A.I. (2012). Effect of exposure to light on physico-chemical quality attributes of sliced dry-cured Iberian ham under different packaging systems. *Meat Sci*, 90: 236-243, doi: 10.1016/j.meatsci.2011.07.007.
- Parra, V., Viguera, J., Sánchez, J., Peinado, J., Espárrago, F., Gutierrez, J.I., Andrés, A.I. (2010). Modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period chilled storage of dry-cured Iberian ham. *Meat Sci*, 84: 760-768, doi: 10.1016/j.meatsci.2009.11.013.
- Petit, T., Caro, Y., Petit, A.S., Santchurn, S.J., Collignan, A. (2014). Physicochemical and microbiological characteristics of biltong, a traditional salted dried meat of South Africa. *Meat Sci*, 96: 1313-1317, doi: 10.1016/j.meatsci.2013.11.003.
- Piras, F., Fois, F., Casti, D., Mazza, R., Consolati, S.G., Mazzette, R. (2016). Shelf life of sliced dry-cured ham packaged under vacuum. *J Food Process Pres*, 40: 1223-1228, doi: 10.1111/jfpp.12706.
- Plavsic, D., Okanovic, D., Gubic, J., Njezic, Z. (2015). Microbiological and chemical evaluation of dried smoked meat product. *Procedia Food Sci*, 5: 239-242, doi: 10.1016/j.profoo.2015.09.061.
- Ponwiboon, N., Rojanakorn, T. (2017). Desorption isotherms and drying characteristics of Nile tilapia fish sheet. *Int Food Res J*, 24(3): 1292-1300.
- Rubio, B., Martínez, B., González-Fernández, C., García-Cachán, M. D., Rovira, J., Jaime, I. (2006). Influence of storage period and packaging method on sliced dry cured beef “Cecina de León”: Effects on microbiological, physicochemical and sensory quality. *Meat Sci*, 74: 710-717, doi: 10.1016/j.meatsci.2006.06.002.
- Sara, S., Martina, C., Giovanna, F. (2014). High pressure carbon dioxide combined with high

- power ultrasound processing of dry cured ham spiked with *Listeria monocytogenes*. *Food Res Int*, 66: 264-273, doi: 10.1016/j.foodres.2014.09.024.
- Scheinberg, J.A., Svoboda, A.L., Cutter, C.N. (2014). High-pressure processing and boiling water treatments for reducing *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* during beef jerky processing. *Food Control*, 39: 105-110, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.11.002.
- Serra, X., Ruiz-Ramírez, J., Arnau, J., Gou, P. (2005). Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Sci*, 69(2): 249-254, doi: 10.1016/j.meatsci.2004.07.004.
- Sha, K., Lang, Y.-M., Sun, B.-Z., Su, H.-W., Li, H.-P., Zhang, L., Lei, Y.-H., Li, H.-B., Zhang, Y. (2017). Changes in lipid oxidation, fatty acid profile and volatile compounds of traditional Kazakh dry-cured beef during processing and storage. *J Food Process Pres*, 41: e13059, doi: 10.1111/jfpp.13059.
- Toldrá, F. (2011). Improving the sensory quality of cured and fermented meat products. In: *Processed Meats Improving Safety, Nutrition And Quality*, Kerry, J.P. (chief ed.), Woodhead, Oxford, pp. 508-520.
- Traffano-Schiffo, M.V., Castro-Giraldez, M., Fito, P.J., Balaguer, N. (2014). Thermodynamic model of meat drying by infrared thermography. *J Food Eng*, 128: 103-110, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.12.024.
- Wani, A.A., Singh, P., Langowski, H.C. (2014). Food technologies: Packaging. In: *Encyclopedia of Food Safety*, Motarjemi, Y. (chief ed.), Academic Press, Waltham, pp. 211–218.
- Wani, A.A., Singh, P., Pant, A., Langowski, H.C. (2015). Packaging methods for minimally processed foods In: *Minimally Processed Foods*, Siddiqui M.W. (chief ed.), Springer International Publishing, Switzerland, pp. 35-55.
- Yalçın, M.Y., Şeker, M. (2016). Effect of salt and moisture content reduction on physical and microbiological properties of salted, pressed and freeze dried turkey meat. *LWT - Food Sci Technol*, 68: 153-159, doi: 10.1016/j.lwt.2015.12.032.
- Ying, W., Ya-Ting, J., Jin-Xuan, C., Yin-Ji, C., Yang-Ying, S., Xiao-Qun, Z., Dao-Dong, P., Chang-Rong, O., Ning, G. (2016). Study on lipolysis-oxidation and volatile flavour compounds of drycured goose with different curing salt content during production. *Food Chem*, 190: 33-40, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.048.
- Yu, H.H., Song, M.W., Kim, T.-K., Choi, Y.-S., Cho, G.Y., Lee, N.-K., Paik, H.-D. (2018). Effect of various packaging methods on small-scale hanwoo (Korean native cattle) during refrigerated storage. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 38(2): 338-349, doi: 10.5851/kosfa.2018.38.2.338.
- Żochowska-Kujawska, J. (2016). Effects of fibre type and structure of longissimus lumborum (Ll), biceps femoris (Bf) and semimembranosus (Sm) deer muscles salting with different NaCl addition on proteolysis index and texture of dry-cured meats. *Meat Sci*, 121: 390-396, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.07.001.
- Zouaghi, F., Cantalejo, M.J. (2016). Study of modified atmosphere packaging on the quality of ozonated freeze-dried chicken meat. *Meat Sci*, 119: 123-131, doi: 10.1016/j.meatsci.2016.04.032.



**A COMPARATIVE STUDY ON THE SHELF LIFE OF THE YOGURTS  
PRODUCED FROM COW AND BUFFALO MILKS**

**Ercan Sarıca\*, Hayri Coşkun, İlker Can Kemer, Ezgi Seher Samur,  
Fatma Merve Çiğçi, Ayten Aktaş, Hilal Erer, Emine Vergili**

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu, Turkey

Received / Geliş: 04.02.2019; Accepted / Kabul: 21.04.2019 Published online / Online baskı: 16.05.2019

*Sarıca, E., Coşkun, H., Kemer, İ.C., Samur, E.S., Çiğçi, F.M., Aktaş, A., Erer, H., Vergili, E. (2019). A comparative study on the shelf life of the yogurts produced from cow and buffalo milks. GIDA (2019) 44 (3): 483-490 doi: 10.15237/gida.GD19035*

Sarıca, E., Coşkun, H., Kemer, İ.C., Samur, E.S., Çiğçi, F.M., Aktaş, A., Erer, H., Vergili, E. (2019). İnek ve manda sütünden yapılan yoğurtların raf ömürleri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma. GIDA (2019) 44 (3): 483-490 doi: 10.15237/gida.GD19035

**ABSTRACT**

In this study, it was aimed to study to compare the shelf life of yogurts made from cow and buffalo milks. The experimental yogurt samples were kept at a refrigerator for 4 weeks and were analyzed on days 1<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> of storage. According to the results obtained, yogurt samples (BY) made from buffalo milk had higher values of dry matter, fat, acidity and L\* values than those of yogurt samples (CY) made from cow milk. The counts of total aerobic microorganisms, lactobacillus, lactococcus and yeasts & molds of BY yogurt samples were lower than those of CY yogurt samples, especially yeasts and molds counts of BY samples (2.46 log CFU/g) were fairly lower than those of CY samples (4.00 log CFU/g). The BY samples were highly preferred by the panelists in every test period and the highest preference was obtained at the end of the storage.

**Keywords:** Shelf life, buffalo milk, cow milk, yogurt

**İNEK VE MANDA SÜTÜNDEN YAPILAN YOĞURTLARIN  
RAF ÖMÜRLERİ ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI BİR ÇALIŞMA**

**ÖZ**

Bu çalışmada inek ve manda sütlerinden yapılan yoğurtların raf ömürleri karşılaştırılmıştır. Yoğurt örnekleri 4 hafta boyunca buzdolabında saklanmıştır. Analizler depolamanın 1., 7., 14., 21. ve 28. günlerinde yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; manda sütünden yapılan yoğurtlarda (BY) kuru madde, yağ, asitlik ve L\* değerleri; inek sütünden yapılan yoğurtlardan (CY) elde edilen değerlere göre daha yüksek çıkmıştır. BY örneklerinin toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, laktobasil, laktokok ve maya ve küf sayıları ise CY örneklerinkinden düşük çıkmıştır. Özellikle BY örneklerinin maya ve küf sayıları (2.46 log KOB/g) CY örneklerinkinden (4.00 log KOB/g) oldukça düşük çıkmıştır. Manda sütünden yapılan yoğurtlar her test döneminde panelistlerin tercihi olmuş ve en yüksek tercihi depolamanın son gününde almışlardır.

**Anahtar kelimeler:** Raf ömrü, manda sütü, inek sütü, yoğurt

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ ercansarica@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000/ 4839

☎ (+90) 374 253 4558

## INTRODUCTION

Yogurt is a Turkish word. As product, yogurt is a gift from Turks to the world. In Turkish dictionary, yogurt is described as a white and viscous product coagulated by yogurt starter culture. In the works of "Divanü Lugati't-Türk" by Kaşgarlı Mahmud (1072-1074) and "Kutadgu Bilig" by Yusuf Has Hacip (1069-1070), the term yogurt was used as today's meaning. In Turkish tradition, the milks from cow, sheep, goat and buffalo are used in yogurt production. Almost every Turkish family produces their yogurt at home for their own consumption. As yogurt is directly consumed, it is also used for many other foods such as in making various soups, Tarhana, Keş or Kurut. In the past, butter was produced from yogurt by churning, and still this tradition may be applied in the villages (Yaygın, 1999). In addition, the first standard on yogurt (in fact for many products) was issued as law "Kanunname-i İhtisab-ı Bursa" in the year of 1502 during Sultan Bayezid II. Han of Ottoman Empire. In that law, yogurts from sheep milk and cow milk were described and it has been understood that yogurt from sheep milk was more valuable than that of cow milk. One interesting thing in that law is that the price of sheep milk-yogurt was defined and 1 pot of the fresh yogurt is for 1 "akçe (small silver coin)", until 6 days 2 pots for 1 "akçe" and after 6 days 3 pots for 1 "akçe" (Anonymous, 1995). As seen, the yogurt with high dry matter content was more precious in our past.

Amount of dry matter of milk carries an important role in making thickened yogurt which is important in traditional production. Metin (2001) reported that dry matter contents of the milks of cow, ewe, goats and buffalo were 12.6 %, 19.3 %, 13.2 % and 17.2 %, respectively. In this aspect, ewe and buffalo milks are preferable for thickened yogurt making in tradition of the country. Erkaya and Şengül (2012) found dry matters of the yogurts as 12.12 % from cow milk, 17.87 % from buffalo milk, 18.59 % from ewe milk and 15.06 % from goat milk.

Demirkaya and Ceylan (2013) analyzed 30 yoghurt samples collected from local markets of Bilecik province. They reported pH between 3.84-

4.80, acidity 0.72-1.17 %, fat 3.00-4.20 %, dry matter 11.25-16.05 %, protein 2.65-4.21 %; total aerobic mesophilic bacteria 5.08-9.19 log CFU/g, coliform bacteria <1.00-2.08 log CFU/g, mould and yeasts <1.00-5.87 log CFU/g, respectively. Karahan (2016) analyzed 20 home made yogurt samples collected from central villages of Batman city and found mean dry matter as 13.70 %, fat as 4.4 %, pH as 3.88, acidity as 0.99 % and protein as 4.90 %.

Nahar et al. (2007) reported dry matter, fat and acidity of buffalo yogurts as 16.86 %, 7.83 % and 0.188 %, respectively. Ghadge et al. (2008) found dry matter 21.8 %, pH 4.39 and acidity 0.188 % in buffalo yogurt samples. Mahmood et al. (2008) obtained dry matter as 19.53 %, pH 5.10 and acidity as 0.95 % for buffalo yogurts. Ertaş et al. (2014) stated that buffalo yogurts had 7.72 log CFU/g total aerobic mesophylic bacteria, 14.8 MPC/g coliform, 5.21 log CFU/g yeasts and 5.16 log CFU/g molds. On the other hand, Bilgin and Kaptan (2016) reported the counts of total mesophylic count between 7.10-8.57 log CFU/mL, coliforms 2.36-3.89 log CFU/mL and yeasts and molds 2.08-6.31 log CFU/mL in buffalo yogurts.

Kosikowski (1981) reported that the yogurts produced under hygienic conditions may be kept at refrigerator until three weeks. If the yogurts are not produced under hygienic conditions, the shelf-life may not exceed one week. Turantaş (1998) stated that yogurts produced under hygienic conditions and with a perfect fermentation may have 1-2 weeks of shelf life at 5 °C. If yogurts are desired to have long shelf-life, some techniques may be applied such as aseptic production, addition of chemicals, condensing or drying, pasteurization or sterilization and freezing (Özdemir et al., 1995). There is a belief among people or media in the country that yogurts stay at refrigerator without spoilage because they contain chemicals or additives. In fact, this belief may not be true. In this study, it was aimed to determine the effect of high dry matter content in milk on shelf-life of yogurt.

## MATERIAL AND METHODS

Whole cow and buffalo milks were used in production of the experimental yogurts. The milks were purchased from the farmers in Bolu and transported to the research and development laboratory of Department of Food Engineering, Bolu Abant İzzet Baysal University. Commercial yogurt starter culture was used for yogurt production and was propagated by using sterilized milk before usage. No additives were added to the yogurts. Yogurt production was carried out according to the method given by Yaygın (1999). Before processing, both kinds of milks were sampled for analyses of dry matter, pH and fat contents. Then, the milks were filtered with using both cloth and steel strainers. After that, the milks were heated at 80 °C for 20 min, cooled to 44±1 °C and starter culture (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) was added at ratio of 2 %. Thereafter, inoculated milk was filled into the sterilized plastic cases (PP, 100 cc). All procedures were carried out aseptically as much as possible. Fermentation of the set yogurts was ended when the pH reached 4.60. Then, the experimental yogurt samples were kept at a refrigerator (4 °C) for 4 weeks. Analyses were done on 1<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> days of storage. The study was carried out with two repetitions.

Analysis of pH, acidity, dry matter, protein and fat contents of the milks and also dry matter, fat,

acidity and pH of yogurt samples were done as described by Kurt et al. (1993). Total mesophilic aerobic count was determined according to the method given by Messer et al. (1985), counts of molds and yeasts by Frank et al (1965) and counts of lactococcus and lactobacillus by Terzaghi and Sandine (1975). A color measurement device (Konica Minolta CR400, Japan) was used to measure color values as CIE L\*, a\* and b\* of the milk and yogurt samples. Sensorial analyses were done by the methods of Yetim (2001) and “paired comparison test” was used to compare the samples. Statistical analyses were done according to Düzgüneş et al (1993), ANOVA of the data was performed and t-test was used to compare the groups of the samples (SPSS 20).

## RESULT AND DISCUSSIONS

Some properties of both cow and buffalo milks are presented in Table 1. As seen from the table, dry matter content of buffalo milk was much higher than that of cow milk. Also, fat and protein ratios were higher in buffalo milk. Moreover, L\* value (lightness) of buffalo milk was higher than the value of cow milk. Buffalos convert carotene from green fodder completely into vitamin A, and therefore color of buffalo milk is whiter than cow milk (Gürsoy, 2007). Color b value of cow milk was higher (yellow) than the value of buffalo milk. Ahmad (2010) reported L value as 74, “a” value as -1.6 and “b” as value 5.6 for buffalo milk.

Table 1. Some properties of milks used in the study ( $\bar{x}\pm SD$ )

Analyses	Cow milk (n=2)	Buffalo milk (n=2)
Dry matter (%)	11.09±0.117	18.24±0.177
Fat (%)	3.13±0.094	9.52±0.165
Protein (%)	2.92±0.042	4.22±0.101
Acidity (LA, %)	0.16±0.002	0.19±0.005
pH	6.73±0.004	6.73±0.033
Color L*	80.25±0.050	82.65±0.041
Color a*	-3.09±0.031	-2.30±0.059
Color b*	6.69±0.064	4.61±0.098

n: Number of samples analyzed,  $\bar{x}\pm SD$ : Mean with standard deviation L\*: lightness (0= black, 100= white), a\*: green (-) or red (+), b\*: blue (-) or yellow (+)

Some chemical changes in yogurt samples made with buffalo and cow milks during 28 days storage are given in Table 2. Dry matter contents of the yogurts increased after heating procedure in both yogurt samples because of water loss, but yogurt samples made with buffalo milk (BY) had higher dry matter content than the yogurt samples made

with cow milk (CY). In general, there was a significant ( $P < 0.05$ ) difference between amounts of dry matters of CY and BY samples. During storage, dry matter contents in yogurt samples did not change ( $P > 0.05$ ). Proportionally the same thing happened in fat ratios of the yogurt samples.

Table 2. Some chemical changes in cow and buffalo yogurt samples during storage

Properties	Yogurts	Storage time (Days) ( $\bar{x} \pm SD$ ) (n=2)					General mean
		1	7	14	21	28	
Dry matter (%)	CY	16.71 $\pm 0.404^a$	16.76 $\pm 0.082^a$	16.44 $\pm 0.588^a$	16.53 $\pm 0.443^a$	16.53 $\pm 0.342^a$	16.60 $\pm 0.329^B$
	BY	25.050 $\pm 0.254^a$	25.02 $\pm 0.064^a$	25.17 $\pm 0.004^a$	25.09 $\pm 1.240^a$	24.47 $\pm 1.185^a$	24.96 $\pm 0.635^A$
Fat (%)	CY	4.77 $\pm 0.189^a$	4.63 $\pm 0.035^a$	4.70 $\pm 0.141^a$	4.73 $\pm 0.094^a$	4.80 $\pm 0.095^a$	4.73 $\pm 0.111^B$
	BY	11.40 $\pm 0.566^a$	10.50 $\pm 0.990^a$	11.73 $\pm 0.094^a$	11.40 $\pm 0.000^a$	11.48 $\pm 1.108^a$	11.30 $\pm 0.691^A$
Acidity (LA, %)	CY	1.18 $\pm 0.025^b$	1.31 $\pm 0.052^{ab}$	1.37 $\pm 0.018^a$	1.37 $\pm 0.031^a$	1.42 $\pm 0.065^a$	1.33 $\pm 0.095^B$
	BY	1.33 $\pm 0.009^b$	1.49 $\pm 0.067^{ab}$	1.54 $\pm 0.009^{ab}$	1.66 $\pm 0.040^a$	1.74 $\pm 0.153^a$	1.55 $\pm 0.162^A$
pH	CY	4.24 $\pm 0.59^a$	4.12 $\pm 0.057^{ab}$	4.06 $\pm 0.042^{ab}$	4.06 $\pm 0.033^{ab}$	4.04 $\pm 0.031^b$	4.10 $\pm 0.083^B$
	BY	4.48 $\pm 0.031^a$	4.30 $\pm 0.007^b$	4.20 $\pm 0.021^{bc}$	4.15 $\pm 0.038^c$	4.11 $\pm 0.040^c$	4.25 $\pm 0.140^A$

CY: Cow yogurt, BY: Buffalo yogurt,  $\bar{x}$  : Mean, SD: Standard deviation, n: number of the samples analyzed, <sup>ab</sup>: Means in each row show statistically difference ( $P > 0.05$  or  $P < 0.05$ ) among storage days for each property of the samples. <sup>A,B</sup>: Means in the same column show statistically difference between yogurts in terms of related property ( $P < 0.05$ ).

Acidity as lactic acid (%) was higher in the samples of BY than the samples of CY in general ( $P < 0.05$ ). During storage, the acidity values of both CY and BY samples increased and this increment was significant ( $P < 0.05$ ) between on day 1 and day 28 in each yogurt samples. Even the samples of BY had higher amount of acidity, their pH values remained higher than the samples of CY. This phenomenon was seen in both cow and buffalo milks as well (Table 1) and this may be because of buffering capacity, pH and viscosity of buffalo milk which are higher than those of cow milk (Gua and Hendricks, 2010).

Color changes in BY and CY samples are presented in Table 3. In general comparison, color L\* value of BY samples had higher value than CY samples and this difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Whiter color in yogurt samples made from buffalo milk (BY) is an expected situation because in buffalo milk amount of vitamin A, having white color, is higher than that of cow milk (Gürsoy, 2007). L\* color of the samples CY changed during storage especially on days 1 and 14, 1 and 28 significantly ( $P < 0.05$ ). The similar changes happened in L\* values of the samples of BY especially on days 1 and 14 ( $P < 0.05$ ).

## Shelf life of yogurts produced from cow and buffalo milks

Table 3. Color changes in the yogurt samples made from cow and buffalo milks

Color values	Yogurts	Storage time (Days) ( $\bar{x} \pm SD$ ) (n=2)					General mean
		1	7	14	21	28	
L*	CY	93.035 $\pm 0.035^c$	95.110 $\pm 0.410^{ab}$	96.195 $\pm 0.007^a$	93.975 $\pm 0.530^{bc}$	95.015 $\pm 0.530^{ab}$	94.666 $\pm 1.170^B$
	BY	95.700 $\pm 0.382^b$	96.676 $\pm 0.007^{ab}$	98.405 $\pm 1.096^a$	96.690 $\pm 0.721^{ab}$	96.865 $\pm 0.149^{ab}$	96.867 $\pm 1.026^A$
a*	CY	-3.425 $\pm 0.078^a$	-3.590 $\pm 0.000^{ab}$	-3.550 $\pm 0.014^{ab}$	-3.745 $\pm 0.078^b$	-3.605 $\pm 0.120^{ab}$	-3.583 $\pm 0.121^B$
	BY	-2.240 $\pm 0.071^b$	-2.030 $\pm 0.071^a$	-2.070 $\pm 0.014^{ab}$	-2.035 $\pm 0.007^a$	-2.070 $\pm 0.014^{ab}$	-2.089 $\pm 0.088^A$
b*	CY	18.810 $\pm 0.679^a$	19.360 $\pm 0.014^a$	18.840 $\pm 0.044^a$	19.165 $\pm 0.191^a$	18.965 $\pm 0.714^a$	19.028 $\pm 0.426^A$
	BY	5.830 $\pm 0.212^a$	5.275 $\pm 0.374^a$	5.450 $\pm 0.042^a$	5.370 $\pm 0.071^a$	5.385 $\pm 0.248^a$	5.462 $\pm 0.263^B$

L\*: lightness (0= black, 100= white), a\*: green (-) or red (+), b\*: blue (-) or yellow (+), CY: Cow yogurt, BY: Buffalo yogurt,  $\bar{x}$ : Mean, SD: Standard deviation, n: number of the samples analyzed, <sup>a,b</sup>: Means in each row show statistically difference ( $P > 0.05$  or  $P < 0.05$ ) among storage days for each property of the samples. <sup>A,B</sup>: Means in the same column show statistically difference between yogurts in terms of related property ( $P < 0.05$ ).

Higher color a\* value was obtained from BY than the samples of CY. During storage, the changes in a\* values of the samples BY and CY were significantly difference ( $P < 0.05$ ) on days 1 and 21. Color b\* values (19.028) of the samples CY were fairly higher than those (5.462) of the samples BY and this was found significant ( $P < 0.05$ ). This means that cow milk-yogurt samples (CY) had yellower color than buffalo milk-yogurt samples (BY) because cows transport more carotene from green fodder to milk and their milks become yellower than some other species (Gürsoy, 2007). Color b\* values of both samples CY and BY showed no changes during storage ( $P > 0.05$ ).

During storage, the changes in some microbiological properties of the yogurt samples made from cow and buffalo milks are given in Table 4. Both yogurt samples had total aerobic counts around 9.00 log CFU/g. Turantaş (1998) reported that fresh yogurts may contain  $10^9$ /g microorganisms and this number may decrease during storage. There was no statistically difference between the yogurts CY and BY when general mean compared ( $P > 0.05$ ). While the counts differed ( $P < 0.05$ ) during storage of the

samples CY, the samples of BY had no differences among storage periods ( $P > 0.05$ ). The counts of mesophilic aerobic counts obtained in this study were higher than those of the findings obtained by Ertaş et al. (2014).

Higher count of lactobacillus was found in the samples of CY ( $P < 0.05$ ) in general. Neither the number of lactobacillus of CY nor those of BY changed during storage ( $P > 0.05$ ). The number of lactobacillus was higher than those reported by Bilgin ve Kaptan (2016). The number of lactococcus were counted over 9.00 log CFU/g for each group of the samples CY and BY. The differences between CY and BY samples were statistically different ( $P < 0.05$ ), but different during storage ( $P > 0.05$ ).

General mean of yeasts and molds were found higher in the samples of CY ( $P < 0.05$ ). In this term, about 10.000 CFU/g yeasts and molds was determined in the samples of CY while about 290 CFU/g yeasts and molds was detected in BY samples, meaning that CY samples had about 34.5 fold more yeasts and molds when compared with BY samples. This is a salient finding of the study because yeasts generally cause yeasty taste and gas



in yogurts and molds may produce rancid and bitter taste in yogurts (Ünlütürk, 1998). We may say that the yogurts made from buffalo milk have longer self-life than the yogurts made from cow milk. In addition, the counts of yeasts and molds increased during storage in both groups of

yogurts (CY and BY), but CY samples had higher numbers. The numbers on days 21 and 28 were significantly higher than on days 1 and 7 in each groups of yogurts ( $P < 0.05$ ). Ertaş et al. (2014) reported higher counts of yeasts and molds (over 5 log CFU/g) in buffalo yogurts.

Table 4. Microbiological properties of the yogurt samples made from cow and buffalo milks

Properties (log CFU/g)	Yogurts	Storage time (Days) ( $\bar{x} \pm SD$ ) (n=2)					General mean
		1	7	14	21	28	
Total aerobic count	CY	9.26 $\pm 0.021^{ab}$	9.07 $\pm 0.179^b$	9.23 $\pm 0.042^{ab}$	8.92 $\pm 0.007^b$	9.42 $\pm 0.042^a$	9.18 $\pm 0.189^A$
	BY	9.10 $\pm 0.219^a$	9.12 $\pm 0.145^a$	9.22 $\pm 0.081^a$	8.77 $\pm 0.932^a$	9.41 $\pm 0.088^a$	9.12 $\pm 0.392^A$
Lactobacillus	CY	8.53 $\pm 0.016^a$	8.44 $\pm 0.266^a$	8.64 $\pm 0.152^a$	8.44 $\pm 0.038^a$	8.65 $\pm 0.205^a$	8.54 $\pm 0.158^A$
	BY	8.28 $\pm 0.056^a$	8.23 $\pm 0.004^a$	8.38 $\pm 0.168^a$	8.18 $\pm 0.137^a$	8.24 $\pm 0.107^a$	8.26 $\pm 0.109^B$
Lactococcus	CY	9.37 $\pm 0.188^a$	9.13 $\pm 0.083^a$	9.34 $\pm 0.185^a$	9.28 $\pm 0.051^a$	9.48 $\pm 0.112^a$	9.31 $\pm 0.162^A$
	BY	9.14 $\pm 0.084^a$	9.10 $\pm 0.100^a$	9.27 $\pm 0.137^a$	9.12 $\pm 0.214^a$	9.18 $\pm 0.042^a$	9.16 $\pm 0.116^B$
Yeasts and molds	CY	1.52 $\pm 0.557^c$	3.23 $\pm 0.190^b$	4.46 $\pm 0.037^a$	5.32 $\pm 0.073^a$	5.47 $\pm 0.209^a$	4.00 $\pm 1.566^A$
	BY	0.50 $\pm 0.704^c$	1.49 $\pm 0.696^{bc}$	2.16 $\pm 1.095^{abc}$	4.02 $\pm 0.021^{ab}$	4.16 $\pm 0.161^a$	2.46 $\pm 1.586^B$

CY: Cow yogurt, BY: Buffalo yogurt,  $\bar{x}$ : Mean, SD: Standard deviation, n: number of the samples analyzed, <sup>a,b</sup>: Means in each row show statistically difference ( $P > 0.05$  or  $P < 0.05$ ) among storage days for each property of the samples. <sup>A,B</sup>: Means in the same column show statistically difference between yogurts in terms of related property ( $P < 0.05$ ).

As brief, the sample BY made from buffalo milk had lower count of total aerobic count, lactobacillus, lactococcus and especially yeasts and molds. This might be due to the high dry matter contents (around 25 %) in these yogurt samples (BY) (see Table 2), most probably resulting with lowering water activity and increasing osmotic pressure and both of them suppress the growth of microorganisms (Tamime and Robinson, 1985).

Sensorial analyses of the yogurt samples by the panelists are shown in Figure 1.

As seen from Figure 1a., all the panelists (100 %) evaluated the samples that they have different characteristics from each other. In Figure 1b., the

panelists highly preferred the yogurt samples (BY) made from buffalo milk in terms of color and appearance during all storage days. On day 28, almost 88 % of the panelists preferred the color and appearance of BY samples. The textural preference of the panelists was always highest for the samples BY (Figure 1c), this preference increased throughout storage time and the highest preference (91.66 %) was observed on day 28. In contrast, the textural preference of the panelists for CY samples decreased throughout storage days. In terms of taste and flavor (Figure 1d), the panelists preferred the samples BY and the preference started from 54.1 % on day 1 and ended with 87.5 % on day 28. Panelists stated that the samples of BY were still tasty on day 28. The samples of CY received less preference at the end

of storage day 28 (12.5 %) and panelists noted sour taste for CY samples. As known, acid production may continue during storage at slow rate and sharp sour taste occurs (Ünlütürk, 1998). In brief, the yogurts made from buffalo milk were always highly preferred by the panelists and the highest preference was obtained at the end of the

storage. From this result, it could be said that the yogurts made from buffalo milk may be stored more than 4 weeks at 4 °C without addition of additives and also the shelf life of BY yogurts was longer than those of the yogurts made from cow milk.

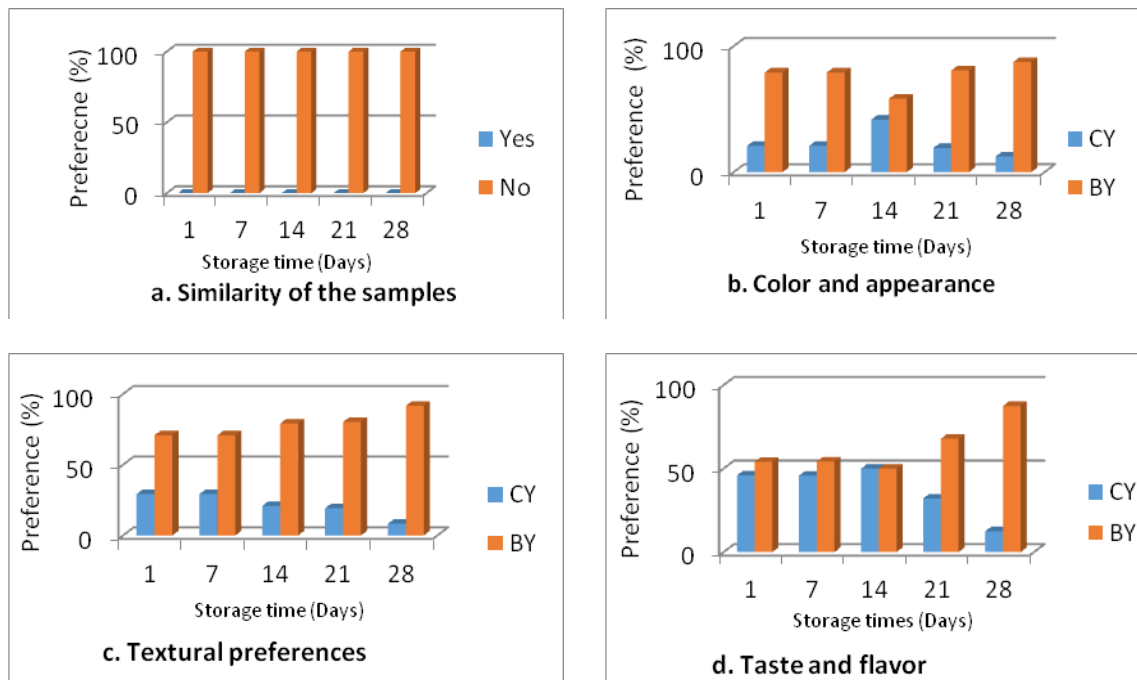


Figure 1. Results of sensorial analyses by the panelists

As a conclusion, BY samples made from buffalo milk with high dry matter had long shelf-life than the other (CY). This was supported by the counts of yeasts and molds, and also by sensorial preferences. There is unfortunately a wrong belief among people in the country and in Media that if yogurt has long shelf-life and stay in refrigerator without spoilage by weeks, they must have protecting agents such as additives. This study showed that yogurt may have long shelf life without additives. Basic things to do are that yogurts should be produced using milk with high dry matter content and of course aseptic conditions should be applied in order to extend shelf-life.

## REFERENCES

- Ahmad, S. (2010). Understanding of the molecular changes in casein micelles of buffalo milk as a function of physico-chemical conditions: a comparison with cow milk. Ph.D. Thesis, Agrocampus Ouest-INRA, France, 240 p.
- Anonymous (1995). The Law of The Municipality of Bursa (Kanunname-i İhtisab-ı Bursa). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- Bilgin, B., Kaptan, B. (2016). A study on microbiological and physicochemical properties of homemade and small scale dairy plant buffalo milk yoghurts. *Int J Pharm Res Allied Sci*, 5(3): 29-36.

- Demirkaya, A. K., Ceylan, Z. G. (2013). Investigation of chemical and Microbiological quality of yoghurts marketed in Bilecik Province. *Ataturk Univ J Vet Sci*, 8(3): 202-209.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. (1993). *İstatistik Metodları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 1291 s.
- Erkaya, T., Şengül, M. (2012). A comparative study on some quality properties and mineral contents of yoghurts produced from different type of milks. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18(2): 323-329.
- Ertaş, N.A.S., Karadal, F., Gönülalan, Z. (2014). Microbiological quality of water buffalo yoghurts retailed in Kayseri. *J Fac Vet Med İstanbul Univ*, 40 (1): 83-89.
- Frank, J.F., Hankin, L., Koburger, J.A., Marth, E.H. (1985). Tests for group of microorganisms. In: *Standart Methods for The Examination of Dairy Products*, Richardson, G. H. (chief ed.), 15th ed. American Public Health Association, Washington D.C., the USA, pp. 189-201.
- Ghadge, P.N., Prasad, K., Kadam, P.S. (2008). Effect of fortification on the physico-chemical and sensory properties of buffalo milk yoghurt. *EJEAFChe*, 7(5): 2890-2899.
- Guo, M., Hendricks, G. (2010). Improving buffalo milk. In: *Improving the safety and quality of milk*, Griffiths, M. W. (chief ed.), Volume 2, Woodhead Publishing Limited, Oxford, the UK, pp. 402-416.
- Gürsoy, A. (2007). Sütün nitelikleri: *Süt Teknolojisi*, Yetişemiyen, A. (baş ed.), Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 27-54.
- Karahan, L.E. (2016). Chemical and textural properties of yoghurts marketed in Batman Province. *Batman University Journal of Life Sciences*, 6(2/2): 59-65.
- Kosikowski, F.V. (1981). Properties of commercial flavored frozen yogurts. *J. Food Production*, 44(11): 853-856.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (1993). *Süt ve Mamiilleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, Türkiye, 257 s.
- Mahmood, A., Abbas, N., Gilani, A.H. (2008). Quality of stirred buffalo milk yogurt blended with apple and banana fruits. *Pakistan J. Agric. Sci.*, 45 (2), 275-279.
- Messer, J.W., Behney, H.M., Leudecke, L.O. (1985). Microbiological count methods. In: *Standart Methods for The Examination of Dairy Products*, Richardson, G. H. (chief ed.), 15th ed. American Public Health Association, Washington D.C., the USA, pp. 133-141.
- Metin, M. (2001). *Süt teknolojisi: Sütün bileşimi ve işlenmesi*. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye, 802 s.
- Nahar, A., Amin, M.A., Alam, M.K., Wadud, A., Islam, M.N. (2007). A comparative study on the quality of Dahi (yoghurt) prepared from cow, goat and buffalo milk. *Int. J. DairySci.*, 2(65): 260-267.
- Özdemir, S., Gökalp, H.Y., Zorba, Ö. (1995). Yoğurdun muhafaza teknikleri. III. Milli Süt Ürünleri Sempozyumu "Yoğurt". Milli Produktivite Merkezi Yayınları, Ankara, Türkiye, s. 166-177.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (1985). *Yogurt science and technology*. Pergamon Press, Oxford, England, 431 p.
- Terzaghi, B.E., Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29(6): 807-813.
- Turantaş, F. (1998). *Fermente gıdalar. Gıda mikrobiyolojisi*, Ünlütürk, A., Turantaş, F. (ed.), Mengi Tan Basımevi, İzmir, Türkiye, s. 455-481.
- Ünlütürk, A. (1998). Süt ve süt ürünlerinde mikrobiyolojik bozulmalar, patojen mikroorganizmalar ve muhafaza yöntemleri, *Gıda Mikrobiyolojisi*, Ünlütürk, A., Turantaş, F. (ed.), Mengi Tan Basımevi, İzmir, Türkiye, s. 289-307.
- Yaygın, H. (1999). *Yoğurt teknolojisi*. Akdeniz Üniversitesi Basımevi, Antalya, Türkiye, 331 s.
- Yetim, H. (2001). *Gıda Analizleri*. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, Erzurum, Türkiye, 161 s.

## THE LEVEL OF 3-MCPD FATTY ACID ESTERS IN VEGETABLE OILS AND MARGARINES COLLECTED FROM TURKISH MARKET

**Derya Deniz Şirinyıldız, Ecem Aydın, Yeliz Öztürk,  
Tuğçe Avcı, Aslı Yıldırım, Aslı Yorulmaz\***

Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Aydın, Turkey

Received / Geliş: 11.02.2019; Accepted / Kabul: 05.05.2019 Published online / Online baskı: 30.05.2019

*Şirinyıldız, D.D., Aydın, E., Öztürk, Y., Avcı, T., Yıldırım, A., Yorulmaz, A. (2019). The level of 3-MCPD fatty acid esters in vegetable oils and margarines collected from turkish market. GIDA (2019) 44 (3): 491-497 doi: 10.15237/gida. GD19039*

Şirinyıldız, D.D., Aydın, E., Öztürk, Y., Avcı, T., Yıldırım, A., Yorulmaz A. (2019). Türk piyasasından toplanan bitkisel yağlar ve margarinerde 3-MCPD yağ asidi esterlerinin düzeyi. *GIDA* (2019) 44 (3): 491-497 doi: 10.15237/gida. GD19039

### ABSTRACT

The aim of the present research was to investigate the content of 3-MCPD esters in vegetable oils (hazelnut, sunflower, rapeseed and corn oil) and margarines sold out in Turkish local markets. A series of 27 margarines and vegetable edible oil collected from markets were analyzed in the study according to DGF C VI 18 (10) method. Among vegetable oils, corn oil presented highest amount of 3-MCPD esters (2.49 mg/kg) followed by rapeseed oil (0.95 mg/kg), sunflower oil (0.79 mg/kg) and hazelnut oil (0.45 mg/kg), respectively. Highest amount of 3-MCPD esters was detected for margarines (4.54 mg/kg) among analyzed samples. The results demonstrate that 3-MCPD esters can occur at different levels in various vegetable oils and margarines available on Turkish markets.

**Keywords:** 3-MCPD esters, margarine, market survey, vegetable oil

## TÜRK PİYASASINDAN TOPLANAN BİTKİSEL YAĞLAR VE MARGARİNLERDE 3-MCPD YAĞ ASİDİ ESTERLERİNİN DÜZEYİ

### ÖZ

Çalışmanın amacı Türkiye piyasasında satışa sunulan bitkisel yağlar (fındık yağı, ayçiçek yağı, kanola yağı ve mısır yağı) ve margarinerde 3-MCPD ester içeriklerinin belirlenmesidir. Çalışmada marketlerden alınan toplam 27 adet margarin ve bitkisel yağ DGF C VI 18 (10) metoduna göre analiz edilmiştir. Bitkisel yağlar arasında en yüksek 3-MCPD ester miktarı (2.49 mg/kg) mısır yağında tespit edilmiş olup, bunu sırasıyla kanola yağı (0.95 mg/kg), ayçiçek yağı (0.79 mg/kg) ve fındık yağı (0.45 mg/kg) izlemiştir. Analiz edilen örnekler arasında en yüksek 3-MCPD ester miktarı margarinerde (4.54 mg/kg) saptanmıştır. Çalışma sonuçları Türkiye piyasasında yer alan çeşitli bitkisel yağlar ve margarinerde farklı miktarlarda 3-MCPD esterlerinin bulunabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** 3-MCPD esterleri, bitkisel yağ, margarin, pazar araştırması

\* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ asliyorulmaz@adu.edu.tr,

☎ (+90) 256 213 7503,

☎ (+90) 256 213 6686

## INTRODUCTION

3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), the representer of chlorinated chloropropanols (Hamlet et al., 2002) is a food processing contaminant which may be formed during processing of various fat containing matrices at elevated temperatures in the presence of chloride containing components (Ermacora and Hrnčirik, 2013; Karl et al., 2016). 3-MCPD belongs the group of chloropropanols which consists of 5 main compounds including 2-monochloropropane-1,3-diol (2-MCPD), 3-monochloropropane-1-ol, 1,3-dichloropropane-2-ol (1,3-DCP), 2,3-dichloropropane-1-ol (2,3-DCP) and 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) (Lee and Khor, 2015). The studies have shown that the chloropropanols, specially chloropropanediols, can occur both in free and ester (bound) forms (Jedrkiewicz et al., 2016). The free form of 3-MCPD was firstly discovered by Velišek et al. (1978) in acid-hydrolysed vegetable proteins and its ester form was initially discovered by Davidek et al. (1980). In following years, 3-MCPD was detected in its free form in many heat treated food products including coffee (Doležal et al., 2005), cheese (Crews et al., 2001), malt-based food products (Hamlet et al., 2002), toast, biscuits and bread crust (Hamlet and Sadd, 2004; Breitling-Utzmann et al., 2005; Weißhaar, 2011). The maximum daily tolerable limit was defined by Scientific Committee on Food in 2001, as 2 µg/kg body weight for free 3-MCPD (Karl et al., 2016).

In a recent study (Wöhrlin et al., 2015), it was shown that 3-MCPD esters may occur even in infant formula. In the report of The German Federal Institute for Risk Assessment (BfR), it was reported that 3-MCPD was fully cleaved from its esters in gastrointestinal tract (Bockisch et al., 1993). From this point of view, it has been declared that all threshold levels for the compounds in free form are valid for the ester form. Furthermore, in the studies of Abraham et al. (2013) and Appel et al. (2013), the relative bioavailability of 3-MCPD esters was reported as 86 %.

It was in the literature reported that 3-MCPD is hazardous for human health (Cho et al., 2008;

MacMahon et al., 2013). Until today, 3-MCPD was detected in various foods and food ingredients, especially in refined vegetable oils (Zelinková et al., 2006; Weißhaar, 2008; Weißhaar and Perz, 2010; Schilter et al., 2011).

Oil refining is an essential process to ensure oil quality and safety (Hrnčirik and van Duijn, 2011). During oil refining, not only free fatty acids are removed, but also undesired flavour and color components and minor contaminants such as pesticides and polyaromatic hydrocarbons are removed (Hrnčirik and van Duijn, 2011). However, thermal treatment of oils may trigger the occurrence of some undesired components including *trans* fatty acids, acylglycerol polymers (Beljaars et al., 1994), cyclic fatty acid esters (Destailats and Angers, 2005) and 3-MCPD esters (Hrnčirik and van Duijn, 2011; Craft et al., 2012). There are two main thermal treatments where oils are subjected to high temperatures; deep fat frying and deodorization (Destailats et al., 2012). Deodorization is attributed as a pure thermal process of lipids without the addition of other food constituents (Destailats et al., 2012). During refining of edible oils, deodorization is characteristically conducted at temperatures between 180°C and 270°C under 3-7 mbar vacuum with the introduction of injected stripping steam into the process (Dijkstra and Segers, 2007).

It has been in the literature reported that chlorination of acylglycerols may occur during deodorization step of oils and this situation results in the formation of 3-MCPD esters (Zelinková et al., 2006; Franke et al., 2009).

In refined oils, the presence of 3-MCPD esters was primarily reported by Zelinková et al. (2006). In their study, the contents of 3-MCPD esters were found up to 2.46 mg/kg for virgin oils. Since almost no bound 3-MCPD was found in unrefined oils, the major problem was reported as the refining process in terms of the occurrence of 3-MCPD esters (Weißhaar, 2008). Jedrkiewicz et al. (2016) reported that 3-MCPD ester levels of refined rapeseed, sunflower and olive oils in the Polish markets were between 0.26-0.30 mg/kg.

On the other hand, the lipid fractions in margarines available on Polish markets contained 1.3-7.3 mg/kg of bound 3-MCPD. Becalski et al. (2015) stated that walnut, grape seed, rice bran and palm oil shortenings were found to have the highest level of 3-MCPD esters in the Canadian market. MacMahon et al. (2013) investigated the content of 3-MCPD esters present in edible oils in the United States and they reported that the amount of 3-MCPD esters ranged from 0.005 to 7.2 mg/kg in 94 refined edible oils.

There are various reports in literature analysing the contents of 3-MCPD esters in vegetable oils and different products, however to the best of our knowledge there is no information considering the amounts of 3-MCPD esters in vegetable oils and margarines in Turkish local markets. The current data may be useful to regulate maximum daily tolerable limit of 3-MCPD and other compounds belonging to the group of chloropropanols.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials and Chemicals

The table margarine and vegetable oil samples were collected from local markets in Aydın, Turkey. The samples were kept at 4°C until being analyzed. There were a totally of 5 corn oil, 3 sunflower oil, 3 hazelnut oil, 2 rapeseed oil and 14 margarine samples.

Toluene, *tert*-butyl methyl ether (tBME), methanol, hexane, ethyl acetate, diethyl ether, *iso*-octane, sodium methoxide, sodium chloride, sodium bromide, sodium sulphate, phenyl boronic acid and 3-chloro-1,2-propane-1,1,2,3,3-d5-diol were purchased from Sigma (St-Louis, USA).

### Methods

#### Determination of 3-MCPD ester contents

The concentrations of 3-MCPD esters were determined according to the DGF Standard Method C-VI 18 (10) (DGF, 2009). In this indirect method, after addition of internal standard and *tert*-butyl methyl ether, the esters were cleaved under alkali conditions using sodium methoxide. The reaction was then stopped either with sodium chloride (Assay A) or sodium

bromide (Assay B). The non-desired, non-polar compounds were then removed using *n*-hexane and the resulting solution was extracted with the mixture of diethyl ether and ethyl acetate. Finally it was derivatized with phenylboronic acid and injected to GC-MS (GC-MS 2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) system. Analysis of target compounds was performed according to the method of Cheng et al. (2016). The chromatographic separation was achieved using a capillary column (Restek Rxi-5 ms column, 30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 μm film thickness) and the injector was run in splitless mode. Helium was the carrier gas with a constant flow rate of 1.18 mL/min. The oven temperature programme was set as follows: 80°C raised to 155°C with a heating rate of 5°C/min and then it was raised to 300°C with 60°C/min. Quantification of the results was carried out by monitoring characteristic ions at *m/z* 150 for 3-MCPD-d5 and *m/z* 147 for 3-MCPD.

## RESULTS AND DISCUSSION

The ester-linked 3-MCPD contents of corn, sunflower, hazelnut and rapeseed oils belonging to different brands were presented in Table 1. Among analyzed samples of vegetable oils the content of 3-MCPD esters ranged between 0.51-2.49 mg/kg for corn oil belonging to different brands. Weißhaar (2011) reported that the median 3-MCPD ester content as 1.7 mg/kg in refined corn oils sold out in German markets. Haines et al. (2011) and Kuhlmann (2011), on the other side, reported lower 3-MCPD ester contents for refined/processed corn oils.

The sunflower oils contained 0.12-0.79 mg/kg of bound 3-MCPD. The results are in good agreement with the results (0.6 mg/kg) of Raznim et al. (2012) in terms of 3-MCPD esters and with the results of Kuhlmann (2011), who reported that refined sunflower oil contained 0.1-2.1 mg/kg of bound 3-MCPD. However Zelinková et al. (2006) reported lower content of 3-MCPD esters for refined sunflower oils in Hungarian (<300 μg/kg) and French markets (<100 μg/kg).

The rapeseed oils in local markets in Turkey contained 0.42-0.95 mg/kg of 3-MCPD esters.

Similar 3-MCPD ester contents (0.6 mg/kg) for retailed rapeseed oils was obtained by Raznim et al. (2012). Lower content of 3-MCPD esters in refined rapeseed oil was reported by Kuhlmann (2011), who showed that refined rapeseed oils contained from 0.1 to 1.0 mg/kg of bound 3-MCPD.

Table 1. The amount of 3-MCPD esters (mg/kg) in vegetable oils sold out in local markets of Turkey (C: Corn oil, S: Sunflower oil, H: Hazelnut oil, R: Rapeseed oil)

Oil	3-MCPD Esters (mg/kg)
C1	0.83±0.17
C2	0.57±0.17
C3	2.49±0.36
C4	0.51±0.06
C5	1.49±0.22
S1	0.12±0.02
S2	0.79±0.18
S3	0.61±0.02
H1	0.24±0.01
H2	0.45±0.13
H3	0.26±0.04
R1	0.95±0.20
R2	0.42±0.08

The content of bound 3-MCPD in hazelnut oil was 0.24-0.45 mg/kg. Similar findings (<100 µg/kg) in terms of 3-MCPD ester contents were reported by Zelinková et al. (2006) for hazelnut oil from French origin. However higher amounts of bound 3-MCPD was reported by Kuhlmann (2011), who showed that in addition to palm oil, hazelnut oil contained unexpected high levels of 3-MCPD esters (19 mg/kg). Crews (2012) also reported high contents of ester-linked 3-MCPD (1.2-19 mg/kg) for refined hazelnut oil.

There were notable differences between the content of 3-MCPD esters of vegetable oil samples analyzed in the current work. The main precursors for the formation of 3-MCPD esters were reported in literature as mono- and diacylglycerols, total chlorine and chlorides (Franke et al., 2009). However the amount of critical precursors generally depend on oil type

and quality (Craft and Destailats, 2014). The differences in 3-MCPD ester contents of various oils may be attributed to the properties of raw material and deodorization conditions applied during refining process.

The margarines available on Turkish markets contained 0.57-4.54 mg/kg of 3-MCPD esters (Table 2). The highest level of 3-MCPD esters (4.54 mg/kg) on Turkish markets was lower than the findings of Jedrkiewicz et al. (2016) who reported that the lipid fractions of margarines available on Polish markets contained 1.3-7.3 mg/kg of bound 3-MCPD. The findings in the current study were also compatible to the results for margarines (0.4-4.5 mg/kg) reported by Weißhaar (2011) and German Federal Ministry of Food and Agriculture who stated that 200 margarine samples from German markets contained 224 µg/kg of 3-MCPD esters (Raczyk et al., 2017). Chung et al. (2013) also reported similar 3-MCPD ester content (93 µg/kg) for the margarines retailed in Hong Kong. Different studies in literature also highlighted that margarines are an abundant source of 3-MCPD esters (Bakhiya et al., 2011; Jedrkiewicz et al., 2016).

Table 2. The amount of 3-MCPD esters (mg/kg) in margarines sold out in local markets of Turkey (M: Margarine)

Oil	3-MCPD Esters (mg/kg)
M1	0.57±0.15
M2	0.58±0.05
M3	1.17±0.34
M4	0.84±0.17
M5	1.04±0.14
M6	1.93±0.02
M7	2.47±0.36
M8	1.35±0.42
M9	1.99±0.26
M10	1.04±0.15
M11	0.88±0.13
M12	1.52±0.28
M13	2.35±0.17
M14	4.54±0.97

In the present work, the 3-MCPD ester contents of margarines were in general higher than vegetable oils. This situation can be linked to the fact that almost all margarine samples tested in the current study contained palm oil which was reported to contain high amounts of 3-MCPD esters in literature (Raznim et al., 2012; Jedrkiewicz et al., 2016). Moreover the situation can also be linked to presence of salt in margarine formulations which may facilitate the formation of 3-MCPD esters (Becalski et al., 2015).

### CONCLUSION

The objective of the current study was to determine the amounts of 3-MCPD esters in vegetable oils and margarines sold out in Turkish local markets.

Results of the study demonstrated that while some oils like sunflower, hazelnut and rapeseed oil showed contents of 3-MCPD esters below 1 mg/kg; corn oil and margarines contained much higher amounts of the esters which clearly show that the various types of oils had different qualifications for the formation. The high content of 3-MCPD esters in margarines was attributed to the lipid fraction of margarine formulations which mainly contain palm oil where 3-MCPD esters can occur in high concentrations considering the data presented in literature.

The present data can be used to determine the exposure estimations and risk assessments for 3-MCPD esters in foods. Further investigations should be made to determine the contents of bound 3-MCPD in various food products in order to develop novel analysis techniques and effective mitigation strategies.

### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

### REFERENCES

Abraham, K., Appel, K. E., Berger-Preiss, E., Apel, E., Gerling, S., Mielke, H., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Arch Toxicol*, 87(4): 649-659, doi:10.1007/s00204-012-0970-8.

Appel, K. E., Abraham, K., Berger-Preiss, E., Hansen, T., Apel, E., Schuchardt, S., Vogt, C., Bakhiya, N., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. *Arch Toxicol*, 87(9): 1649-1659, doi:10.1007/s00204-013-1061-1.

Bakhiya, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K. E., Lampen, A. (2011). Toxicological assessment of 3-chloropropane-1, 2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Mol Nutr Food Res*, 55(4): 509-521, doi:10.1002/mnfr.201000550.

Becalski, A., Feng, S., Lau, B. P., & Zhao, T. (2015). A pilot survey of 2-and 3-monochloropropanediol and glycidol fatty acid esters in foods on the Canadian market 2011-2013. *J Food Compos Anal*, 37, 58-66, doi:10.1016/j.jfca.2014.09.002.

Beljaars, P. R., Houwen-Claassen, A. A. (1994). Determination of polymerized triglycerides in frying fats and oils by gel permeation chromatography: interlaboratory study. *J Aoac Int*, 77(3): 667-671.

Bockisch, M. 1993. Nahrungsfette und-öle, Handbuch der Lebensmitteltechnologie. Eugen Ulmer GmbH & Co, Stuttgart Hohenheim.

Breitling-Utzmann, C. M., Hrenn, H., Haase, N. U., Unbehend, G. M. (2005). Influence of dough ingredients on 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) formation in toast. *Food Addit Contam*, 22(2): 97-103, doi:10.1080/02652030500037936.

Calta, P., Velíšek, J., Doležal, M., Hasnip, S., Crews, C., Réblová, Z. (2004). Formation of 3-chloropropane-1, 2-diol in systems simulating processed foods. *Eur Food Res Technol*, 218(6): 501-506, doi:10.1016/j.fct.2008.07.003.

Chung, C., Chan, S. W., Chung, B. T., Xiao, Y., Ho, Y. Y. (2013). Occurrence of bound 3-monochloropropan-1, 2-diol content in commonly consumed foods in Hong Kong analysed by enzymatic hydrolysis and GC-MS detection. *Food Addit Contam A*, 30(7): 1248-1254, doi:10.1080/19440049.2013.800996.

Craft, B. D., Nagy, K., Seefelder, W., Dubois, M., Destailats, F. (2012). Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions.



- Part II: practical recommendations for effective mitigation. *Food Chem*, 132(1): 73-79, doi:10.1016/j.foodchem.2011.10.034.
- Crews C. 2012. Fatty acid esters of chloropropanols and glycidol in foods – analysis and exposure. 1–29.
- Crews, C., Brereton, P., Davies, A. (2001). The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Addit Contam*, 18(4): 271-280, doi:10.1080/02652030120064.
- Davidek, J., Velišek, J., Kubelka, V., Janíček, G., Šimicová, Z. (1980). Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid, *Z Lebensm Unters For*, 171(1): 14-17. doi:10.1007/BF01044410.
- Destailats, F., Angers, P. (2005). On the mechanisms of cyclic and bicyclic fatty acid monomer formation in heated edible oils. *Eur J Lipid Sci Tech*, 107(10): 767-772, doi:10.1002/ejlt.200501159.
- Destailats, F., Craft, B. D., Dubois, M., Nagy, K. (2012). Glycidyl esters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism. *Food Chem*, 131(4): 1391-1398, doi:10.1016/J.FOODCHEM.2011.10.006.
- Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF). (2010). DGF-Standard method C-VI 18 (10) Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxy-propane-1-ol (glycidol) Determination in oils and fats by GC/MS.
- Dijkstra AJ, Segers JC. 2007. Production and refining of oils and fats. In *The Lipid Handbook with CD-ROM, Third Edition* (pp. 150-269). CRC Press.
- Doležal, M., Chaloupská, M., Divinová, V., Svejtková, B., Velišek, J. (2005). Occurrence of 3-chloropropane-1, 2-diol and its esters in coffee. *Eur Food Res Technol*, 221(3-4): 221-225, doi:10.1007/s00217-004-1118-8.
- Ermacora, A., Hrnčírik, K. (2013). A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. *J Am Oil Chem Soc*, 90(1): 1-8, doi:10.1007/s11746-012-2132-9.
- Franke, K., Strijowski, U., Fleck, G., Pudel, F. (2009). Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1, 2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil. *LWT-Food Sci Technol*, 42(10): 1751-1754, doi:10.1016/j.lwt.2009.05.021.
- Haines, T. D., Adlaf, K. J., Pierceall, R. M., Lee, I., Venkitasubramanian, P., Collison, M. W. (2011). Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS. *J Am Oil Chem Soc*, 88(1): 1-14, doi:10.1007/s11746-010-1732-5.
- Hamlet, C. G., Sadd, P. A., Crews, C., Velišek, J., Baxter, D. E. (2002). Occurrence of 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods: a review. *Food Addit Contam*, 19(7): 619-631, doi:10.1080/0265203021013239.
- Hamlet, C. G., Sadd, P. A. (2004). Chloropropanols and their esters in cereal products. *Czech J Food Sci*, 22(1): 259.
- Hrnčírik, K., van Duijn, G. (2011). An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining. *Eur J Lipid Sci Tech*, 113(3): 374-379, doi:10.1002/ejlt.201000317.
- Jędrkiewicz, R., Głowacz, A., Gromadzka, J., Namieśnik, J. (2016). Determination of 3-MCPD and 2-MCPD esters in edible oils, fish oils and lipid fractions of margarines available on Polish market. *Food Control*, 59: 487-492, doi:10.1016/j.foodcont.2015.05.039.
- Karl, H., Merkle, S., Kuhlmann, J., Fritsche, J. (2016). Development of analytical methods for the determination of free and ester bound 2-, 3-MCPD, and esterified glycidol in fishery products. *Eur J Lipid Sci Tech*, 118(3): 406-417, doi:10.1002/ejlt.201400573.
- Kuhlmann, J. (2011). Determination of bound 2, 3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *Eur J Lipid Sci Tech*, 113(3): 335-344, 335-344. doi:10.1002/ejlt.201000313.
- Lee, B. Q., Khor, S. M. (2015). 3-Chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in soy sauce: A review on the

- formation, reduction, and detection of this potential carcinogen. *Compr Rev Food Sci F*, 14(1): 48-66, doi:10.1111/1541-4337.12120.
- MacMahon, S., Begley, T. H., Diachenko, G. W. (2013). Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States. *Food Addit Contam A*, 30(12): 2081-2092, 2081–2092. doi:10.1080/19440049.2013.840805.
- Raczyk, M., Bonte, A., Matthäus, B., Rudzińska, M. (2018). Impact of Added Phytosteryl/Phytostanyl Fatty Acid Esters on Chemical Parameters of Margarines upon Heating and Pan-Frying. *Eur J Lipid Sci Tech*, 120(2): 1700281, doi:10.1002/ejlt.201700281.
- Razak, R. A. A., Kuntom, A., Siew, W. L., Ibrahim, N. A., Ramli, M. R., Hussein, R., Nesaretnam, K. (2012). Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils. *Food Control*, 25(1): 355-360, doi:10.1016/j.foodcont.2011.10.058.
- Schilter, B., Scholz, G., Seefelder, W. (2011). Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: Toxicological aspects. *Eur J Lipid Sci Tech*, 113(3): 309-313, doi:10.1002/ejlt.201000311.
- Velíšek, J., Davidek, J., Hajšlová, J., Kubelka, V., Janíček, G., Mánková, B. (1978). Chlorohydrins in protein hydrolysates Chlorhydrinein Eiweißhydrolysaten. *Z Lebensm Unters For*, 167(4): 241-244, doi:10.1007/BF01135595.
- Weißhaar, R. (2008). Determination of total 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide. *Eur J Lipid Sci Tech*, 110(2): 183-186, doi:10.1002/ejlt.200700197.
- Weißhaar, R., Perz, R. (2010). Fatty acid esters of glycidol in refined fats and oils. *Eur J Lipid Sci Tech*, 112(2): 158-165, doi: 10.1002/ejlt.200900137.
- Weißhaar, R. (2011). Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates. *Eur J Lipid Sci Tech*, 113(3): 304-308, doi:10.1002/ejlt.200900137.
- Wöhrlin, F., Fry, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Preiß-Weigert, A. (2015). Occurrence of fatty acid esters of 3-MCPD, 2-MCPD and glycidol in infant formula. *Food Addit Contam A*, 32(11): 1810-1822, doi:10.1080/19440049.2015.1071497.
- Zelinková, Z., Svejková, B., Velíšek, J., Doležal, M. (2006). Fatty acid esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in edible oils. *Food Addit Contam*, 23(12): 1290-1298, doi:10.1080/02652030600887628.

## ŞEKER PANCARI BESİNSEL LİFİNİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE FARKLI EKSTRAKSİYON UYGULAMALARI VE MİKRONİZASYONUN ETKİLERİ

Ayla Hañçer<sup>1</sup>, İhsan Karabulut<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup> Cumhuriyet Üniversitesi, Gürün Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Gürün, Sivas, Türkiye

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

Geliş / *Received*: 01.02.2019; Kabul / *Accepted*: 09.05.2019; Online baskı / *Published online*: 19.06.2019

Hañçer, H., Karabulut, İ. (2019). Şeker pancarı besinsel lifinin fonksiyonel özellikleri üzerine farklı ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyonun etkileri. *GIDA* (2019) 44 (3): 498-512 doi: 10.15237/gida.GD19031

*Hañçer, H., Karabulut, İ. (2019). Effects of different extraction treatments and micronization on the functional properties of sugar beet dietary fibre. GIDA (2019) 44 (3): 498-512 doi: 10.15237/gida.GD19031*

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı besinsel lif elde etme ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyon işlemlerinin şeker pancarı besinsel lifinin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisini belirlemektir. Çözünmez besinsel lif ekstraksiyonu su, etil alkol ve alkali çözelti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen toz yapının mikronize edilmesinde 100 MPa basınçta çalışan yüksek basınç homojenizatörü (YBH) kullanılmıştır. Mikronize ve liyofilize edilen besinsel lif örneklerinin fonksiyonel özellikleri incelenmiştir. Ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyon işleminin besinsel lifin fonksiyonel özelliklerinde önemli farklılıklar oluşturduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Partikül iriliği bakımından en büyük YBH etkisi su ile ekstrakte edilen örneklerin 5 kez yüksek basınç uygulamasından geçirilmesi ile sağlanmıştır [d(0.9) değeri 1049'dan 156  $\mu\text{m}$ 'ye düşmüş ve spesifik yüzey alanı 0.0318'den 0.149  $\text{m}^2/\text{g}$ 'a yükselmiştir]. Suyla ekstrakte edilen ve YBH ile mikronize edilen örneğin şişme, su ve yağ tutma kapasiteleri diğer uygulamalarla elde edilenlere kıyasla daha üstün bulunmuştur. Bu besinsel lif örneklerinin düşük kalorili gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılabilirliği önerilebilir.

**Anahtar kelimeler:** Şeker pancarı, besinsel lif, mikronizasyon, partikül boyutu, su tutma kapasitesi

## EFFECTS OF DIFFERENT EXTRACTION TREATMENTS AND MICRONIZATION ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF SUGAR BEET DIETARY FIBRE

### ABSTRACT

The aim of this study is to determine the effect of dietary fibre (DF) extraction treatments and micronization on functional properties of sugar beet DF. Extraction of the insoluble DF fraction was performed with distilled water, ethyl alcohol (95%) and alkali solution. High pressure homogenizer (HPH) working at 100 MPa pressure was used to micronize the powder structure. Functional properties of micronized and lyophilized dietary fiber samples were investigated. The extraction treatments and micronization process were found to have significant differences on the functional properties of dietary fiber ( $P < 0.05$ ). The greatest HPH effect was observed in water extracted sample after 5 cycles in terms of particle size [d(0.9) value decreased from 1049 (pulp) to 156  $\mu\text{m}$  and specific surface area increased from 0.0318 to 0.149  $\text{m}^2/\text{g}$ ]. The swelling, water and oil retention capacities of the water extracted and HPH micronized sample were superior to those obtained with other applications. It can be suggested that this dietary fiber sample can be used as an additive in low-calorie foods.

**Keywords:** sugar beet, dietary fibre, micronization, particle size, water holding capacity

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ihsan.karabulut@inonu.edu.tr

☎ (+90) 422 377 47 91

☎ (+90) 422 341 0046

### GİRİŞ

Besinsel lifler; insan ince bağırsağında sindirime ve absorpsiyona dirençli, kalın bağırsakta kısmen veya tamamen fermente olabilen bitki veya benzeri karbonhidratların yenilebilen kısımlarıdır (Gómez vd., 2003). Besinsel lifler hem çözünmez hem de çözünür lifleri içermektedir. Temel bileşenler selüloz ve lignindir; fakat aynı zamanda insan sindirim sistemi tarafından sindirilemeyen hemiselülozlar, gamlar, pektinler ve diğer karbonhidratları da kapsamaktadır (Stear, 1990). Son yıllarda, muhtemel yararlı sağlık etkilerine bağlı olarak araştırmacılar ve endüstri tarafından besinsel liflere yönelik artan bir ilgi söz konusudur. Besinsel lifler koroner kalp hastalıkları, mide-bağırsak hastalıkları, diyabet ve obeziteyi önlemeye yardımcı olabilmekte, serum lipit konsantrasyonunu, kan basıncını, diyabet ve bağışıklık fonksiyonunda kan glukoz kontrolünü pozitif bir şekilde etkilemektedir (Redgwell ve Fischer, 2005). Günlük besinsel lif tüketiminin 30-45 g aralığında olması önerilmiştir (Schweizer ve Wursch, 1991). Besinsel lifin sağlık açısından yararları, yüksek lifli gıdaların üretilmesine yönelik çabalara yol açmıştır (Sakhare ve Prabhasankar, 2017). Fizyolojik etkilerinin yanı sıra fonksiyonel ve teknolojik özellikleri (örneğin, jelleştirici ve kıvam arttırıcı özellikleri) nedeni ile besinsel lifler gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Gıda formülasyonlarında kullanımları tekstürün modifiye edilmesini, üretim ve depolama boyunca gıdanın stabilitesinde artışı sağlamaktadır (Thebaudin vd., 1997).

Meyve ve sebze işleme fabrikalarından elde edilen yan ürünlerin besinsel lif ve biyoaktif madde kaynağı olarak kullanımları hem atık yönetimi hem de katma değerli ürünlerin üretimi açısından ilgi çekmektedir (Jongarootaprangsee vd., 2007). Şeker pancarı posası, şeker üretim endüstrisinden elde edilen bir yan üründür. Sakkarozun ekstrakte edilmesi sonrasında suyunun uzaklaştırılması ile elde edilen ham bir materyaldir ve genellikle hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Michel vd., 1988). Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş'nin istatistiklerine göre ülkemizde 2017-2018 döneminde yaklaşık olarak 3.4 milyon ton şeker pancarı posası üretilmiştir (Türkşeker, 2018). Ham şeker pancarı posası %20 selüloz, %25

hemiselüloz ve %25 oranında pektin içermekte ayrıca bileşiminde düşük miktarlarda protein, kül ve lignin bulunmaktadır. Başta pektin olmak üzere bazı polisakkaritler, bir dizi ekstraksiyonla uzaklaştırılarak farklı bileşimlerde kalıntı lif elde edilebilmektedir (Bertin vd., 1988). Uygun mikrobiyolojik özelliklerine ilaveten olumlu duyuşsal, fiziksel ve kimyasal özellikleri bu materyalin değerli bir lif kaynağı olmasını sağlamaktadır. Hububat kepeğine kıyasla şeker pancarı lifi; (i) düşük fitat içeriği ve (ii) daha iyi su bağlama ve tutma kapasitesine sahiptir. Yüksek fitat içeriği mineral absorpsiyonunu olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle beslenme uzmanlarının özel ilgi alanına girmektedir (Filipovic vd., 2007).

Son yıllarda, gıda araştırma ve geliştirme çalışmalarında mikronizasyon uygulaması oldukça ilgi çekmektedir. Gıda araştırmalarında mikronizasyon uygulaması, gıda materyallerinin partikül büyüklüğünü azaltmanın yalnızca bu materyallerin yapısını ve yüzey alanını değiştirmeyeceğini aynı zamanda fonksiyonel özelliklerini de geliştirebileceğini göstermiştir (Chen vd., 2013; Raghavendra vd., 2004; Sangnark ve Noomhorm, 2003). Var olan mikronizasyon teknikleri arasında yüksek basınç homojenizasyonunun en etkili yöntem olduğu saptanmıştır (Chau vd., 2006; Wang vd., 2012). Yüksek basınç homojenizasyonu, kimya, eczacılık, biyoteknoloji ve gıda endüstrisi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Genellikle endüstride kullanılan homojenizasyon basınçları 20 ile 50 MPa arasında değişmektedir (Chen vd., 2018). Yüksek basınç homojenizasyonunun prensibi yüksek basıncın, hızını büyük ölçüde arttıran dar bir aralık valfi boyunca sıvı materyali akmaya zorlayarak valf aralığında yüksek bir kayma gerilimine ve basınca yol açmasıdır. Aralık çıkışının ardından, akışın kinetik enerjisi türbülans ve kavitasyona dönüştürerek jet püskürtünün akışı bozulmakta ve homojenizatörün iç katı yüzeyine çarpmaktadır (Floury vd., 2004; Dumay vd., 2013). Dolayısıyla, makromoleküller ve akışkan içinde süspanse olmuş partiküller büyük bir mekanik gerilime maruz bırakılmakta, kavisli bir hal almakta, deforme olmakta ve parçalanmaktadır. (Floury vd., 2004; Chen vd.,

2018). Çözünmez besinsel liflerin partikül boyutunun azalması ve mikroyapısındaki değişim, besinsel işlevsellikleri ile yakından ilişkili olan fizikokimyasal özelliklerini de değiştirebilmektedir (Wang vd., 2013). Mikronizasyon aracılığıyla partikül boyutunu azaltmanın, mısır kepeği (Wang vd., 2013), buğday kepeği (Wang vd., 2012), şeftali ve yulaf (Chen vd., 2013) gibi farklı materyallerden elde edilen çözünmez liflerin hidrasyon özelliklerini ve yağ tutma kapasitesini önemli ölçüde geliştirdiği belirtilmiştir. Şeker pancarı lifinin farklı gıda sistemlerinde kullanıldığı çeşitli çalışmalarda partikül boyutunu indirmek amacıyla geleneksel öğütme yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir (Vural vd., 2004; Javidipour vd., 2005; Soronja Simovic vd., 2017).

Şeker pancarı çözünmez lifinin karakteristikleri ve fonksiyonel özellikleri üzerine yüksek basınç homojenizasyonu ile mikronizasyonun etkilerini belirleyen bir araştırma mevcut değildir. Bu nedenle üç farklı yöntem kullanmak suretiyle şeker pancarı posasından çözünmez lif elde edilerek yüksek basınç homojenizatörü ile mikronizasyonu ve bu uygulamaların lifli materyalin fonksiyonel özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## **MATERYAL VE YÖNTEM**

### **Materyal**

Şeker ekstraksiyonundan sonra atık olarak elde edilen şeker pancarı posası Malatya Şeker Fabrikası'ndan temin edilmiştir. Şeker pancarı posası içerisinde bulunan yabancı parçacıkların elle ayrılmasının ardından, oda sıcaklığında kurutulmuş ve kullanılıncaya kadar plastik poşetler içinde derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır.

### **Şeker Pancarı Lifinin Elde Edilmesi**

Şeker pancarı posasından besinsel lif içeren örneklerin hazırlanması amacıyla aşağıda tanımlanan yöntemler kullanılmıştır.

### **Suyla Yıkama**

Uygun miktarda posa yaklaşık iki katı kadar distile su içerisinde mutfak tipi parçalayıcı ile 1 dakika süreyle parçalanmış ve karışım filtre edilmiştir.

Parçalama ve filtrasyon işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen lifli yapı dondurarak kurutucuda kurutulup kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

### **Etıl Alkol ile Yıkama**

Michel vd. (1988) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Uygun miktarda posa iki katı (ağırlık/hacim) %95'lik etil alkol içerisinde mutfak tipi parçalayıcı ile 1 dakika süreyle parçalanmış ve karışım filtre edilmiştir. Parçalama ve filtre etme işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen lifli yapı oda sıcaklığında kurutulup kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

### **Islak Fraksiyonlama**

Kuan ve Liong (2008) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla 15 g posa örneği (partikül iriliği < 1 mm) üzerine belirli oranda (1:15, ağırlık/hacim) distile su ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırmaya başlanmıştır. Karışım üzerine yavaş yavaş 1 N NaOH ilave etmek suretiyle karışımın pH değeri 11'e ayarlanarak 1 saat süreyle 500 rpm'de karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım filtre edilmiş ve 5 kez 500 mL distile su ile yıkanmıştır. Yıkama ve filtrasyon sonrası elde edilen lifli yapı dondurarak kurutucuda kurutulup kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

### **Mikronize Edilmemiş Şeker Pancarı Lifinin Hazırlanması**

Üç farklı uygulama sonucu elde edilen lifli materyallerin (SK, EK ve AK) mutfak tipi kahve öğütücüsünde öğütülüp 250 µm'lik elekten geçirilmesi sonucu yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmeyen lif örnekleri elde edilmiştir ve kullanılıncaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

### **Şeker Pancarı Lifinin Mikronize Edilmesi**

Şeker pancarı posasından üç farklı yöntemle elde edilen lifli materyaller, yüksek basınç homojenizatöründen (SUFLUX, ISA-NLM 100 Nano Disperser) geçirilerek boyut küçültme

(mikronize etme) işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla, belirli miktarda örnek üzerine distile su ilave edilip (1:75, ağırlık/ağırlık) örnek süspansiyonu edilmiş ve ardından yüksek devirli parçalayıcıdan (Ultra Turrax T25, IKA-WERKE, Germany) 5 dakika süreyle geçirmek suretiyle bir ön boyut küçültme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnek yüksek basınç homojenizatöründen ortalama 100 MPa basınçta 5 kez geçirilerek boyut küçültme işlemi uygulanmış ve elde edilen yapı dondurarak kurutucuda kurutulmuştur. Kahve öğütücüsünde 2 dakika süreyle öğütülerek toz haline getirilmiş ve böylece mikronize edilmiş şeker pancarı lifi örnekleri (S, E, A) elde edilmiştir. Bu örnekler kullanılmaya kadar -18°C'de polietilen poşetler içinde muhafaza edilmiştir.

### Kimyasal Analizler

#### *Nem, Protein, Yağ ve Kül*

AOAC (1997) metotları kullanılarak Kjeldahl yöntemi ile protein miktarı (method 954.01), Soxhlet ekstraksiyonu (hegzan) ile yağ miktarı

(method 920.39), nem miktarı (method 925.09) ve kül miktarı (method 923.03) belirlenmiştir.

#### *Toplam, Çözünmez ve Çözünür Lif Tayini*

Elde edilen lifli materyallerin toplam besinsel lif miktarı AACC (1990)'e göre belirlenmiştir. Örnekler, nişasta ve proteinin uzaklaştırılması amacıyla ısıya dirençli  $\alpha$ -amilaz, proteaz ve amiloglukozidaz enzimlerinin art arda kullanıldığı bir enzimatik parçalama işlemine tabi tutulmuşlardır. Bu işlemin ardından enzimlerle parçalanmış olan materyaller, filtrasyon öncesi çözünür besinsel lifi çöktürmek için alkol ile muamele edilmiş ve filtrasyon sonrasında toplam besinsel lif kalıntısı sırasıyla % 95'lik etanol, % 78'lik etanol ve aseton ile yıkanmıştır. Ardından örnekler 103 °C'deki etüvde kurutulmuş ve son ağırlık belirlenmiştir.

Toplam besinsel lif miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmış, ayrıca kül ve protein düzeltilmesi yapılmıştır.

$$TBL (\%) = \frac{[(\text{Kurutma sonrası kroze} + \text{örnek ağırlığı}) - (\text{Kroze ağırlığı})]}{\text{Örnek miktarı}} * 100$$

Çözünmez lif tayininde alkol ile presipitasyon aşaması hariç yukarıdaki prosedür uygulanmıştır. Çözünür lif miktarı, toplam lif miktarından çözünmez lif miktarının çıkarılması suretiyle hesaplanmıştır.

#### *Partikül İriliği*

Şeker pancarı posasından elde edilen taneciklerin partikül iriliği ve dağılımını belirlemede lazer ışığı saçılma prensibine göre çalışan ve 0.02-2000  $\mu\text{m}$  arası boyutu ölçebilen Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments LTD.UK) kullanılmıştır. Üç farklı yöntemle elde edilen örnekler distile su ile süspansiyonu edilip 5 dakika boyunca yüksek devirli parçalayıcı ile homojenize edilmiş (0 geçiş), ardından bu örnekler yüksek basınç homojenizatöründen 7 kez geçirilmek suretiyle 1, 3, 5 ve 7. geçişler sonunda elde edilen örnekler partikül iriliği analizinde kullanılmıştır.

#### *Fonksiyonel Özellikler*

##### *Şişme Kapasitesi*

Şişme kapasitesi belirli miktardaki lifin uygulama koşullarında şişerek kapladığı hacim olarak ifade edilmektedir. Yaklaşık 1 g lif örneği, 25 mL'lik ölçü silindiri içerisindeki 20 mL suda spatül yardımıyla yavaşça karıştırılarak hapsedilmiş hava kabarcıklarının elimine edilmesi sağlanmış ve silindirin üstü parafilmle kaplanarak oda sıcaklığında hidrate olması için bir gece bekletilmiştir. Sonuçlar şişen hacim mL/g kuru lif olarak ifade edilmiştir (Wang vd., 2012).

##### *Su Tutma Kapasitesi*

Yaklaşık 1 g lif örneği üzerine 10 mL saf su ilave edilerek 1 dk süresince karıştırılmış ve ardından 2200 g'de 30 dk santrifüj edilerek üstte kalan kısmın hacmi belirlenmiştir. Sonuçlar g tutulan su/g lif olarak ifade edilmiştir (Kuan ve Liong, 2008).

### **Yağ Tutma Kapasitesi**

Yaklaşık 1 g lif örneği üzerine 10 mL sıvı yağ (ayçiçek yağı,  $d=0.917$  g/mL) ilave edilerek 1 dk süresince karıştırılmış ve ardından 2200 g'de 30 dk santrifüj edilerek üstte kalan kısmın hacmi belirlenmiştir. Sonuçlar g tutulan yağ/g lif olarak ifade edilmiştir (Kuan ve Liong, 2008).

### **Yoğunluk**

10 mL hacimli ölçü silindirene doldurulan liflerin ağırlığının hacmine oranı saptanmıştır.

### **Viskozite**

Frost vd. (1984) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Bu amaçla, %1, 2, 3, 4 ve 5 oranlarında lif örneği yavaş bir şekilde distile suya ilave edilmiş ve karışım mutfak tipi karıştırıcıda 1 dk süreyle karıştırılmıştır. Çözelti, dengeye ulaşması ve sıkışmış olan havanın sızması amacıyla oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra Brookfield DV-II vizkometre (Brookfield Engineering Laboratories Inc., USA) (spindle no.4) kullanılarak viskozite ölçümü gerçekleştirilmiştir.

### **İstatistiksel Analiz**

Her deney en az iki paralelli olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Uygulamalar içinde ve arasındaki farklılıklar SPSS 22.0 kullanılarak One-Way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ile incelenmiş ve çoklu karşılaştırma amacıyla Tukey testi uygulanmıştır. Sonuçlar ( $P < 0.05$ ) önem seviyesinde değerlendirilmiştir.

## **BULGULAR VE TARTIŞMA**

### **Nem, Protein, Yağ ve Kül Miktarı**

Şeker pancarı posası ve lif örneklerinin nem, protein, yağ ve kül içeriklerine ait değerler Çizelge 1'de sunulmuştur. Bu çalışmada, üç farklı uygulama sonucu elde edilen lifli materyallerin posaya göre önemli düzeyde yüksek nem içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Kullanılan suyun miktarı ve uygulamadaki farklılıklara bağlı olarak son ürünlerdeki nem değerleri farklı bulunmuştur. Ancak saptanan nem değerleri, besinsel lif için tavsiye edilen 9 g/100 g'lık sınır değer (Larrauri, 1999) altındadır ve lif

örneklerinin depolanması için uygun koşulları sağlamaktadır (Resende vd., 2019). Lif örneklerinin protein, yağ ve kül miktarları kuru madde bazında sırasıyla %7.17-9.38, %0.32-0.68, %2.96-6.03 değerleri arasında değişmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıklar söz konusu bileşenlerin tahrip olmasına, yapıdan ayrılmasına veya tespit edilebilme niteliklerini etkilemesine neden olmuştur. Şeker pancarı lifinin bileşimini inceleyen çeşitli çalışmalarda da lif örneklerinin protein (%6.07-8.69) ve kül (%3.0-5.31) içeriklerine dair benzer sonuçlar bildirilmiştir (Christiensen, 1989; Özboy vd., 1998; Javidipour vd., 2005). Mikronize edilmemiş lif örneklerinin protein içeriği posaya göre önemli ölçüde değişmezken, yüksek basınç homojenizasyonu sonucunda su ve etanol ile muamele edilmiş lif örneklerinin protein miktarında önemli düzeyde azalma saptanmıştır ( $P < 0.05$ ). Bu sonuç, şeker pancarı posasını etanol ile muamele eden Michel vd. (1988)'nin sonuçları ile uyumludur. Belirtilen çalışmada, posa ve farklı partikül büyüklüğüne sahip ( $>500$   $\mu\text{m}$ ; 500-315  $\mu\text{m}$ ; 315-160  $\mu\text{m}$ ;  $<160$   $\mu\text{m}$ ) lif örneklerinde protein içeriğinin önemli oranda değişmediği (%7-8), 160  $\mu\text{m}$ 'den küçük boyuttaki lif örneğinde ise protein içeriğinin azaldığı (%5.5) ve kül miktarının arttığı (%35.5) görülmüştür. Farklı partikül boyutlarına sahip buğday kepeğindeki besin maddeleri ile ekmek kalitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, daha küçük partikül boyutuna (155-180  $\mu\text{m}$ ) sahip buğday kepeğinin daha düşük lif ve protein içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir (Pavlovich-Abril vd., 2015; Zhang vd., 2018). Farklı lifli materyallerin alkali ile muamele edildiği çeşitli çalışmalarda ise alkali uygulamasının, lif örneklerinde protein ve yağ içeriğini azalttığı belirtilmiştir. Bu durumun, NaOH ile muamele sonucu protein ve lipidlerin parçalanması ve karbonhidratların sızmasından kaynaklandığı (Kuan ve Liong, 2008), lif yapılarını parçalayan fiziksel öğütme, alkali vb. uygulamaların lifli materyallerden yüksek oranda protein ve yağ uzaklaşmasına yardımcı olduğu (Fung vd., 2010) ifade edilmiştir.

## Şeker pancarı besinsel lifinin ekstraksiyonu ve mikronizasyonu

Çizelge 1. Şeker pancarı lifi örneklerinin kimyasal bileşimi (%)  
Table 1. Chemical composition of sugar beet fibre samples

	Nem <i>Moisture</i>	Protein (Nx6.25) <i>Protein</i>	Yağ <i>Lipid</i>	Kül <i>Ash</i>
P	5.43±0.08 <sup>a</sup>	9.16±0.02 <sup>bc</sup>	0.73±0.01 <sup>e</sup>	6.02±0.07 <sup>f</sup>
SK	6.55±0.07 <sup>c</sup>	8.65±0.02 <sup>b</sup>	0.42±0.01 <sup>b</sup>	3.61±0.04 <sup>b</sup>
S	6.50±0.09 <sup>c</sup>	7.17±0.02 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>	2.96±0.07 <sup>a</sup>
EK	6.57±0.05 <sup>c</sup>	9.26±0.02 <sup>c</sup>	0.63±0.00 <sup>cd</sup>	6.03±0.06 <sup>f</sup>
E	7.83±0.08 <sup>e</sup>	8.56±0.00 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>c</sup>	4.17±0.03 <sup>c</sup>
AK	6.04±0.01 <sup>b</sup>	9.38±0.07 <sup>c</sup>	0.68±0.05 <sup>de</sup>	5.24±0.03 <sup>d</sup>
A	7.31±0.11 <sup>d</sup>	8.84±0.63 <sup>bc</sup>	0.36±0.03 <sup>ab</sup>	5.88±0.06 <sup>c</sup>

Farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )  
Different small letters show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )

SK: Suyla yıkanmış lif örneği

SK: *Water extracted fibre sample*

EK: Etil alkol ile yıkanmış lif örneği

EK: *Ethanol extracted fibre sample*

AK: Islak fraksiyonlama uygulanmış lif örneği

AK: *Wet fractionated fibre sample*

S: Suyla yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S: *Water extracted and high pressure homogenized fibre sample*

E: Etil alkol ile yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

E: *Ethanol extracted and high pressure homogenized fibre sample*

A: Islak fraksiyonlama uygulanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

A: *Wet fractionated and high pressure homogenized fibre sample*

### Toplam, Çözünmez ve Çözünür Lif Miktarı

Şeker pancarı posası ve lif örneklerinin toplam, çözünmez ve çözünür lif miktarları Çizelge 2'de sunulmuştur. Çalışmamızda, şeker pancarı posasının toplam besinsel lif içeriği %69.87, çözünmez lif içeriği %56.18, çözünür lif içeriği ise %13.69 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç, Michel vd. (1988)'nin şeker pancarı posası için belirledikleri toplam besinsel lif miktarına göre (%74.0-87.4) daha düşüktür. Uygulanan üç yöntemde elde edilen örneklerin toplam besinsel lif miktarının %73.12-84.94 arasında değiştiği ve posaya göre istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Bu durumun her üç yöntem ile diğer bileşenlerin uygulamalar esnasında uzaklaşmasından kaynaklandığı ve lif açısından daha zengin bir yapı elde edilmesine olanak sağladığı saptanmıştır. Şeker pancarı lifinin toplam besinsel lif içeriğini inceleyen çeşitli çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Christensen (1989), şeker pancarı lifinin toplam besinsel lif içeriğinin %80, çözünür lif içeriğinin en az %10 olduğunu; Javidipour vd. (2005), 425

$\mu\text{m}$ 'den küçük boyuttaki şeker pancarı lifinin %67.3 toplam besinsel lif içerdiğini bildirmişlerdir. Michel vd. (1988), 160  $\mu\text{m}$ 'den büyük boyuttaki liflerin toplam besinsel lif içeriğinin %71-80 olduğunu, 160  $\mu\text{m}$ 'den küçük boyuttaki liflerin ise daha düşük düzeyde lif içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Suyla yıkama ve alkali ile muamele, örneklerin çözünmez lif içeriğinin posaya göre önemli ölçüde artmasına yol açarken ( $P < 0.05$ ), etanol ile muamele çözünmez lif içeriğini azaltmıştır. Suyla yıkanan örneğin en yüksek çözünmez lif ve en düşük çözünür lif içeriğine sahip olması, suyla yıkamanın çözünür bileşenleri, özellikle de kalıntı şekeri uzaklaştırma açısından diğer yöntemlere göre daha etkili olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, elma ve armut posalarına uygulanan şeker giderme prosesinin çözünmez lif içeriğinde artışa yol açtığı ifade edilmiştir (Rabetafika vd., 2014). Kuan ve Liong (2008), lifli materyallerden (soya küspesi, mısır koçanı, buğday samanı, pirinç kavuzu) ıslak fraksiyonlama ile lifli kalıntılar elde ettikleri çalışmalarında, alkali muamelesi ile



örneklerin toplam, çözünmez ve çözünür lif miktarlarının arttığını belirtmişlerdir. Çözünmez lif miktarındaki artış NaOH kullanımına dayandırılmış, NaOH uygulaması ile proteinlerin, lipitlerin ve karbonhidratların çözünür fraksiyonlarının lifli materyallerden elimine edildiği ifade edilmiştir. Alkali çözeltiler aynı zamanda buğday kepeği ve pirinç kepeğinden çözünür lif bileşeni olan arabinoksilanları ekstrakte

etmek amacıyla kullanılmıştır (Doner vd., 1998), bu da alkali ile muamele edilmiş örnekte çözünmez lif miktarındaki artışı desteklemektedir. Benzer bir çalışmada, şeker pancarı lifinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile modifikasyonunun (pH 3.5, 7 ve 11'de) örneklerin toplam, çözünmez ve çözünür lif miktarında artışa yol açtığı bildirilmiştir (Filipovic vd., 2007).

Çizelge 2. Şeker pancarı lifi örneklerinin toplam, çözünmez ve çözünür lif miktarları (%)

Table 2 Total, insoluble and soluble dietary fibre contents of sugar beet fibre samples

	Toplam Besinsel Lif <i>Total Dietary Fibre</i>	Çözünmez Besinsel Lif <i>Insoluble Dietary Fibre</i>	Çözünür Besinsel Lif <i>Soluble Dietary Fibre</i>
P	69.87±0.51 <sup>a</sup>	56.18±1.22 <sup>b</sup>	13.69±0.71 <sup>a</sup>
SK	84.94±0.13 <sup>c</sup>	74.42±0.62 <sup>c</sup>	10.52±0.48 <sup>a</sup>
S	83.22±0.71 <sup>c</sup>	64.73±1.80 <sup>d</sup>	18.49±1.09 <sup>b</sup>
EK	74.06±1.47 <sup>b</sup>	50.92±1.23 <sup>a</sup>	23.14±2.70 <sup>b</sup>
E	73.12±1.79 <sup>b</sup>	50.79±1.52 <sup>a</sup>	22.33±0.27 <sup>b</sup>
AK	82.50±1.53 <sup>c</sup>	60.55±0.50 <sup>c</sup>	21.95±2.04 <sup>b</sup>
A	83.35±1.72 <sup>c</sup>	60.95±2.04 <sup>c</sup>	22.40±3.75 <sup>b</sup>

Farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

Different small letters show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )

SK: Suyla yıkanmış lif örneği

SK: *Water extracted fibre sample*

EK: Etil alkol ile yıkanmış lif örneği

EK: *Ethanol extracted fibre sample*

AK: Islak fraksiyonlama uygulanmış lif örneği

AK: *Wet fractionated fibre sample*

S: Suyla yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S: *Water extracted and high pressure homogenized fibre sample*

E: Etil alkol ile yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

E: *Ethanol extracted and high pressure homogenized fibre sample*

A: Islak fraksiyonlama uygulanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

A: *Wet fractionated and high pressure homogenized fibre sample*

Lif örneklerinin mikronize edilmesi, toplam besinsel lif içeriğinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır ( $P > 0.05$ ). Benzer şekilde etanol ve alkali ile muamele edilmiş lif örneklerinin çözünmez ve çözünür lif içerikleri mikronizasyonla önemli ölçüde değişmezken, yüksek basınç homojenizasyonu suyla yıkanmış örneklerin çözünmez lif içeriğini önemli ölçüde azaltmış, çözünür lif miktarını ise önemli düzeyde artırmıştır ( $P < 0.05$ ). Mikronizasyon sonrasında çözünmez besinsel lif içeriğindeki azalma hemiselüloz, selüloz ve ligninin mekanokimyasal olarak parçalanmasından kaynaklanmakta ve bu maddeler çözünür bileşenlere dönüşmektedir (Ye vd., 2016). Partikül büyüklüğü sonuçlarından da

görülebileceği gibi suyla yıkanmış örnek alkali ve etanol ile muamele edilmiş örneklere göre mikronizasyonla çok daha etkin bir şekilde parçalanmış ve çözünür lif içeriği artmıştır. Farklı boyut küçültme yöntemlerinin kullanıldığı çeşitli çalışmalarda, öğütme sonrası partikül büyüklüğündeki azalma ile birlikte örneklerin çözünmez lif miktarının azaldığı ve çözünür lif miktarının arttığı, dolayısıyla lif bileşenlerinde çözünmez fraksiyondan çözünür fraksiyona doğru yeniden bir dağılım meydana geldiği ifade edilmiştir (Zhu vd., 2014; Huang vd., 2010; Zhu vd., 2010). Konuyla ilgili başka bir çalışmada ise kış kavunu ve kırmızı turpandan elde edilen lif örneklerinde partikül büyüklüğü azaldıkça toplam,

çözünmez ve çözünür lif miktarlarının azaldığı belirtilmiştir (Gupta ve Premavalli, 2010).

### Partikül Büyüklüğü

Lif örneklerine ait partikül büyüklüğü değerleri Çizelge 3'te sunulmuştur. Yüksek basınç homojenizasyonu tüm örneklerde partikül büyüklüğünü önemli ölçüde azaltmış, partiküllerin yüzey alanında ise artışa yol açmıştır. Homojenizatörden 7 geçiş sonunda partiküllere ait  $d(0.9)$  değeri suyla yıkanmış örnekte 1049.02  $\mu\text{m}$ 'den 156.23  $\mu\text{m}$ 'ye, etanol ile yıkanmış örnekte 1423.16  $\mu\text{m}$ 'den 263.00  $\mu\text{m}$ 'ye, alkali ile muamele edilmiş örnekte ise 1055.44  $\mu\text{m}$ 'den 209.03  $\mu\text{m}$ 'ye düşmüştür. Partiküllerin spesifik yüzey alanı bakımından en büyük değer suyla yıkanmış örnekte gözlenmiştir (0.0318  $\text{m}^2/\text{g}$ 'dan 0.149  $\text{m}^2/\text{g}$ 'a artış olmuştur). Dolayısıyla, yüksek basınç homojenizatöründe en etkin parçalanmanın suyla yıkanmış örnekte meydana geldiği, bunu sırasıyla alkali ile ve etanol ile muamele edilmiş örneklerin takip ettiği belirlenmiştir. Bir yüksek basınç homojenizasyonu prosesinde, partiküllerin parçalanmasındaki en etkili nedenin akışkanın kayma gerilimi olduğu ifade edilmiş ve yüksek basınç homojenizasyonu ile mikrofluidizasyonun çalışma mekanizmasının benzer olduğunu belirtilmiştir (Clarke vd., 2010). Homojenizasyon aracılığıyla kompleks yapıların mikro parçacıklara kırılabilmesi, dolayısıyla oldukça küçük çapa sahip küresel parçacıklar oluştuğu saptanmıştır. Ayrıca, homojenizasyon işlemi ile polimerik yapıların geri dönüşümsüz olarak parçalanmasının yanı sıra polimerin agregasyon derecesinde de değişim olabileceği ifade edilmiştir. Yüksek basınç homojenizasyonu prosesinin polisakkaritlerin partikül boyutunu azalttığı ancak primer yapılarına zarar vermediği, aynı zamanda polisakkaritlerin reolojik özellikleri, jelleşme özelliği ve viskozite gibi özelliklerinin yüksek basınç homojenizasyonu tarafından etkilendiği bildirilmiştir (Hu vd., 2013). Homojenizasyon uygulamasının, örneklerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine etkilerine dair çeşitli çalışmalar farklı sonuçların elde edildiğini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, şeftali ve yulaf çözünmez lifleri mikrofluidizasyona (120 MPa, 1 geçiş) maruz bırakılmış, mikrofluidizasyon prosesinin partikül boyutunu mikron altı ölçeğe etkili bir şekilde indirgediği belirtilmiştir. Partikül

boyutunun şeftali çözünmez lifinde 204.628  $\mu\text{m}$ 'den 35.307  $\mu\text{m}$ 'ye, yulaf çözünmez lifinde ise 111.131  $\mu\text{m}$ 'den 74.358  $\mu\text{m}$ 'ye düştüğü bildirilmiştir (Chen vd., 2013). Benzer bir çalışmada, buğday kepeğinden elde edilen çözünmez lif üç farklı yöntemle (yüksek basınç homojenizasyonu, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon ve bu yöntemlerin kombinasyonu) mikronize edilmiştir (100 MPa, 30 geçiş). Yüksek basınç homojenizasyonunun tek başına veya ultrasonikasyonla kombine olarak kullanılması durumunda örneklerin partikül boyutunu önemli ölçüde azalttığı ve yüzey alanını arttırdığı, ancak ultrasonikasyon uygulamasının partikül boyutunu azaltmada tek başına etkisiz kaldığı ifade edilmiştir (Hu vd., 2015).

Ulbrich ve Flöter (2014), ticari bir besinsel lifi (yulaf lifi), yüksek basınç homojenizasyonu ile modifiye etmişlerdir (15 MPa; 2, 6, 10, 16 geçiş). Mekanik uygulamanın etkilerini spesifik bir kurutma metodunun etkilerinden ayırmak için dört farklı kurutma metodunun uygulandığı çalışmada, diğer kurutma metodlarının muhtemelen işlenmiş lifin daha fazla kümeleşmesine neden olması nedeniyle dondurarak kurutulmuş örnekler partikül büyüklüğü dağılımı analizinde kullanılmıştır. Homojenizatörden geçiş sayısı arttıkça daha büyük partikül büyüklüğüne doğru sistematik bir değişim olduğu bildirilmiştir. Eş zamanlı olarak meydana gelen kaviteasyonun, fibrilasyonla birlikte matriksin genleşme ve genişlemesi gibi materyaldeki yapı değişikliklerini açıkladığı ifade edilmiştir. Daha fazla mekanik uygulamanın lif partiküllerinin parçalanmasına yol açacağı ve dolayısıyla boyut küçülmesi ile beraber partikül miktarında bir artış beklendiği belirtilmiştir. Ancak, analiz sonucunda elde edilen verilere göre, parçalanmaya bağlı olarak partikül boyutundaki artışın partikül boyutundaki azalmaya nazaran daha ağır bastığı ileri sürülmüştür. Lifli materyallerin homojenizatörde tekrar edilen muameleye tabi tutulmasına dair çalışmaların partikül boyutunun arttığını ya da azaldığını bildiren değişken sonuçlar ortaya koyduğu, çelişen bu iki sonucun ise spesifik uygulama ve materyale bağlı olduğu ifade edilmiştir.

Çizelge 3. Şeker pancarı lifi örneklerinin partikül iriliği dağılımı üzerine yüksek basınç homojenizasyonunun etkisi

Table 3. Effect of high pressure homogenization on particle size distribution of sugar beet fibre samples

Örnek	Geçiş Sayısı	d(0.1)	d(0.5)	d(0.9)	Spesifik Yüzey Alanı	D[4,3]	D[3,2]
Sample	Pass number	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	Specific Surface Area	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )
					( $\text{m}^2/\text{g}$ )		
S	0	202.47	540.57	1049.02	0.0318	587.11	188.76
	1	40.50	148.27	362.50	0.0845	178.33	71.87
	3	28.95	98.87	237.73	0.1140	119.09	52.69
	5	24.42	82.45	194.67	0.1310	98.67	45.83
	7	21.03	69.87	156.23	0.1490	80.98	40.19
E	0	113.90	723.01	1423.16	0.0292	749.26	205.63
	1	55.99	263.49	582.43	0.0566	295.11	105.98
	3	39.70	157.55	353.15	0.0807	179.99	74.34
	5	34.84	131.10	294.38	0.0927	150.48	64.76
	7	32.31	118.38	263.00	0.0995	135.30	60.32
A	0	97.56	382.09	1055.44	0.0318	489.07	188.58
	1	57.94	150.93	361.99	0.0638	183.97	94.01
	3	44.40	112.63	244.34	0.0848	131.16	70.78
	5	41.72	107.52	226.60	0.0891	122.89	67.35
	7	37.73	100.13	209.03	0.0964	113.68	62.27

S: Suyla yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S: Water extracted and high pressure homogenized fibre sample

E: Etil alkol ile yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

E: Ethanol extracted and high pressure homogenized fibre sample

A: Islak fraksiyonlama uygulanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

A: Wet fractionated and high pressure homogenized fibre sample

d(0.1): Partiküllerin %10'u (hacim esasına göre) belirtilen boyuttan küçüktür.

d(0.1): 10% of the volume that is smaller than the size indicated

d(0.5): Partiküllerin %50'si (hacim esasına göre) belirtilen boyuttan küçüktür.

d(0.5) 50% of the volume that is smaller than the size indicated

d(0.9): Partiküllerin %90'ı (hacim esasına göre) belirtilen boyuttan küçüktür.

d(0.9): 90% of the volume that is smaller than the size indicated

D[4,3]: Hacim ağırlıklı ortalama çap

D[4,3]: Volume weighted mean

D[3,2]: Alan ağırlıklı ortalama çap

D[3,2]: Surface weighted mean

### Fonksiyonel Özellikler

Şeker pancarı posası ve lif örneklerinin yoğunluk, şişme kapasitesi, su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi gibi fonksiyonel özellikleri Çizelge 4'te sunulmuştur. Posanın yoğunluğu  $0.52 \text{ g/cm}^3$  olarak belirlenmiş olup, lif örneklerinin yoğunlukları  $0.12\text{-}0.62 \text{ g/cm}^3$  değerleri arasında değişmiştir. Michel vd. (1988), şeker pancarı posasının yoğunluğunu  $577 \text{ mg/cm}^3$ , farklı partikül boyutlarına sahip şeker pancarı lifi

örneklerinin yoğunluklarını ise  $153\text{-}200 \text{ mg/cm}^3$  olarak belirlemiştir. Javidipour vd. (2005), şeker pancarı lifinin ( $<425 \mu\text{m}$ ) yoğunluğunu  $376 \text{ mg/cm}^3$  olarak bildirmiştir. Yüksek basınç homojenizasyonu tüm örneklerde yoğunluğun istatistiksel olarak önemli ölçüde düşmesine neden olmuştur ( $P < 0.05$ ). En düşük yoğunluk değerinin ( $0.12 \text{ g/cm}^3$ ) suyla yıkanmış örneğe ait olduğu belirlenmiştir, bu da bu lif örneğinin diğer örneklere göre daha gözenekli bir yapıya sahip

## Şeker pancarı besinsel lifinin ekstraksiyonu ve mikronizasyonu

olmasından kaynaklanmaktadır. Farklı lifli materyaller ve farklı boyut küçültme yöntemlerinin uygulandığı çeşitli çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiş, partikül büyüklüğü

azaldıkça örneklerin yoğunluğunda azalma olduğu bildirilmiş ve bu durum örneklerin porozitesindeki artışa dayandırılmıştır (Huang vd., 2010; Wang vd., 2012; Ulbrich ve Flöter, 2014).

Çizelge 4. Şeker pancarı lifi örneklerinin fonksiyonel özellikleri

Table 4. Functional properties of sugar beet fibre samples

	Yoğunluk <i>Bulk Density</i> (g/cm <sup>3</sup> )	Şişme Kapasitesi <i>Swelling Capacity</i> (mL/g lif)	Su Tutma Kapasitesi <i>Water Holding Capacity</i> (g su/g lif)	Yağ Tutma Kapasitesi <i>Oil Holding Capacity</i> (g yağ/g lif)
P	0.52±0.01 <sup>f</sup>	9.00±0.71 <sup>a</sup>	6.10±0.14 <sup>b</sup>	2.50±0.00 <sup>b</sup>
SK	0.30±0.01 <sup>d</sup>	16.88±0.18 <sup>c</sup>	9.30±0.14 <sup>e</sup>	3.93±0.15 <sup>d</sup>
S	0.12±0.00 <sup>a</sup>	16.13±0.53 <sup>c</sup>	7.30±0.00 <sup>c</sup>	6.32±0.00 <sup>f</sup>
EK	0.62±0.00 <sup>g</sup>	12.00±0.00 <sup>b</sup>	5.40±0.28 <sup>a</sup>	1.80±0.08 <sup>a</sup>
E	0.15±0.00 <sup>b</sup>	17.50±0.00 <sup>cd</sup>	5.55±0.21 <sup>a</sup>	3.92±0.00 <sup>d</sup>
AK	0.32±0.01 <sup>e</sup>	17.50±1.41 <sup>cd</sup>	8.45±0.07 <sup>d</sup>	3.49±0.15 <sup>c</sup>
A	0.24±0.00 <sup>c</sup>	18.75±0.35 <sup>d</sup>	8.55±0.07 <sup>d</sup>	4.42±0.08 <sup>c</sup>

Farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

Different small letters show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )

SK: Suyla yıkanmış lif örneği

SK: *Water extracted fibre sample*

EK: Etil alkol ile yıkanmış lif örneği

EK: *Ethanol extracted fibre sample*

AK: Islak fraksiyonlama uygulanmış lif örneği

AK: *Wet fractionated fibre sample*

S: Suyla yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S: *Water extracted and high pressure homogenized fibre sample*

E: Etil alkol ile yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

E: *Ethanol extracted and high pressure homogenized fibre sample*

A: Islak fraksiyonlama uygulanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

A: *Wet fractionated and high pressure homogenized fibre sample*

Üç farklı yöntemle elde edilen lif örneklerinin şişme kapasiteleri posanınine göre önemli düzeyde daha yüksektir ( $P < 0.05$ ). Posanın şişme kapasitesi 9.00 mL/g lif iken su, etanol ve alkali ile muamele edilmiş örneklerin şişme kapasiteleri sırasıyla 16.88, 12.00 ve 17.50 mL/g lif olarak belirlenmiştir. Şişme kapasitesindeki en büyük artış alkali ile muamele edilmiş örnekte gözlenmiştir. Şeker pancarı lifinin asidik veya bazik çözeltilerle kimyasal olarak muamele edilmesinin çözünmez besinsel lifin şişme kapasitesini arttırabileceği, bu durumun da hücre duvarları bütünlüğünün zarar görmesi ile açıklanabileceği belirtilmiştir (Bertin vd., 1988; Chen vd., 2013). Yüksek basınç homojenizasyonu, suyla ve alkali ile muamele edilmiş örneklerin şişme kapasiteleri üzerinde

önemli bir etki göstermezken etanol ile muamele edilmiş örneğin şişme kapasitesini önemli düzeyde arttırmıştır. Suyu ve alkali ile muamele posaya göre önemli düzeyde yüksek su tutma kapasitesi ve yağ tutma kapasitesine sahip örneklerin elde edilmesine neden olmuştur. Bu durum, su ve alkali muamelelerinin şekeri uzaklaştırma bakımından daha etkili olduklarını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, şeker giderme işleminin su tutma ve şişme kapasitesini arttırdığı, toplam çözünür şeker içeriği daha yüksek olan portakal kabuğu lifi örneklerinin önemli ölçüde düşük su tutma kapasitesi değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Larrauri, 1999). Şekerden arındırılmış posalar daha fazla besinsel lif, özellikle de suyla etkileşime giren hidrosil gruplarınca zengin daha fazla selüloz ve hemiselüloz içermektedir (Rabetafika

vd., 2014). Posanın su tutma kapasitesi 6.10 g su/g lif düzeyinde iken suyla ve alkali ile muamele edilmiş örneklerde bu değer sırasıyla 9.30 ve 8.45 g su/g lif olarak belirlenmiştir. Özellikle liflerin su tutma özelliği ile ilişkili olan çözünmez fraksiyonun suyla yıkanmış örnekte daha yüksek oranda bulunması nedeniyle (Thebaudin vd., 1997), bu örneğe ait su tutma kapasitesi değerlerinin etanol ve alkali ile muamele edilmiş örneklere göre daha yüksek olduğu görülmektedir (SK, EK ve AK örneklerinin çözünmez besinsel lif/çözünür besinsel lif oranı sırasıyla 7.07, 2.20 ve 2.75 olarak belirlenmiştir; veriler gösterilmemiştir). Çözünmez besinsel lifte daha kalın bir katmanlı yapının bulunması nedeniyle, su tutma ve yağ tutma kapasitelerinin çözünür besinsel life göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Zhu vd., 2010). Hidrasyon özellikleri ve yağ tutma kapasitesi açısından en düşük değerlerin etanol ile muamele edilmiş örneğe (EK) ait olduğu görülmektedir. Bu durum EK örneğinin SK ve AK örneklerine göre çözünmez besinsel lif içeriğinin daha düşük olması, aynı zamanda daha yüksek yoğunluk değerine sahip olması nedeniyle porozitesinin ve kılcal çekiminin daha düşük olması ile açıklanabilir. Bir tür yeşil elmadan lif izole etmek amacıyla sulu metot ve etanolik metot olmak üzere iki farklı metodun uygulandığı bir çalışmada, örneklere ait ESEM (çevresel taramalı elektron mikroskopisi) sonuçları değerlendirildiğinde etanolik metotla elde edilen örneklerin daha yoğun, daha sıkı, opak, kümelenmiş ve iç içe geçmiş oldukları belirtilmiştir (Sun-Waterhouse vd., 2008). Yüksek basınç homojenizasyonu, suyla yıkanmış örneğin su tutma kapasitesi değerini mikronize edilmemiş örneğe göre önemli ölçüde düşürürken, bütün örneklerin yağ tutma kapasitesi değerlerinde önemli bir artış meydana getirmiştir ( $P < 0.05$ ). Thebaudin vd. (1997), besinsel liflerin kaynağı ve partikül boyutunun liflerin şişme özellikleri, su tutma kapasitesi ve yağ absorpsiyon kapasitesi üzerinde etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Şeker pancarı lifinin yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu, ayrıca liflerin partikül boyutunu arttırmanın su tutma kapasitesini ve yağ absorpsiyon kapasitesini arttırdığı ifade edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda çözünmez besinsel lifin partikül büyüklüğü ile hidrasyon özellikleri ve yağ

tutma kapasitesi arasındaki ilişki incelenmiş, ancak çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmalarında havuç çözünmez lifi kullanan Chau vd. (2007) ve zencefil tozu kullanan Zhao vd. (2009), daha küçük partikül boyutunu yüksek hidrasyon özellikleri ile ilişkilendirerek, mikronizasyonun ortamdaki suya daha fazla yüzey alanı, polar gruplar ve su bağlama bölgelerini maruz bıraktığını, bu durumun da su tutma kapasitesi ve şişme kapasitesi gibi özelliklerde önemli bir artışa yol açtığını ifade etmiştir. Şeftali ve yulaf çözünmez liflerini mikrofluidizasyon prosesine maruz bırakan bir çalışmada, partikül boyutunun azalması ile birlikte hidrasyon özellikleri ve yağ tutma kapasitesinin arttığı bildirilmiştir. Hidrasyon özelliklerindeki artış, yüzey alanının artmasına ve mikrofluidizasyon prosesi esnasında açığa çıkan su bağlama bölgeleri tarafından tutulabilecek su miktarındaki artışa dayandırılmıştır. Ayrıca, partikül büyüklüğündeki belirgin azalmanın lifin porozitesini ve kılcal çekimini arttırabileceği, sonuçta yağın fiziksel olarak tutulmasını dolayısıyla yağ tutma kapasitesini de arttıracığı ifade edilmiştir (Chen vd., 2013). Benzer bir çalışmada, buğday kepeği çözünmez lifi ultra ince öğütme prosesine maruz bırakılmış, öğütme sonrasında (ortalama partikül büyüklüğü 343.5 nm) örneklerin su tutma kapasitesi ve şişme kapasitesi gibi hidrasyon özelliklerinin azaldığı saptanmıştır. Bu özelliklerin, polisakkarit zincirler tarafından oluşturulan ve hidrojen bağları aracılığıyla yüksek miktarda su tutabilen poröz matriks yapısıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Kuru fibröz materyalin ince toz haline öğütülmesinin, bu materyalin su tutma ve şişme kapasitesini olumsuz etkileyebileceği, bu etkinin sadece partikül boyutunun azalmasına değil aynı zamanda lifin matriks yapısının değişmesine de bağlı olduğu ifade edilmiştir (Zhu vd., 2010). Cadden (1987), besinsel lifin hidrasyon özelliklerinin çözünmez/çözünür lif oranına, partikül büyüklüğüne, ekstraksiyon koşulu ve kaynağına bağlı olduğunu belirtmiştir. Partikül büyüklüğünü hidrasyon özellikleri ile ilişkilendiren bir başka çalışmada, hindistan cevizi lifinde partikül büyüklüğünün 1127  $\mu\text{m}$ 'den 550  $\mu\text{m}$ 'ye düşmesi ile birlikte hidrasyon özelliklerinin arttığı ancak 550  $\mu\text{m}$ 'den sonra boyuttaki azalma ile birlikte

(390 µm'ye) hidrasyon özelliklerinin azaldığı belirtilmiştir. Bu azalmanın, öğütme esnasında lif matriksinin zarar görmesine ve gözeneklerin çökmesine bağlı olabileceği bildirilmiştir (Raghavendra vd., 2006).

### Viskozite

Şeker pancarı lifi örneklerinin viskoziteleri Çizelge 5'de sunulmuştur. Lif konsantrasyonundaki artışla birlikte çözeltideki suyu tutabilecek madde miktarı artmış, gittikçe daha yoğun bir süspansiyon oluşmuş ve dolayısıyla beklenildiği gibi örneklerin viskozitesi de artmıştır. En yüksek viskozite değerinin suyla yıkanmış örneğe (SK) ait olduğu belirlenmiş olup, bunu alkali ile muamele edilip mikronize edilmiş lif örneği (A) takip etmiştir. Bu sonuçlar, lif örneklerinin su tutma kapasitesi değerleri ile de uyumludur (su tutma kapasitesi değerleri SK örneği için 9.3 g su/g lif iken A örneği için 8.5 g su/g lif'tir). Daha büyük partikül boyutu ile birlikte daha fazla çözünmeyen katı madde miktarının daha yüksek viskoziteye yol

açtığı belirtilmiştir (Lopez-sanchez vd., 2011). Lifli materyallerin viskozitesini belirleyen çeşitli çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yağdan arındırılmış pirinç kepeğinden elde edilen besinsel lifin %1, 3, 5 ve 7'lik süspansiyonlarının viskozitelerinin belirlendiği bir çalışmada, çözeltinin konsantrasyonu arttıkça viskozitede artış meydana geldiği ancak örnekler için viskozite değerlerinin şeker pancarından elde edilen ticari bir lif olan FIBREX'in aynı konsantrasyonlardaki çözeltilerine göre daha düşük olduğu ifade edilmiştir (Abdul-Hamid ve Luan, 2000). Başka bir çalışmada, ticari bir besinsel lif (yulaf lifi) yüksek basınç homojenizasyonu ile modifiye edilmiş ve örneklerin %6.5'lik süspansiyonlarının reolojik davranışı incelenmiştir. Disperse olmuş liflere mekanik uygulamanın artırılmasıyla birlikte genel olarak belirlenen viskozitelerin arttığı, bu durumun artan su bağlama kapasitesi ile de uyum içinde olduğu belirtilmiştir (Ulbrich ve Flöter, 2014).

Çizelge 5. Şeker pancarı lifi örneklerinin viskozite değerleri

Table 5. Viscosity values of sugar beet fibre samples

Konsantrasyon Concentration (%)	Viskozite Viscosity (cP)				
	1	2	3	4	5
P	4.00±0.00 <sup>a</sup>	6.00±2.83 <sup>a</sup>	8.00±0.00 <sup>a</sup>	10.00±2.83 <sup>a</sup>	10.00±2.83 <sup>a</sup>
SK	8.00±0.00 <sup>ab</sup>	12.00±0.00 <sup>ab</sup>	46.00±2.83 <sup>c</sup>	326.00±19.80 <sup>e</sup>	1640.50±51.62 <sup>e</sup>
S	4.00±0.00 <sup>a</sup>	18.00±0.00 <sup>ab</sup>	18.00±2.83 <sup>b</sup>	38.00±8.49 <sup>b</sup>	106.00±14.14 <sup>b</sup>
EK	10.00±2.83 <sup>bc</sup>	16.00±0.00 <sup>b</sup>	26.00±2.83 <sup>c</sup>	54.00±2.83 <sup>bc</sup>	64.00±0.00 <sup>ab</sup>
E	10.00±2.83 <sup>bc</sup>	16.00±0.00 <sup>b</sup>	36.00±0.00 <sup>d</sup>	68.00±5.66 <sup>c</sup>	276.00±5.66 <sup>c</sup>
AK	8.00±0.00 <sup>ab</sup>	16.00±0.00 <sup>b</sup>	24.00±0.00 <sup>bc</sup>	62.00±2.83 <sup>c</sup>	304.00±39.60 <sup>c</sup>
A	14.00±2.83 <sup>c</sup>	50.00±8.49 <sup>c</sup>	68.00±5.66 <sup>f</sup>	242.00±2.83 <sup>d</sup>	744.00±11.31 <sup>d</sup>

Farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık vardır ( $P < 0.05$ )

Different small letters show the statistical difference between the values ( $P < 0.05$ )

SK: Suyla yıkanmış lif örneği

SK: *Water extracted fibre sample*

EK: Etil alkol ile yıkanmış lif örneği

EK: *Ethanol extracted fibre sample*

AK: Islak fraksiyonlama uygulanmış lif örneği

AK: *Wet fractionated fibre sample*

S: Suyla yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

S: *Water extracted and high pressure homogenized fibre sample*

E: Etil alkol ile yıkanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

E: *Ethanol extracted and high pressure homogenized fibre sample*

A: Islak fraksiyonlama uygulanmış ve yüksek basınç homojenizatöründen geçirilmiş lif örneği

A: *Wet fractionated and high pressure homogenized fibre sample*

## SONUÇ

Şeker pancarı posasından üç farklı uygulama ile şeker pancarı çözünmez lifi elde edilmiş ve bu lifler yüksek basınç homojenizasyonu ile mikronize edilmiştir. Lif elde etmek amacıyla kullanılan yöntemler, örneklerin toplam besinsel lif ve çözünmez besinsel lif içeriğini önemli ölçüde arttırmıştır. Yüksek basınç homojenizasyonu, lifli materyallerin partikül boyutunda önemli bir azalma, spesifik yüzey alanında ise önemli düzeyde artış meydana getirmiştir. Mikronizasyon yalnızca partikül boyutunu azaltmakla kalmamış aynı zamanda örneklerin yoğunluk, su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi gibi fonksiyonel özelliklerini de geliştirmiştir. Üç farklı yöntemle elde edilen lif örnekleri kıyaslandığında, suyla yıkanmış örneğin fonksiyonel özellikler açısından diğer örneklerle göre daha üstün olduğu belirlenmiştir. Yüksek basınç homojenizasyonu aracılığıyla fonksiyonel özellikleri geliştirilen şeker pancarı lifi örnekleri çeşitli gıda formülasyonlarında kullanılarak tekstür ve stabilite açısından katma değerli gıda ürünleri geliştirilebilir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi (Proje No: 2015/35) tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

AACC (1990). American Association of Cereal Chemists: Approved Methods of the AACC, 8<sup>th</sup> ed., The Association: St. Paul, MN.

Abdul-Hamid A., Luan Y.S. (2000). Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. *Food Chem*, 68(1), 15-19.

AOAC (1997). Association of Official Analytical Chemists. Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16<sup>th</sup> ed.; AOAC: Washington, DC.

Bertin C., Rouau X., Thibault J.F. (1988). Structure and properties of sugar beet fibres. *J Sci Food Agric*, 44, 15-29.

Cadden A. (1987). Comparative effects of particle size reduction on physical structure and water

binding properties of several plant fibers. *J Food Sci*, 52(6), 1595-1599.

Chau C.F., Wang Y.T., Wen Y.L. (2007). Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chem*, 100, 1402-1408.

Chau C.F., Wen Y.L., Wang Y.T. (2006). Effects of micronization on the characteristics and physicochemical properties of insoluble fibres. *J Sci Food Agric*, 86, 2380-2386.

Chen J., Gao D., Yang L., Gao Y. (2013). Effect of microfluidization process on the functional properties of insoluble dietary fiber. *Food Res Int*, 54, 1821-1827.

Chen T., Zhang M., Bhandari B., Yang Z. (2018). Micronization and nanosizing of particles for an enhanced quality of food: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(6), 993-1001.

Christiansen E.S. (1989). Characteristics of sugar beet fibre allow many food uses. *Cereal Foods World*, 34(7), 541-544.

Clarke A., Prescott T., Khan A., Olabi A.G. (2010). Causes of breakage and disruption in a homogeniser. *Appl Energy*, 87, 3680-3690.

Doner L.W., Chau H.K., Fishman M.L., Hicks K.B. (1998). An improved process for the isolation of corn fiber gum. *Cereal Chem*, 75(4), 408-411.

Dumay E., Chavelier-Lucia D., Picart-Palmade L., Benzaria A., Gracia-Julia A., Blayo C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenization. *Trends Food Sci Technol*, 31(1), 13-26.

Filipovic N., Djuric M., Gyura J. (2007). The effect of the type and quantity of sugar-beet fibers on bread characteristics. *J Food Eng*, 78, 1047-1053.

Floury J., Bellettre J., Legrand J., Desrumaux A. (2004). Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A study of the flow pattern. *Chem Eng Sci*, 59(4), 843-853.

Frost J., Hegedus E.F., Glicksman M. (1984). Objective characterization of hydrocolloid organoleptic properties. *Food Technol*, 38, 118-122.

- Fung W.Y., Yuen K.H., Liong M.T. (2010). Characterization of fibrous residues from agrowastes and the production of nanofibers. *J Agric. Food Chem*, 58, 8077-8084.
- Gómez M., Ronda F., Blanco C.A., Caballero P.A., Apesteguía A. (2003). Effect of dietary fibre on dough rheology and bread quality. *Eur Food Res Technol*, 216, 51-55.
- Gupta P., Premavalli K.S. (2010). Effect of particle size reduction on physicochemical properties of ashgourd (*Benincasa hispida*) and radish (*Raphanus sativus*) fibres. *Int J Food Sci Nutr*, 61(1), 18-28.
- Hu J.L., Nie S.P., Xie M.Y. (2013). High pressure homogenization increases antioxidant capacity and short-chain fatty acid yield of polysaccharide from seeds of *Plantago asiatica* L. *Food Chem*, 138, 2338-2345.
- Hu R., Zhang M., Adhikari B., Liu Y. (2015). Effect of homogenization and ultrasonication on the physical properties of insoluble wheat bran fibres. *Int Agrophys.*, 29, 423-432.
- Huang C.C., Chen Y.F., Wang C.C.R. (2010). Effects of micronization on the physicochemical properties of peels of three roots and tuber crops. *J Sci Food Agric*, 90,759-763.
- Javidipour I., Vural H., Özboy-Özbaş Ö., Tekin A. (2005). Effects of interesterified vegetable oils and sugar beet fiber on the quality of Turkish-type salami. *Int J Food Sci Technol*, 40,177-185.
- Jongaroontaprangsee S., Tritrong W., Chokanaporn W. (2007). Effects of drying temperature and particle size on hydration properties of dietary fiber powder from lime and cabbage by-products. *Int J Food Prop*, 10(4), 887-897.
- Kuan Y.H., Liong M.T. (2008). Chemical and physicochemical characterization of agrowaste fibrous materials and residues. *J Agric Food Chem*, 56, 9252-9257.
- Larrauri J.A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends Food Sci Technol*, 10, 3-8.
- Lopez-sanchez P., Nijse J., Blonk H.C.G., Bialek L., Schumm S., Langton M. (2011). Effect of mechanical and thermal treatments on the microstructure and rheological properties of carrot, broccoli and tomato dispersions. *J Sci Food Agric*, 91, 207-217.
- Michel F., Thibault J.F., Barry J.L. (1988). Preparation and characterization of dietary fibre from sugar beet pulp. *J Sci Food Agric*, 4, 77-85.
- Özboy Ö., Şahbaz F., Köksel H. (1998). Chemical and physical characterization of sugar beet fibre. *Acta Aliment*, 27, 137-138.
- Pavlovich-Abril A., Rouzaud-Sandez O., Romero-Baranzini A.L., Vidal-Quintanar R.L. (2015). Relationships between chemical composition and quality-related characteristics in bread making with wheat flour-fine bran blends. *J Food Qual*, 38(1), 30-39.
- Rabetafika H.N., Bchir B., Aguedo M., Paquot M., Blecker C. (2014). Effects of processing on the compositions and physicochemical properties of fibre concentrate from cooked fruit pomaces. *Food Bioproc Tech*, 7, 749-760.
- Raghavendra S.N., Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Tharanathan R.N. (2004). Dietary fiber from coconut residue: Effects of different treatments and particle size on the hydration properties. *Eur Food Res Technol*, 218(6), 536-567.
- Raghavendra S.N., Swamy R., Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S., Kumar S., Tharanathan R.N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *J Food Eng*, 72, 281-286.
- Redgwell R.J., Fischer M. (2005). Dietary fiber as a versatile food component: An industrial perspective. *Mol Nutr Food Res*, 49(6), 521-535.
- Resende L.M., Franca A.S., Oliveira L.S. (2019). Burity (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flour: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. *Food Chem*, 270, 53-60.
- Sakhare S.D., Prabhasankar P. (2017). Effect of roller mill processed fenugreek fiber addition on rheological and bread making properties of wheat flour doughs. *J Food Process Pres*, 41, e13012, 1-9.



- Sangnark A., Noomhorm A. (2003). Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chem*, 80(2), 221-229.
- Schweizer T.F., Wursch P. (1991). The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia*, 47, 181-186.
- Soronja Simovic D., Maravic N., Seres Z., Misan A., Pajin B., Jevric L.D., Podunavac-Kuzmanovic S.O., Kovacevic S.Z. (2017). Antioxidant capacity of cookies with non-modified and modified sugar beet fibers: chemometric and statistical analysis. *Eur Food Res Technol*, 243, 239-246.
- Stear C.A. (1990). Formulation and processing techniques for specialty-bread. In *Handbook of Bread Making Technology* (C.A. Stear, ed.) Elsevier Science, London.
- Sun-Waterhouse D., Farr J., Wibisono R., Saleh Z. (2008). Fruit-based functional foods I: production of food-grade apple fibre ingredients. *Int J Food Sci Technol*, 43, 2113-2122.
- Thebaudin J.Y., Lefebvre A.C., Harrington M. Bourgeois C.M. (1997). Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends Food Sci Technol*, 8, 41-48.
- Türkşeker (2018). İstatistikler: Personel, Şeker Satış, Ekim ve Üretim. [www.turkseker.gov.tr](http://www.turkseker.gov.tr) (Erişim tarihi: 10 Ocak 2019).
- Ulbrich M., Flöter E. (2014). Impact of high pressure homogenization modification of a cellulose based fiber product on water binding properties. *Food Hydrocoll*, 41, 281-289.
- Vural H., Javidipour I., Ozboy-Ozbas O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugar beet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Sci*, 67, 65-72.
- Wang T., Sun X., Raddatz J., Chen G. (2013). Effects of microfluidization on microstructure and physicochemical properties of corn bran. *J Cereal Sci*, 58, 355-361.
- Wang T., Sun X., Zhou Z., Chen G. (2012). Effects of microfluidization process on physicochemical properties of wheat bran. *Food Res Int*, 48, 742-747.
- Ye F., Tao B., Liu J., Zou Y., Zhao G. (2016). Effect of micronization on the physicochemical properties of insoluble dietary fiber from citrus (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) pomace. *Food Sci Technol Int*, 22(3), 246-255.
- Zhang H., Wang H., Cao X., Wang J. (2018). Preparation and modification of high dietary fibre flour: A review. *Food Res Int*, 113, 24-35.
- Zhao X., Yang Z., Gai G., Yang Y. (2009). Effect of superfine grinding on properties of ginger powder. *J Food Eng*, 91, 217-222.
- Zhu F., Du B., Li R., Li J. (2014). Effect of micronization technology on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from buckwheat hulls. *Biocatal Agric Biotechnol*, 3(3), 30-34.
- Zhu K., Huang S., Peng W., Qian H., Zhou H. (2010). Effect of ultrafine grinding on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber. *Food Res Int*, 43(4), 943-948.

## FARKLI FORMÜLASYONLARDA KAHVALTILIK ZAHTER ÜRETİMİ VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet Köten<sup>1\*</sup>, Mustafa Satouf<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kilis, Türkiye

<sup>2</sup>Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Kilis, Türkiye

Geliş / Received: 16.01.2019; Kabul / Accepted: 19.05.2019; Online baskı / Published online: 19.06.2019

Köten, M., Stouf, M.. (2019). Farklı formülasyonlarda kahvaltılık zahter üretimi ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2019) 44 (3): 513-522 doi:10.15237/gida.GD19023

Köten, M., Stouf, M.. (2019). Production of breakfast zahter in different formulations and determination of some quality characteristics. *GIDA* (2019) 44 (3): 513-522 doi:10.15237/gida.GD19023

### ÖZ

Kahvaltılık Zahter ülkemizin Doğu Akdeniz Bölgesinde özellikle Kilis, Gaziantep ve Hatay çevresinde sabah kahvaltılarında zeytinyağı ile birlikte tüketilen geleneksel bir kuruyemiş baharat karışımıdır. Bu çalışmada, kekik bitkisi ve menengiç meyvesinin değişik oranlarda katılması suretiyle yeni kahvaltılık zahter formüllerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda toplam 15 farklı formülasyonda Kahvaltılık Zahter üretilmiştir. Ayrıca formülasyonda kekik bitkisinin ve menengiç meyvesinin bulunmadığı kontrol örneğinin üretimi de gerçekleştirilmiştir. Örneklerde yapılan duyu analizi sonucunda en çok beğenilen M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub> (menengiç meyvesinin %2 ve kekik bitkisinin %2 kombinasyonunun kullanıldığı örnek) örneğinde nem, kül, protein, yağ, karbonhidrat, ham lif, fitik asit, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve enerji değerleri belirlenmiştir. Protein hariç diğer tüm özelliklerde tespit edilen değerler kontrol örneğinden yüksek bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Kahvaltılık zahter, baharat, kekik, menengiç

### PRODUCTION OF BREAKFAST ZAHTER IN DIFFERENT FORMULATIONS AND DETERMINATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS

### ABSTRACT

Breakfast zahter is a traditional food which is prepared by mixing ground roasted nuts and various spices and consumed with olive oil in breakfast in the eastern mediterranean region of our country, especially in Kilis, Gaziantep and Hatay. In this study, it was aimed to develop new breakfast zahter formulas by adding different rates of thyme and menengic fruit. In this direction, 15 different formulations Breakfast Zahter were produced in. In addition, the production of the control sample was carried using the same formulation with the exception of thyme and menengic fruit. The sample (M<sub>4</sub> + K<sub>4</sub>) with 2% menengic paste and 2% thyme plant got the highest score in sensory analysis. Moisture, ash, protein, fat, carbohydrate, raw fiber, phytic acid, antioxidant activity, total phenolic substance and energy values were determined on that sample. All other properties except protein were found higher than the control sample.

**Keywords:** Breakfast zahter, spices, thyme, menengic

\*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ mehmetkoten@gmail.com,

☎ (+90) 348 814 26 66/1813

☎ (+90) 348 814 30 98

## GİRİŞ

Kahvaltılık Zahter ülkemizin Doğu Akdeniz Bölgesinde özellikle Kilis, Gaziantep ve Hatay çevresinde sabah kahvaltılarında zeytinyağı ile birlikte tüketilen geleneksel bir kuruyemiş baharat karışımıdır. Yüzyıllardır geleneksel bir gıda ürünü olarak ev koşullarında üretilen ve tüketilen Kahvaltılık Zahter, günümüzde endüstriyel anlamda üretilmeye ve daha geniş kitlelere ulaştırılmaya başlanmıştır. Üretiminde çeşitleri ve oranları yöreden yöreye değişmekle birlikte, genel olarak menengiç, karpuz çekirdeği, kavun çekirdeği, kırık leblebi, buğday, kumbüz (kendir tohumu) yerfıstığı, zahter (karabaş kekik), kimyon, küzbara (kişniş), mayana (rezene), anason, toz kırmızıbiber, sumak, koruk (olgunlaşmamış üzüm) kurusu, tuz, limon tuzu ve kavrulmuş küncü (susam) gibi hammaddeler kullanılmaktadır. Ayıklama, yıkama ve kurutma işlemlerinden sonra bu maddeler kavrulmakta, daha sonra değirmenlerde öğütülmekte ve tat verici katkı maddeleri ilave edilmektedir (Uçan vd., 2014). İçeriğindeki zengin besin maddelerinden dolayı Kahvaltılık Zahter besin değeri açısından oldukça yüksek değerlere sahip doğal bir gıda maddesidir. Yapılan literatür taramasında Kahvaltılık Zahterle ilgili yapılan bilimsel çalışmaların yeterli olmadığı görülmüştür. Yaptığımız bu çalışmada, kekik bitkisi ve menengiç püresinin değişik oranlarda katılması suretiyle yeni kahvaltılık zahter formüllerinin geliştirilmesi ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Baharat ve Kahvaltılık Zahter

Baharatın tarihi ve kullanımı insanlığın başlangıcına kadar uzamaktadır (Akgül, 1993). Baharatın kullanılışı, tam açık olmamakla birlikte, Neolitik çağ diye adlandırılan İsa'dan 4000 yıl öncesine dayanmaktadır. Geçim kaynağı avcılık ve balıkçılık olan bu insanlar, göçebelikten yerleşik hayata geçince, tarıma başlamış ve sonra çevrede bulduğu yabancı kokulu bitkileri toplamaya başlamışlardır (İzer, 1997). Baharat, kelime kökeni olarak Farsça hoş kokulu, güzel anlamına gelen "bahar" sözcüğünün çoğuludur (Soner vd., 2002). Baharat gıdalarda üreyen zararlı mikroorganizmaları öldürebildiğinden ya da onların zehir üretmelerini engelleyebildiğinden baharat kullanımı, gıda kaynaklı hastalıklara ve

gıda zehirlenmelerine yakalanma riskini azaltabilmektedir (Billing ve Sherman, 1998).

Farklı tatlara ve özellikle geleneksel gıdalara olan ilgi son zamanlarda artış göstermektedir. Bu bağlamda, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yoğun bir şekilde tüketilen Kahvaltılık Zahter'in de popülaritesi gün geçtikçe artmaktadır. Ağırıklı olarak kahvaltıda tüketilen baharat ve kuruyemişlerin bir karışımı olan Kahvaltılık Zahter'in içeriği yöreden yöreye değişmektedir.

Türkiye'de "kekik" olarak tanımlanan ve bu amaçla kullanılan *Lamiaceae* familyasından pek çok aromatik bitki türü bulunmaktadır. Ancak özellikle timol/karvakrol tipi uçucu yağ içeren türler "kekik" olarak kabul edilmektedir. Bu türler arasında özellikle *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbrave Coridothymus* cinsleri hem yayılış olarak hem de ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır (Özderin vd., 2014).

Kekik cinsinden elde edilen uçucu yağda ana bileşenler olarak öne çıkan "karvakrol"un antibakteriyel, antifungal, antihelmintik, insectisidal, analjezik ve antioksidan etkisi ve "Timol" ün ise fenollere göre 30 kat daha fazla antiseptik etkisi ve 4 kat daha az toksik etkisi bulunmaktadır. Önemli bir uçucu yağ bitkisi olması ve Türkiye'nin dünya kekik ihtiyacının çok büyük bir bölümünü karşılaması nedeniyle ekonomimiz için önemli bir bitkidir. Türkiye'de 2016 yılında 121127 dekar alanda 14724 ton kekik üretimi gerçekleştirilmiştir (Bayraktar vd., 2017; Özgüven vd., 2005).

*Pistacia terebinthus* L. bitkisinin meyvesi, halk tarafından bilinen adıyla "menengiç", Akdeniz bölgesinde makilik ve ormanlık alanlarda bulunan ağaç veya ağaççıklardan Ağustos-Ekim aylarında toplanan, baharatçılarda, attarlarda ve halk pazarlarında yıl boyu satışı gerçekleştirilen, kendine has tadı ve kokusu olan, aroma değeri yüksek bir yağlı tohumdur. Menengiç, kültürel anlamda yetiştirilmeyen, doğadan toplanan meyvelerinin de endüstriyel ölçekte değerlendirilmediği bilinen ancak geleneksel olarak hem çiğ hem de kavrulmuş olarak, içecekten ezmeye, çeşitli şekillerde işlenip

tüketilebilen, yağ ve protein bakımından zengin bir üründür. Yörelere göre çitlembik, çıtlık ve bittim gibi isimlerle anılmaktadır. Menengiç meyvesi Türkiye'nin Güney ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde taze veya kurutulmuş olarak çerezlik, geleneksel köy ekmeği yapımında ve kahve şeklinde tüketilmektedir. Aynı bölgelerde çitlembik ezmesi, bazı çeşni ve Baharatla harmanlanarak "kahvaltılık zahter" karışımında da kullanılmaktadır (Köten vd., 2017).

Kekik olarak bilinen zahter, Osmanlı'dan günümüze kadar hayatın hep içinde yer almıştır. Gaziantep, Kilis, İskenderun, Mardin ve Mersin yöresinde çay olarak tüketilen zahter, kahvaltılarda farklı bir tat olarak karşımıza çıkar. Kahvaltılık zahterin ortaya çıkması eskilere dayanır. Bir önceki yıldan kalan zahirelik hububatın arta kalanlarının değerlendirilmesi amacıyla insanlar bu hububatları kavurup öğütürerek kahvaltıda kullanmışlardır. Bu da zamanla bir kahvaltılık kültürü doğurmuş ve günümüzde zeytinyağına badırarak tüketilen bir gıda haline gelmiştir (Erdoğan vd., 2012).

Daha fazla lezzet için ufalanmış ceviz veya antep fıstığı da eklenebilen Kahvaltılık Zahter bir kaseye bir başka kaseye de zeytinyağı konularak ikram edilir. Ekmek lokması önce zeytinyağına sonra yağın ıslaklığı ile zahtere batırılarak tüketilir. Kahvaltılık zahter aynı zamanda zeytinyağı tüketmemize de vesile olan bir gıdadır.

Kahvaltılık Zahterin içine giren baharat, yağlı tohum ve hububatların her birinin ayrı ayrı sağlık açısından önemli işlevleri vardır. Stres, dengesiz beslenme, çevre kirliliği, sigara ve alkol tüketiminin etkisiyle vücutta biriken oksidanlar vücut fonksiyonlarını olumsuz etkilerken aynı zamanda kanser ve hızlı yaşlanmaya neden olabilmektedir. Kahvaltılık zahterin içeriğinde bulunan antioksidan, fenolik ve flavanoid maddeler besleyici ve doyurucu özelliklerinin yanında çağımızın bu gibi sorunlarının önlenmesinde de etkili bir gıda konumundadır. Kahvaltılık Zahterin kuru maddeye göre toplam antioksidan aktivitesi 1013.68  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ , toplam fenolik madde miktarı 162.18  $\text{mg}/100\text{ g}$

ve flavanoid madde miktarı 136.34  $\text{mg}/100\text{ g}$  bulunmuştur (Erdoğan vd, 2012).

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada kullanılan materyallerden kekik, tarçın, kimyon, rezene, kişniş, anason, sumak, menengiç ve muskat Kilis ilinde faaliyet gösteren Şekeroğlu Baharat firmasından öğütülmüş olarak; karpuz çekirdeği, kavrulmuş lebbesi ve susam ise öğütülmemiş olarak temin edilmiştir. Duyusal analizlerde kullanılan zeytinyağı (Kilizi marka) da yine piyasadan temin edilmiştir.

### Yöntem

Kahvaltılık Zahter formülasyonunda kullanılan öğütülmemiş her bir bileşen öncelikle elle, daha sonra elekten geçirilerek yabancı maddelerinden (sap, saman, çöp, taş vb) temizlenmiştir.

Karpuz çekirdeği, susam ve leblebi sırasıyla sıcaklığı ayarlanabilen bir ısıtıcı üzerinde  $300 \pm 10$  °C'de 15 dakika bir tavada sürekli karıştırılarak kavrulduktan sonra soğumaya bırakılmış ve laboratuvar değirmeninde öğütülmüştür. Öğütülen örnekler Elek No: 10 olan 2.00 mm delik çapına sahip Amerikan elekten (Astm D422) geçirilmiştir. Susamda öğütme yapılmamıştır.

Kontrol olarak kullanılan Kahvaltılık Zahter karışımı, ön denemelerle belirlenen ve Çizelge 1'de verilen bileşenlerin çizelgede belirtilen miktarda kullanılması suretiyle hazırlanmıştır. Formülasyonda değişken olarak; kekik, menengiç meyvesi ve bunların muhtelif oranları kullanılmıştır. Menengiç meyvesi  $200 \pm 10$  °C'de kavrulduktan sonra kırma değirmeninde öğütülmüştür. Öğütme sonrası menengiç meyvesi püre halinde elde edilmiş olup formülasyona bu şekilde ilave edilmiştir. Çalışmada, Kahvaltılık Zahter nitelikleri üzerinde kekik ve menengiç püresinin yalın ve kombine bir biçimde sabit bileşenlerin (kontrol örneğinin) toplam ağırlığına göre değişen oranlarda (%1, %2, %3, %4 ve %5) kullanılmasının etkisi incelenmiştir. Bu şekilde elde edilen Kahvaltılık Zahter örnekleri, kekik ve menengiç püresi kullanılmaksızın (%0) yapılan kontrol Kahvaltılık Zahter örneği ile karşılaştırılarak değerlendirmeye tabi tutulmuştur.

Araştırmada kullanılan deneme deseni Çizelge 2’de gösterilmiştir. Buna göre formülasyonları birbirinden farklı 16 ayrı Kahvaltılık Zahter üretilmiştir.

Çizelge 1. Kahvaltılık Zahter yapımında kullanılan bileşenler (Kontrol örneği)  
Table 1. Components used in making breakfast Zahter (Control sample)

Bileşen Adı <i>Component Name</i>	Miktarı (g) <i>Amount (g)</i>
Leblebi <i>Roasted chickpea</i>	25.0
Karpuz Çekirdeği <i>Watermelon seeds</i>	25.0
Susam <i>Sesame</i>	25.0
Sumak <i>Sumac</i>	15.0
Kimyon <i>Cumin</i>	5.0
Kişniş <i>Coriander</i>	3.0
Rezene <i>Fennel</i>	1.5
Anason <i>Anise</i>	0.3
Tarçın <i>Cinnamon</i>	0.1
Muskat <i>Muscat</i>	0.1
Toplam <i>Total</i>	100.0

Kahvaltılık Zahter üretimleri Kilis 7 Aralık Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Üretimde ev tipi Kahvaltılık Zahter üretim metodu esas alınmıştır (Satouf, 2018). Buna göre tüm bileşenler tartıldıktan sonra geniş bir kap içerisinde kaşıkla karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışım uygun bir kavanoz

içerisinde homojen hale gelinceye kadar tekrar karıştırılmış ve aynı kavanoz içerisinde analiz edilinceye kadar oda koşullarında saklanmıştır.

#### Analiz Yöntemleri

Duyusal analiz hariç yapılan tüm analizler, duyu analizi sonucunda en çok beğenilen M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub> (menengiç püresinin %4 ve kekik bitkisinin %4 kombinasyonunun kullanıldığı) örneğinde ve katkı olarak kullanılan kekik bitkisi ile menengiç püresinde gerçekleştirilmiştir.

**Rutubet miktarı tayini:** Örneklerin rutubet miktarları ICC Standart Metot No: 110/1 (Anonim, 2002)’e göre belirlenmiştir.

**Kül miktarı tayini:** Kül miktarı tayinleri ICC Standart Metot No: 104/1 (Anonim 2002)’e göre yapılmıştır.

**Protein miktarı tayini:** Protein miktarı tayini ICC-standart No: 105/2 metoduna göre yapılmıştır (Anonim, 2002). Analiz sonucunda elde edilen azot (N) miktarı 6.25 katsayısı ile çarpılarak protein miktarı belirlenmiştir.

**Yağ miktarı tayini:** Örneklerin yağ miktarı tayinleri AACC Metot No:30-25.01’de belirtildiği şekilde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir (Anonim, 2010).

**Toplam Fenolik Madde(TFM) İçeriği:** Gutfinger (1981) metodu modifiye edilerek kullanılmıştır.

**Antioksidan Aktivite Tayini:** Yu ve ark. (2002), tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem, pembe renkli stabil bir bileşik olan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Sonuç DPPH inhibisyon yüzdesi olarak verilmiştir.

Çizelge 2. Kahvaltılık Zahterde Kontrol Örneği, Menengiç Püresi ve Kekik Bitkisinin Bileşimdeki Payı (%) (Deneme Deseni)

Table 2. Share of Control Example, Pistacia Porridge and Thyme Plant in the Composition of Breakfast Zahter (%) (Trial Pattern)

Kahvaltılık Örnekleri* Breakfast Samples*	Zahter Zahter	Bileşimdeki Pay (%) Composition (%)		
		Kontrol Control	Kekik Thyme	Menengiç Püresi Menengiç Paste
Kontrol Control		100.0	0.0	0.0
K <sub>1</sub>		99.0	1.0	0.0
K <sub>2</sub>		98.0	2.0	0.0
K <sub>3</sub>		97.0	3.0	0.0
K <sub>4</sub>		96.0	4.0	0.0
K <sub>5</sub>		95.0	5.0	0.0
M <sub>1</sub>		99.0	0.0	1.0
M <sub>2</sub>		98.0	0.0	2.0
M <sub>3</sub>		97.0	0.0	3.0
M <sub>4</sub>		96.0	0.0	4.0
M <sub>5</sub>		95.0	0.0	5.0
M <sub>1</sub> +K <sub>1</sub>		99.0	0.5	0.5
M <sub>2</sub> +K <sub>2</sub>		98.0	1.0	1.0
M <sub>3</sub> +K <sub>3</sub>		97.0	1.5	1.5
M <sub>4</sub> +K <sub>4</sub>		96.0	2.0	2.0
M <sub>5</sub> +K <sub>5</sub>		95.0	2.5	2.5

\*K: Kekik katkılı Kahvaltılık Zahter örneği; M: Menengiç püresi katkılı Kahvaltılık Zahter örneği; M+K: Menengiç püresi ve kekik bitkisinin değişik oranlarda kombinasyonlarının kullanıldığı Kahvaltılık Zahter örneği

\*K: Breakfast Zahter Sample with Thyme; M: Breakfast Zahter Sample with menengiç paste; M+K: Breakfast Zahter sample with combinations of menengiç paste and thyme in different proportions

**Fitik asit analizi:** Örneklerdeki fitik asitin Fe<sup>+3</sup> ile çözünmez formu olan demirfitat şeklinde çöktürülüp arta kalan yani çökelmeyen Fe<sup>+3</sup> miktarının bipyridine ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayalı bir yöntem kullanılmıştır. Bu ölçüm miktarı ile fitik asite bağlanıp çöken Fe<sup>+3</sup> miktarı da dikkate alınarak fitik asit konsantrasyonu hesaplanmaktadır. Bu analize aslında bir nevi Fe tayini de denebilir. Kurve ters lineer çıktığı için

elde edilen sonuç fitat miktarını ifade etmektedir (Haug ve Lantzsch, 1983)

**Ham Lif tayini:** Gravimetrik (weender) yöntemle Anonim (2013)'e göre yapılmıştır.

**Karbonhidrat tayini:** Toplam karbonhidrat miktarı aşağıdaki formüle göre kuru ağırlık üzerinden hesaplanmıştır.

Toplam Karbonhidrat (%) = [100- (%Protein + %Yağ + % Kül + %Nem)]

**Enerji değeri:** Aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanarak elde edilmiştir.

$$\text{Enerji (K.kal/100 g)} = [4x(\% \text{ Karbonhidrat}) + 4x(\% \text{ Protein}) + 9x(\% \text{ Yağ})]$$

**Duyusal analiz:** Duyusal analiz sonuçları 8 panelistin duyusal değerlendirme formundaki renk, koku, lezzet, zeytinyağı ve ekmek lezzeti ve genel beğeni gibi tanımlayıcı kelimeleri puanlamasına göre (1= en kötü ve 5 = en iyi olacak şekilde) belirlenmiştir (Altuğ, 2011).

**İstatistiksel Analiz:** Elde edilen sonuçlar, SPSS (SPSS 15.0 for Windows) paket programı

kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizi tekniği ile (ANOVA) grup ortalamaları arasındaki fark belirlenmiş ve farklılıkları istatistiki olarak önemli bulunanlara ( $p < 0.05$ ) DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırma uygulanmıştır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

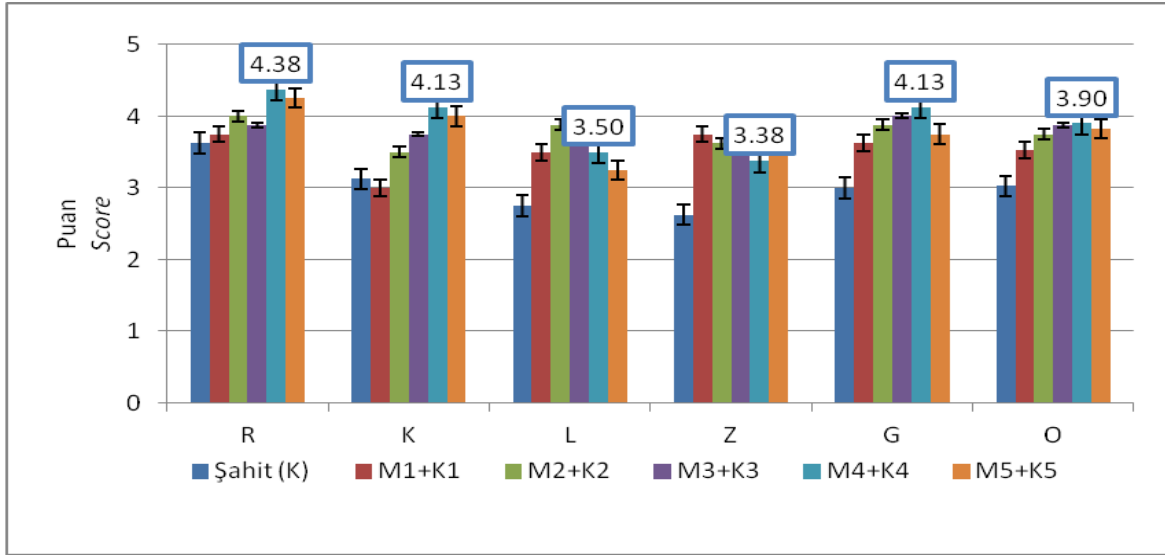
Kekik bitkisi ve menengiç püresi katkılı Kahvaltılık Zahter örneklerinin duyusal özelliklerine ait değerler Çizelge 3'te ve değişim grafiği Şekil 1'de verilmiştir.

Çizelge 3. Kahvaltılık Zahter örneklerinin duyusal özellikleri  
Table 3. Sensory properties of Breakfast Zahter samples

Örnek Sample	Renk Colour	Koku Odour	Lezzet Flavor	Zeytinyağı ve Ekmek ile lezzet Flavor with olive oil and bread	Genel Beğeni General Acceptability	Ortalama Puan Average Score
Kontrol Control	3.63±0.52 <sup>a</sup>	3.13±1.36 <sup>ab</sup>	2.75±0.46 <sup>a</sup>	2.63±1.06 <sup>a</sup>	3.00±0.53 <sup>a</sup>	3.03±0.79
K <sub>1</sub>	4.00±0.76 <sup>a</sup>	3.00±1.07 <sup>ab</sup>	2.75±1.49 <sup>a</sup>	3.25±1.04 <sup>ab</sup>	3.13±0.83 <sup>a</sup>	3.23±1.04
K <sub>2</sub>	3.63±1.41 <sup>a</sup>	3.25±1.28 <sup>ab</sup>	3.00±1.60 <sup>a</sup>	3.38±1.30 <sup>ab</sup>	3.38±1.06 <sup>ab</sup>	3.33±1.33
K <sub>3</sub>	3.75±0.71 <sup>a</sup>	3.13±0.83 <sup>ab</sup>	3.00±1.20 <sup>a</sup>	3.25±0.89 <sup>ab</sup>	3.25±0.89 <sup>ab</sup>	3.28±0.90
K <sub>4</sub>	3.75±1.16 <sup>a</sup>	2.88±1.13 <sup>ab</sup>	2.88±1.36 <sup>a</sup>	3.50±0.93 <sup>ab</sup>	3.63±0.74 <sup>ab</sup>	3.33±1.06
K <sub>5</sub>	4.00±0.53 <sup>a</sup>	2.75±1.39 <sup>a</sup>	2.88±0.99 <sup>a</sup>	3.25±1.16 <sup>ab</sup>	3.63±0.92 <sup>ab</sup>	3.29±0.99
M <sub>1</sub>	4.00±0.76 <sup>a</sup>	3.00±0.93 <sup>ab</sup>	3.25±0.71 <sup>a</sup>	3.38±0.52 <sup>ab</sup>	3.50±0.76 <sup>ab</sup>	3.43±0.73
M <sub>2</sub>	4.13±0.64 <sup>a</sup>	3.13±1.13 <sup>ab</sup>	2.88±1.25 <sup>a</sup>	3.63±0.52 <sup>ab</sup>	3.63±0.74 <sup>ab</sup>	3.40±0.85
M <sub>3</sub>	4.00±0.76 <sup>a</sup>	3.63±1.06 <sup>ab</sup>	3.25±1.16 <sup>a</sup>	3.25±1.28 <sup>ab</sup>	3.63±0.74 <sup>ab</sup>	3.55±1.00
M <sub>4</sub>	4.00±0.76 <sup>a</sup>	3.00±1.41 <sup>ab</sup>	3.38±1.51 <sup>a</sup>	4.13±0.83 <sup>b</sup>	3.75±0.71 <sup>ab</sup>	3.65±1.04
M <sub>5</sub>	4.13±0.35 <sup>a</sup>	2.88±1.13 <sup>ab</sup>	3.88±1.36 <sup>a</sup>	4.25±0.89 <sup>b</sup>	3.63±1.06 <sup>ab</sup>	3.75±0.90
M <sub>1</sub> +K <sub>1</sub>	3.75±0.71 <sup>a</sup>	3.00±1.07 <sup>ab</sup>	3.50±1.31 <sup>a</sup>	3.75±1.28 <sup>ab</sup>	3.63±0.91 <sup>ab</sup>	3.53±1.06
M <sub>2</sub> +K <sub>2</sub>	4.00±0.53 <sup>a</sup>	3.50±0.93 <sup>ab</sup>	3.88±1.13 <sup>a</sup>	3.63±1.30 <sup>ab</sup>	3.88±0.99 <sup>ab</sup>	3.75±0.98
M <sub>3</sub> +K <sub>3</sub>	3.88±0.99 <sup>a</sup>	3.75±1.39 <sup>ab</sup>	3.88±1.13 <sup>a</sup>	3.88±0.99 <sup>ab</sup>	4.00±1.07 <sup>ab</sup>	3.88±1.11
M <sub>4</sub> +K <sub>4</sub>	4.38±0.74 <sup>a</sup>	4.13±0.83 <sup>b</sup>	3.50±1.20 <sup>a</sup>	3.38±1.41 <sup>ab</sup>	4.13±0.99 <sup>b</sup>	3.90±1.03
M <sub>5</sub> +K <sub>5</sub>	4.25±0.89 <sup>a</sup>	4.00±0.93 <sup>ab</sup>	3.25±1.04 <sup>a</sup>	3.88±0.83 <sup>ab</sup>	3.75±0.89 <sup>ab</sup>	3.83±0.91

\*Aynı sütun içinde farklı harfle gösterilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ( $p < 0.05$ ).

\*There was a statistically significant difference between the values of different letters in the same column compared to Duncan multiple comparison test results ( $p < 0.05$ ).



Şekil 1. Kahvaltılık Zahter örneklerine ait duyu analizi sonuçları

Figure 1. Sensory analysis results of Breakfast Zahter samples

R: Renk (Color), K: Koku (Odour), L: Lezzet (Taste), Z: Zeytinyağı ve ekmek ile lezzet (Flavor with olive oil and bread), G: Genel kabul edilebilirlik (General acceptability), O: Ortalama puan (Average score)

Kahvaltılık Zahter örnekleri 1-5 puan arasında değerlendirilmeye tutulmuştur. Buna göre renk puanları 3.63-4.38, koku puanları 2.75-4.13, lezzet puanları 2.75-3.88, zeytinyağı ve ekmek ile lezzet puanları 2.63-4.25, genel beğeni puanları 3.00-4.13 ve ortalama puan değerleri ise 3.03-3.90 aralıklarında tespit edilmiştir.

Örneklerin duyu özelliklerine bakıldığında genel beğeni ve ortalama puan açısından M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub> en yüksek puanı alırken kontrol örneği en düşük puanı almıştır. Genel olarak bakıldığında tüm katkı örneklerde puanlar kontrole göre daha yüksek gözlemlenmiştir.

Kekik bitkisi, menengiç püresi ve Kahvaltılık Zahter örneklerinin kimyasal özelliklerine ait değerler Çizelge 4'te verilmiştir. Çizelge incelendiğinde katkı maddesi olarak kullanılan kekik bitkisinin kül (%9.47), karbonhidrat (%67.65) ve toplam fenolik (1300.77 mgGAE/100g) değerleri menengiç püresinden daha yüksek bulunurken diğer özellikler açısından menengiç püresi daha yüksek değerlere sahip olmuştur.

Yapılan bir çalışmada kekik bitkisinin ham lif değeri %28.10, yağ miktarı %0.67, protein miktarı

%11.22, kül miktarı %9.00 ve toplam fenolik madde miktarı 4710 mgGAE/100g olarak bulunmuştur (Ceylan ve Yücel, 2015). Başka bir çalışmada ise kekik bitkisinin antioksidan aktivite değeri (% inhibisyon) 60.80 olarak tespit edilmiştir (Ökmen vd., 2017). Diken (2009) yaptığı çalışmada kekik bitkisinde toplam fenolik madde içeriğini 1677 mgGAE/100g olarak belirlemiştir. Çalışmamızdaki değerlerde literatürdeki sonuçlarla benzerlik gösterenler olduğu gibi farklılık gösterenler de olmaktadır. Farklılıkların kekik bitkisinin yetiştirme koşullarının ve ekolojik şartlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Menengiç püresinin protein, yağ, kül, ham lif, enerji, antioksidan aktivite değerleri sırasıyla %12.35, %3.23, %11.24, %40.21, 576.09 kcal ve %94.04 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). Özcan (2004) tarafından yapılan çalışmada menengiç meyvesinde kül, protein ve yağ miktarları sırası ile %3.10, %9.67 ve %38.74 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar bu çalışmada bulunan sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Dalgıç (1990) tarafından Menengiç (*Pistacia terebinthus* L.) meyvesinde nem %7.20, protein %14.60, yağ %38.70 ve kül %2.5 olarak bulunmuştur. Dalgıç ve ark. (2011), tarafından farklı kavurma



sıcaklıklarının menengiç yağ kalitesi parametreleri üzerine yapmış oldukları çalışmalarında menengiç yağındaki toplam fenol miktarını 100°C'de 88.97 mgGAE/kg, 120°C'de 99.84 mgGAE/kg, 140°C'de 154.93 mgGAE/kg olarak belirlemiştir.

Kaya (2012)'nın menengiç tohumlarından yağ ekstraksiyonu şartlarının belirlenmesi adlı çalışmasında yapmış olduğu analiz sonuçlarına göre ham lif değeri (kavrulmamış menengiç meyvesinde) % 17.52 olarak bulunmuştur. Buna kıyasla çalışmamızda kullanılan menengicin lif oranının (% 11.24) düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun menengicin yetiştirme koşullarının ve ekolojik şartlarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4'ten görüleceği üzere protein, antioksidan aktivite ve fitik asit hariç M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub>

örneğinde tespit edilen kimyasal özelliklere ait değerler kontrol örneğinden yüksek bulunmuştur. M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub> örneğinde nem, kül, protein ve yağ değerleri sırasıyla %6.20, %6.41, %18.97 ve %15.73 bulunurken; antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde değerleri sırasıyla %93.67 ve 452.33 mgGAE/100g bulunmuştur. Uçan vd. (2014) yaptıkları çalışmalarında piyasadan topladıkları Kahvaltılık Zahter örneklerinde nem değerini %3.30-6.03, kül değerini %3.45-4.73, yağ değerini %6.23-15.27 ve protein değerini %14.84-19.51 aralıklarında tespit etmişlerdir. Bu değerlerle karşılaştırıldığında çalışmamızda belirlediğimiz sonuçların paralellik gösterdiği söylenebilir. Araştırmamızda bulunan toplam fenolik madde ve antioksidan değerlerinin de literatürle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (Erdoğan vd., 2012; Uçan vd., 2016).

Çizelge 4. Kekik, Menengiç ve Kahvaltılık Zahter [kontrol ve katkı olan (M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub>)]'e ait bazı kimyasal özellikler

Table 4. Some chemical properties of Thyme, Menengiç and Breakfast Zahter [control and doped (M<sub>4</sub> + K<sub>4</sub>)]

Özellikler <i>Properties</i>	Katkı Maddeleri <i>Additives</i>		Kahvaltılık Zahter <i>Breakfast Zahter</i>	
	Kekik <i>Thyme</i>	Menengiç Püresi <i>Menengic Paste</i>	Kontrol <i>Control</i>	M <sub>4</sub> +K <sub>4</sub> Örneği <i>M<sub>4</sub>+K<sub>4</sub> Sample</i>
Nem (%) <i>Moisture (%)</i>	12.10	2.30	5.90	6.20
Kül (%) <i>Ash (%)</i>	9.47	3.23	6.17	6.41
Protien (%) <i>Protein (%)</i>	8.71	12.35	20.51	18.97
Yağ (%) <i>Fat (%)</i>	2.42	40.21	14.26	15.73
Karbonhidrat (%) <i>Carbohydrate (%)</i>	67.65	41.20	53.16	54.61
Ham lif (%) <i>Crude fiber (%)</i>	31.40	11.24	12.41	13.02
Enerji (kcal) <i>Energy (kcal)</i>	327.22	576.09	423.02	435.89
DPPH % İnhibisyon Oranı <i>DPPH Inhibition Ratio %</i>	88.76	94.04	94.29	93.67
Fitikasit (mg/100g) <i>Phytic acid (mg/100g)</i>	712.93	722.85	1063.97	921.56
Toplam Fenolik Madde (mg GAE/100g) <i>Total Phenolic Content (mg/GAE/100g)</i>	1300.77	869.41	375.32	452.33

**SONUÇ**

Farklı tatlara ve özellikle geleneksel gıdalara olan ilgi son zamanlarda artış göstermektedir. Bu bağlamda, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yoğun bir şekilde tüketilen Kahvaltılık Zahterin de popüleritesi gün geçtikçe artmaktadır. Ağırlıklı olarak kahvaltıda tüketilen baharat ve kuruyemişlerin bir karışımı olan Kahvaltılık Zahterin içine giren baharat, yağlı tohum ve hububatların her birinin sağlık açısından yararlı işlevlerinin olması nedeniyle Kahvaltılık Zahter geleneksel ve fonksiyonel bir gıda sayılabilir. Bu nedenle tüketiminin yaygınlaştırılması ve diğer besin değerleri ile fonksiyonel özelliklerinin daha detaylı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

**KAYNAKLAR**

Altuğ, T. ve Elmacı, Y. (2011). *Gıdalarda Dnyusal Değerlendirme*. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, Türkiye, 133 s., ISBN: 9944566087.

Anonim, (2013). T.C. Millî Eğitim Bakanlığı, Gıda Teknolojisi, Gıdalarda Ham Lif Tayini, Ankara, 27s., [http://megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf](http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf) (Erişim tarihi: 12.12.2018)

Anonim, (2010). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. AACC Method 30-25.01. Approved Methods of Analyses 11th Edition, The Association: St. Paul, MN.

Anonim, (2002). International Association For Cereal Science And Technology. Printed by ICC-Vienna, Edition 2002.

Bayraktar, Ö.V., Öztürk, G., Arslan, D. (2017). Türkiye'de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Pazarlamasındaki Gelişmelerin Değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26 (2): 216–229.

Billing, J., Sherman, P.W. (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like It Hot., *The Quarterly Review of Biology*, 73(1): 3-49.

Ceylan, F., Yücel, E. (2015). Düzce ve Çevresinde Gıda Olarak Tüketilen Yabancı Bitkilerin Tüketim Biçimleri ve Besin Ögesi Değerleri. *AKÜ FEMÜBİD*, 15(031001): 1-17.

Dalgıç, L., Sermet, S.O., Özcan, G. (2011). Farklı Kavurma Sıcaklıklarının Menengiç Yağ Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, (93): 26-36.

Dalgıç, A.Ç. (1990). Pistacia Terebinthus Protein İzolesinin Fonksiyonel Özellikleri ve Nem Sorpsiyon İzotermleri. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gaziantep, Türkiye, 62 s.

Diken, M.E. (2009). Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye, 81 s.

Erdoğan. S.S., Demirci, M., Özdemir, Y., Öztürk, A. (2012). Kahvaltılık Zahterin Antioksidan Aktivitesi ile Toplam Fenolik Madde ve Flavonoid Miktarının Belirlenmesi. III. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 10-12 Mayıs 2012, Konya, Türkiye, s85-87.

Gutfinger, T. (1981). Polyphenols In Olive Oils, *Journal of American Oil Chemical Socation.*, (58): 966-968.

Haug, W., Lantzsch, H.J. (1983). Sensitive Method for The Rapid Determination of Phytate in Cereals and Cereal Products. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 1423–1426.

İzer, M. (1997). *Baharatın İzleri*. Redhouse Yayıncılık, 1. Baskı, ISBN:9758176045, 120s.

Kaya, F. (2012). Menengiç Tohumlarından Yağ Ekstraksiyonu Şartlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye, 111 s.

Köten, M., Ekici, H., Satouf, M. (2017). A Healing Plant "Menengic". I. International Congress on Medicinal and Aromatic Plants "Natural and Healthy Life". 10-12 Mayıs 2017, Konya, Türkiye, s1730.

Ökmen, G., Arslan, A., Vurkun, M., Mammadkhanli, M., Ceylan, O. (2017). Farklı Baharatların Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 15(1): 16-28.

- Özcan, M. (2004). Characteristics of fruit and oil of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. *Sci Food Agric.*, (84): 517-520.
- Özderin, S., Fakir, H., Dönmez, İ.E. (2014). Muğla-Ula Yöresinde Doğal Yayılış Yapan Bazı Kekik Türlerinin Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenlerinin Belirlenmesi. II. Ulusal Akdeniz Orman ve Çevre Sempozyumu, 22-24 Ekim 2014, Isparta, Türkiye, s96-103.
- Özgüven M., Sekin, S., Gürbüz, B., Şekeroğlu, N., Ayanoğlu, F., Erken, S. (2005). Tütün, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimi ve Ticareti. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005 2005, Ankara, Türkiye, s481-501.
- Satouf, M. (2018). "Özel görüşme". Akademisyen (55 yaşında), Kilis.
- Soner, O., Özçelikay, G., Asil, E. (2002). Baharat ve Geleneksel İlaçlardaki Yeri. *T Klin Tıp Etiği-Hukuku-Taribi*, (10): 39-43.
- Uçan, F., Mercimek Takcı, A.H., Şekeroğlu, N. (2016). Total Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of homemade and Industrial Samples of Breakfast Zahter, Herbal Mixture. *Akademik Gıda*, 14(13): 242-246.
- Uçan, F., Kulak, M., Çimen, G., Şekeroğlu, N. (2014). Kahvaltılık Zahterin Besin değeri Açısından Değerlendirilmesi. 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana, Türkiye, s682-693.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qlan, M. (2002). Free Radical Scavenging Properties of with Extracts. *J Agric Food Chem*, (50): 1619-1624.

## KEÇİ SÜTÜNDEN ÜRETİLMİŞ BEYAZ PEYNİRLERDE OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Zübeyde Öner\*, Ayşe Mine Sarıdağ

Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta/ Türkiye

Geliş / *Received*: 21.02.2019; Kabul / *Accepted*: 06.06.2019; Online baskı / *Published online*: 19.06.2019

Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2019). Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler. *GIDA* (2019) 44 (3): 523-533 doi:10.15237/gida.GD19048

Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2019). *The changes during maturation of the white cheese produced from goat milk. GIDA* (2019) 44 (3): 523-533 doi:10.15237/gida.GD19048

### ÖZ

Bu çalışmada; keçi sütü kullanılarak üretilmiş peynirlerin kimyasal, mikrobiyolojik özelliklerini belirlemenin yanı sıra proteoliz olayı sırasında oluşan peptitlerin antioksidan aktivitelerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; çiğ keçi sütünden geleneksel yöntemle beyaz peynir üretilmiştir. Peynirlerde 0, 3., 6, 9 ay, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Proteolitik değişimler protein, suda çözünen azot, %12 triklor asetik asit (TCA) de çözünen azot, %5 fosfotungustik asit (PTA) de çözünen azot, serbest aminoasit tayinleri ile belirlenmiştir. Olgunlaşma boyunca görülen proteolitik değişim ve peptit oluşumları RP-HPLC cihazı ile tespit edilmiştir. Peptit fraksiyonları toplanmış ve liyofilize edilmiştir. Elde edilen liyofilize fraksiyonların antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Keçi peynirinde antioksidan aktivite 29,34-55,12 mM Troloks/g bulunmuştur. Keçi peynir fraksiyonlarının liyofilize sonrası antioksidan aktiviteleri 6 ayda F3 fraksiyonunun da 112.13 mM Troloks/g, F4 fraksiyonunda 841.04 mM Troloks/g F5 fraksiyonunda ise 416.95 mM Troloks/g, 9 ayda ise F3 fraksiyonunda 895.44 mM Troloks/g, F4 de 841.14 mM Troloks/g, F6 da 595.88 mM Troloks/g bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Biyoaktif peptit, proteoliz, keçi peyniri

## THE CHANGES DURING MATURATION OF THE WHITE CHEESE PRODUCED FROM GOAT MILK

### ABSTRACT

In the main purpose of this study is to determine chemical and microbiological properties of cheese produced from goat milk, and to identify the antioxidant properties of peptides during proteolysis. For this aim; Cheese samples were produced from goat raw milk by traditional method. Chemical and microbiological properties of cheeses were determined 0th, 3rd, 6th, 9th months of ripening. To determine the level of proteolysis during ripening period of the cheeses, total protein, water soluble nitrogen, 12 % TCA soluble nitrogen 5% PTA soluble nitrogen, and total free amino acid analysis were carried out. The peptide profile of the cheese samples was determined by RP-HPLC during ripening period. Peptide fractions were collected and lyophilized. Antioxidant activity of the lyophilized fractions was determined. Antioxidant activity of goat cheese were found 29.34-55.12 mM Trolox/g. Antioxidant activity were found in the F3, F4, F5 fractions in 6 month 112.13mM Trolox/g, 841.04 mM Trolox/g, 416.95mM Troloks/g, and in the F3, F4, F6 fractions of 9.month 895.44 mM Trolox/g, 841.14 mM Trolox/g, 595.88 mM Trolox/g respectively.

**Keywords:** Bioactive peptides, proteolysis, goat cheese

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ zubeydeoner@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1596,

☎ (+90) 246 211 1538

## GİRİŞ

Birçok süt ürününün işlenmesine uygun olan keçi sütü, beslenme fizyolojisi açısından büyük öneme sahiptir. İçerdiği yüksek besin maddeleri nedeni ile dünyada özellikle Avrupa'da keçi sütüne verilen önem gün geçtikçe artmaktadır (Koyuncu vd., 2005). Ülkemizde de ulusal süt konseyi verilerine göre keçi varlığı %42 oranında artarak 10.3 milyon başa yükselmiştir (USK 2016 raporu). Keçi sütü sağlık üzerine olumlu etkiye sahip olmasından dolayı içme sütü teknolojisinin yanı sıra peynir, dondurma gibi süt ürünlerinin üretimi için aranan bir süt çeşididir. İçerdiği vitaminler (A ve B vitaminleri) ve mineral maddeler (kalsiyum, klor, fosfor, potasyum, magnezyum, selenyum) yanı sıra riboflavin, niasin, esansiyel yağ asidi, kısa ve orta zincirli yağ asitleri olan kaproik, kaprilik ve kaprik asit içermesi nedeni ile önemlidir. Yağ globül çaplarının küçük olması ve lipaz enziminin kısa ve orta zincirli yağ asitlerine kolay etki etmesinden dolayı keçi sütü ürünlerinin sindirimi daha kolay olmaktadır. Yüksek oranda azotlu bileşikler ve fosfat içermesi nedeni ile mide hastaları için önerilen bir gıdadır (Metin 2005, Önür 2015, Ünal vd. 2018).

Peynir ülkemizde en fazla tüketilen süt ürünlerinden birisidir. Ulusal süt konseyi verilerine göre (2016) peynir üretim miktarı 658 bin ton kadardır. Peynir çeşitleri arasında beyaz peynir ilk sırayı almaktadır. Peynirde tat ve aromanın oluşmasını sağlayan en karmaşık olay proteolizdir (McSweeney, 2004). Üretimden itibaren başlayan proteinlerdeki değişim olgunlaşma süresince devam eder ve çeşitli kazein fraksiyonları ortaya çıkar. Bunların yanı sıra serbest amino asit, tiol, amin ve çeşitli aroma bileşikleri meydana gelir. Bu bileşikler peynirde olgunlaşmaya neden olur (Fox, 2003). Olgunlaşmanın ileri aşamasında proteolitik değişimler peynirlerde acılaşıma ve bozulmalara neden olmaktadır. Doğal olgunlaşma sonucu peynirlerde biyopeptitler meydana gelir (Baptista vd., 2017; Lu vd., 2016; Pritchard vd., 2010). Proteoliz miktarı enzimatik aktiviteye, kültür tipine ve olgunlaşma süresine göre değişim gösterir bu durum biyoaktif peptit oluşumuna etki eder (Sieber vd., 2010; Corrons vd., 2017; Baptista vd., 2018). Protein oranı yüksek olan ürünlerde

biyoaktif peptitler yan etkisi olmayan alternatif ürün olarak karşımıza çıkmaktadır. Spesifik aminoasit dizilerine bağlı olarak oluşan sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle biyoaktif peptitlere karşı ilgi artmıştır (Egger ve Menard 2017; Rashidinejad vd., 2017; Ünal vd., 2018). Bu peptitlerin çoğu, ana proteinlerde inaktif halde bulunur ve gıda işleme, fermantasyon veya gastrointestinal sindirimi sırasında parçalanarak ortaya çıkar. Biyoaktif peptitler, çeşitli ürünlerden elde edilerek fonksiyonel gıdaların üretilmesinde kullanılmaktadır (Park vd., 2008). Bu amaçla farklı kaynaklardan ve farklı işlemler uygulanarak elde edilen peptitlerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi önemlidir (Park vd., 2007; Safitri vd., 2017; Santiago-López vd., 2018).

Biyoaktif peptitler, sindirim sistemindeki proteoliz sırasında oluşmalarının yanı sıra çeşitli süt ürünlerinin üretimi sırasında da ortaya çıkmaktadırlar. Bu çalışmada ülkemizde üretilen keçi peynirlerinde olgunlaşma sırasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin izlenmesinin yanı sıra proteolitik değişimler sonucu oluşan peptitlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL METOT

### Materyal

Isparta bölgesinde farklı üreticilerden sağlanan keçi sütünden geleneksel yöntemlerle keçi Beyaz peyniri üretilmiştir (Öner vd. 2006). Peynirler 3 tekerrür analizler 2 paralel yapılmıştır. Peynir örnekleri depolama süresince 4°C'de muhafaza edilmiş ve 0. (1. Gün), 3. 6. ve 9. aylarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

### Metot

#### Kimyasal analizler

Peynirde; toplam kuru madde IDF (2001), titrasyon asitliği (TS 591), yağ (ISO, 2008) ve tuz (IDF, 1988) miktarları belirlenmiştir. pH ölçümleri pH metre yardımıyla gerçekleştirilmiştir (IDF, 1989). Peynirde kuru madde gravimetrik yöntemle belirlenmiştir.

Peynirlerde toplam serbest amino asit miktarı, suda çözünen azot (SÇA), % 12'lik Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N), % 5

fosfotungstik asitte (FTA) çözünen azot, toplam serbest aminoasit miktarı belirlenmiştir (Polychroniadou vd., 1999; Folkertsma and Fox, 1992). Protein ve miktarı Suda Çözünen Azot (SÇA) oranı Kjeldahl Metodu ile saptanmıştır (IDF, 1993)

Olgunlaşma Değeri=% SÇA/% Toplam azot \*100

Toplam Serbest Aminoasit Miktarı Forkertsma ve Fox (1992) tarafından uygulandığı şekliyle yapılmıştır. Cd-ninhydrin reaktifi ile hazırlanan örneğin 507 nm'deki absorpsansı ile belirlenmiştir.

### Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizlerden koliform grubu, maya-küf, toplam mezofilik aerobik bakteri, laktik asit bakterinin sayımı gerçekleştirilmiştir. Koliform grubu mikroorganizmaların analizi için Eosin Metile Blue agar (EMB) küf sayımı için ise Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır. Toplam mezofilik aerobik bakteri Plate Count Agar (PCA), Enterokok sayımı için Aside Dekstroz Agar kullanılmıştır. Laktik asit bakterilerinin sayımı, M17 ve MRS agar besiyerlerinde yapılmıştır Stafilokoklar için Baird Parker Agar (BPA) besiyeri kullanılmıştır (de Man vd., 1960; Terzaghi ve Sandine, 1975; Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

### Biyoaktif peptitlerin eldesi

Biyoaktif peptitlerin eldesi için peynir örneklerinin hazırlanması Donkor vd., (2007) göre yapılmıştır.

### HPLC analizi

Peynirdeki suda çözünen peptitlerin analizinde ters faz Shimadzu LC-20 AT serisi HPLC, Zorbax 300 SB-C8 monomerik kolon (250 x 9,4 mm i.d., 6.5 µm partikül büyüklüğü, 300 Å por çapı, Agilent, Waldbronn, Almanya) kullanılmıştır. Örnekler 0.2g/5mL oranında, % 0.1 TFA içerisinde çözülmüş ve 0.45 µm çaplı filtreden geçirilerek HPLC kolonuna 750 µL enjekte edilmiştir. Çalışılan programda 3.dak B %10, 10dak %15, 20 dak %20, 80 dakikaya kadar B %44 kadar izokritik olarak artmış 85. dak B % 50 olmuştur.

### Peynir Fraksiyonlarının Antioksidan aktivite tayini

HPLC için hazırlanmış olan peynir örneklerinin ve HPLC'den elde edilen fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS metodu ile belirlenmiştir (Re vd., 1999; Cemeroglu, 2007).

### İstatistik Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS versiyon18 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Depolama süresince meydana gelen değişim Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem düzeyinde test edilmiştir.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Peynirlerde Meydana Gelen Kimyasal Değişimler

Peynirlerin % kuru madde değerleri olgunlaşma boyunca azalma göstermiştir (Çizelge 1). TGK Peynir Tebliğine göre beyaz peynirlerde kuru madde oranı %52.55 ile başlangıç aşamasında yarı sert peynir tipine uygun iken olgunlaşma sonucunda meydana gelen kuru maddedeki azalma nedeni ile yarı yumuşak peynir tipi için verilen değerlere (%38.43) düşmüştür. Gürsel vd. (2003), yaptıkları beyaz peynirde tam yağlı kontrol örneğinde kuru madde miktarını %46.95-38.78, az yağlı kontrol örneğinde ise % 41.51-33.90 olarak belirlemişlerdir. Gürsoy vd. (2001) ise olgunlaşmamış taze peynirde kuru madde oranını % 46.94 olduğunu olgunlaşma sonucunda bu değer % 39.05 e düştüğünü belirtmişlerdir.

Salum vd. (2018) piyasa taraması şeklinde yapmış oldukları farklı bölgelerdeki beyaz peynirlerdeki kuru madde oranlarının %50.0-54.6 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Beyaz peynir, salamurada olgunlaştırılan bir peynir türü olup depolama süresince peynir içine tuz difüzyonu ya da protein hidrolizatlarının salamuraya difüzyonu söz konusudur. Bu nedenle depolama süresince rutubet değeri değişim göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede olgunlaşma süresince meydana gelen değişimin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Feta peynirlerinde ve salamurada bekletilen beyaz peynirlerde olgunlaşmanın ileriki evrelerinde rutubet miktarının artması, peptit

bağlarının hidrolizi ve yeni iyonik grupların oluşması sonucu salamuradan peynir içine su difüze olmasından kaynaklanmaktadır (Sarantinopoulos vd., 2002).

Deneme peynirlerinin ortalama kuru madde üzerinden yağ değerlerine ait veriler Çizelge 1’de

verilmiştir. Üretilen peynirlerde bu değer 40.57-53.60 arasında değişmiştir. Başlangıç ve olgunlaşma süresince kuru maddelerdeki farklılıklar bu sonuçların oluşmasına neden olmuştur.

Çizelge 1. Peynirlerin kimyasal analiz sonuçları (n=3)  
Table 1. Chemical analysis results of cheeses (n=3)

Olgunlaşma süresi	Kuru Madde %	Asitlik (°SH)	Asitlik (pH)	Tuz/KM %	Yağ/KM %
<i>Ripening time</i>	<i>Dry matter (%)</i>	<i>Acidity (°SH)</i>	<i>Acidity (pH)</i>	<i>Salt/Dry matter %</i>	<i>Fat/Dry matter (%)</i>
0. Ay 0.month	52.55±2.9a	64.67±1.9c	5.62 ± 0.2a	3.7±0.3b	40.57
3. Ay 3.month	51.27±2.0a	75.00±1.7b	5.52 ± 0.2a	3.67±0.3b	44.08
6. Ay 6.month	42.44±0.6b	66.67±7.26c	5.11 ± 0.2b	10.70±0.8a	49.67
9. Ay 9.month	38.43±0.63c	81.83±4.5a	4.88±0.04c	10.85±0.62a	53.60

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir.  
The different letter in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

Peynirlerde oluşan asitlik mikroorganizmalar tarafından laktozun fermantasyonu ile meydana gelir. Çeşitli mikroorganizmalar laktik asidin yanı sıra asetik asit, formik asit, bütirik asit vb asitler üreterek titrasyon asitliğini artırırlar. Peynirlerde olgunlaşmaya bağlı olarak titrasyon asitliğinde artış görülür. Ancak Çizelge 1’de görüldüğü üzere keçi sütünden üretilen peynirlerde 64.67-81.83 SH arasında değişmiştir. İstenmeyen mikroorganizmaların üzerine laktik asit bakterilerinin inhibisyon etkisi göstermesi için salamura peynirlerde asit gelişimi çok önemlidir (Bintis ve Papademas 2002; Hayaloğlu vd., 2005). Çizelgeden görüldüğü üzere pH değeri depolama süresince değişim göstermiştir. Laktik asit bakterileri depolama süresince peynirde kalan laktozu laktik aside fermente ederek beyaz peynire özgü asidik tadın oluşmasına katkıda bulunur. Ancak çiğ süttten yapılan beyaz peynirlerde kontrollü fermantasyon sağlanamadığı için ortamdaki hakim flora değişkenlik göstermiştir. Olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde titrasyon asitliğinde meydana gelen dalgalanmalar, olgunlaşma sırasında proteolize bağlı olarak bazik

karakterdeki maddelerin ortamda oluşmasından ve kuru maddedeki değişimden kaynaklanmıştır. İstatistiksel değerlendirme sonucunda titrasyon asitliğindeki farklılığın üzerine olgunlaşma süresinin önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ).

Hayaloğlu vd. (2013) Saanen ırkı keçi sütü kullanarak klasik yöntemle ürettikleri keçi peynirinde kuru madde oranını % 37.56, yağ oranını % 16.18, tuz oranını % 4.43, protein oranını % 14.40, kül oranını % 3.80 değerlerinde bulmuşlardır. Tuz miktarı dışında belirlenen diğer bileşen oranları çalışmada belirlenen değerlerden düşük bulunmuştur.

Keçi sütünden üretilmiş olan peynirlerde protein değerleri % 16.3-7.95 arasında değişmiştir. Olgunlaşma indeksi başlangıç aşamasında % 13.28 iken 9.ayda bu değer % 61.87 ye ulaşmıştır (Çizelge 2). Depolama sürecinde metabolik aktiviteye bağlı olarak toplam protein oranı azalırken düşük molekül ağırlıklı azot fraksiyonunda artış meydana gelmiştir. Azot fraksiyonlarının bazıları salamuraya geçer ve

salamura ortamında çözünen azot fraksiyonlarının konsantrasyonunda artış meydana gelir (Hayaloğlu vd., 2002; Öner ve Sarıdağ 2018). Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolama boyunca suda çözünen azot fraksiyonları dengeye gelinceye kadar salamuraya geçer. Çiğ süttten üretilen peynirlerde zengin mikroorganizma içeriğine göre proteoliz oranı değişim

göstermektedir. Olgunlaşma indeksinin 9. ayda % 61.87 olması çiğ sütte bulunan mikrobiyal flora ve onların proteolitik aktivitesine bağlı olarak arttığını göstermiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda olgunlaşma süresince protein oranındaki değişimin önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 2. Peynirlerin protein ve proteoliz değerleri (n=3)  
Table 2. Protein and proteolysis values in cheeses (n=3)

Olg.süresi Rip. period	% Protein % Protein	%SCP WSP%	Oİ RI	%TCA-SN %TCA-SN	%PTA -SN %PTA-SN	FAA FAA
0.Ay 0.month	16.30±0.19 <sup>a</sup>	2.16±0.01 <sup>d</sup>	13.28	0.18±0.005 <sup>d</sup>	0.07±0.002 <sup>d</sup>	0.070
3. Ay 3.month	11.06±0.08 <sup>b</sup>	2.76±0.11 <sup>c</sup>	25.02	0.32±0.006 <sup>c</sup>	0.13±0.003 <sup>c</sup>	0.136
6. Ay 6.month	9.44±0.04 <sup>c</sup>	3.75±0.13 <sup>b</sup>	39.69	0.44 ±0.008 <sup>b</sup>	0.19±0.004 <sup>b</sup>	0.174
9. Ay 9.month	7.95±0.08 <sup>d</sup>	4.92±0.15 <sup>a</sup>	61.87	0.48±0.009 <sup>a</sup>	0.23±0.007 <sup>a</sup>	0.215

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir.

The different letter in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

SCP: Suda çözünen protein, Oİ: Olgunlaşma indeksi, %TCA-SN: %12 trikloroasetik asitte çözünen azot, PTA-SN: %5 fosfotungstik asitte çözünen azot, FAA: Serbest amino asit (mg Leu 100 g<sup>-1</sup>)

WSP: Water-soluble protein; RI: Ripening index, %TCA-SN: 12% trichloroacetic acid-soluble nitrogen, PTA-SN: 5% phosphotungstic acid-soluble nitrogen, FAA: free amino acid. (mg Leu 100 g<sup>-1</sup>)

% 12 TCA da çözünen azotlu madde miktarı olgunlaşma boyunca artmıştır (Çizelge 2). Bu artış peptitlerin oluşumunu göstermektedir. Suda çözünen azotlu maddelerden farkı peptit yapılarının daha küçük olmasından kaynaklanmaktadır (2-22 amino asitten oluşan peptitler). Peynir üretiminden hemen sonra  $\alpha_{s1}$ -kazeininin Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub> arasındaki peptit bağları hidrolize olur ve f1-23 ve f24-199 fraksiyonlarını oluşturur. Küçük zincir uzunluğuna sahip olan  $\alpha_{s1}$ -kazein (f-23) fraksiyonu, mikrobiyel proteinazlarca (Gln<sub>9</sub>-Gly<sub>10</sub> ve Gln<sub>13</sub>-Gln<sub>14</sub> arası peptit bağları) hızlı bir şekilde hidrolize edilerek serbest amino asitler ve küçük molekül ağırlıklı peptitleri oluşturur (Fox vd., 1996). Oluşan bu öğeler % 12 lik TCA'da çözünen ve proteolizin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Ardö ve Polychroniadou (1999), TCA da çözünen azotlu maddelerin 600-15000 Da arasındaki molekül ağırlığa sahip peptitlerden oluştuğu ve bu peptitlerin  $\alpha_{s1}$ -kazeinin hidroliz ürünleri olduğunu

bildirmiştir. TCA da çözünen madde azotlu madde bazında olgunlaşma indeksi ileri düzeyde proteoliz hakkında bilgi vermektedir. Olgunlaşma süresince peynirlerin % 12 TCA'da çözünen azot oranlarındaki artışın önemli olduğu saptanmıştır ( $P < 0.05$ ).

Peynirin % 5 PTA'da çözünen azot fraksiyonları 600-700 Dalton'dan küçük peptitler (di-, tri- ve tetra- peptitler) ile amino asitleri içerdiği belirtilmektedir. (McSweeney ve Fox, 1997). Peynirlerin fosfotungstik asitte çözünen azot oranları olgunlaşma süresince artış göstermiştir. %5 PTA ya göre belirlenen olgunlaşma değerinin zamana bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 2).

Proteinlerdeki toplam serbest amino asit miktarları, amino asitlerin fonksiyonel amino gruplarının kromofor bir madde ile boyanmasıyla belirlenmektedir. Serbest amino asitler ikincil



katabolik değişimlerde substrat olarak kullanılmakta ve daha küçük molekülle lezzet bileşenleri oluşmaktadır. Peynir çeşidi ve olgunlaşma koşullarına bağlı olarak konsantrasyonları değişebilmektedir. Ancak, peynirin kendisine özgü aromasının oluşumunda yüksek konsantrasyonda amino asit oluşumu gerekli olmasına rağmen, bu amino asitlerin ileri parçalanma ürünlerine kadar katabolize olması gerekmektedir (Avşar vd., 2011). Peynirlerin serbest amino asit miktarları Çizelge 2'de verilmiştir.

Depolama süresince peynirlerde meydana gelen proteoliz miktarına göre serbest amino asit oluşumunun artışı izlenmiştir. Birçok çalışmada

peynir olgunlaşması sırasında serbest amino asit miktarının artışı belirtilmiştir (Oneca vd.2007; Wishah 2007; Emirmustafaoglu ve Coşkun 2012).

### Keçi Beyaz Peynirlere Ait Mikrobiyal Analiz Sonuçları

Olgunlaşma boyunca mikroorganizma gelişimleri 3' er aylık periyotlarda izlenmiştir. Çizelge 3 ve 4'de olgunlaşma süresince keçi beyaz peynirlerin bakteri profillerindeki değişim görülmektedir. Laktik asit bakterileri (laktokok, laktobasil ve enterokok) peynirlerde dominant floradır. Olgunlaşmanın 1. gününde 6.88 log kob/g olan laktobasil sayısı olgunlaşma boyunca artış göstermiştir. Laktokok sayım sonuçlarında ise dalgalanma görülmüştür.

Çizelge 3. Peynirlerde mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)  
Table 3. Results of microbiological counts of cheeses (n=3) (log cfu/g)

Olgunlaşma süresi <i>Ripening period</i>	TMAB <i>TMAB</i>	Lc <i>Lc</i>	Lb <i>Lb</i>
0. Ay <i>0.month</i>	6.95±0.08b	7.39±0.28 a	6.88±0.31b
3. Ay <i>3.month</i>	7.00±0.23b	6.99±0.37b	6.72±0.27b
6. Ay <i>6.month</i>	7.69±0.15a	7.70± 0.27a	7.77±0.29a
9. Ay <i>9.month</i>	7.75±0.08a	7.37±0.10a	7.77±0.29a

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir.

*The different letter in the same column are significantly different from each other (P < 0.05).*

TMAB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri, Lb: Lactobacillus, Lc: Lactococcus

*TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria, Lb: Lactobacilli, Lc: Lactococci*

Hijyenik kalite kriterlerinden olan koliform bakteri, Stafilokok sayısı peynir üretiminin ilk gününden itibaren sayımlarda belirlenmiştir (Çizelge 4). Bu mikroorganizma gruplarının ortamda yüksek oranda bulunması üretimde çiğ süt kullanılmasından kaynaklanmıştır. Koliform, maya-küf, Stafilokok sayıları 9 ay boyunca tamamen ortamdaki kalkmamıştır. Bu durum ortamın asitlik değerinin aşırı yükselmemesinden kaynaklanmıştır. *E. coli* 6. aydan itibaren peynirde tespit edilmemiştir. Başlangıçta <10 olan enterokok sayısı 6. ayda 6.39 log kob/g 9. ayda ise 6.6 log kob/g ulaşmıştır. Geleneksel yöntemle çiğ süten üretilen beyaz peynire, çiğ süten, üretim aşamalarında ve sonrasında patojen bakteriler kontamine olmaktadır. Beyaz peynir üzerinde

yapılan çalışmalarda yüksek oranda enterokok, koliform ve *S.aureus* tespit edilmiştir. Araştırmacılar, olgunlaşma boyunca enterococci türü bakteri sayısının nispeten sabit kaldığını, koliform, Staphylococcus ve Micrococcus türü bakteri sayılarının ise azaldığını ve değişik faktörlere göre peynir mikroflorasının değişebildiğini belirtmişlerdir (Turantas vd. 1989; Karakuş ve Alperden 1995; Demirtaş ve Coşkun 2018).

### Keçi Peynirlerinin ve Fraksiyonlarının Antioksidan Aktiviteleri

Peynirlerin antioksidan aktivite tayini ABTS yöntemi ile yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 5'de verilmiştir. 9 aylık depolama süresince Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC)

değerlerindeki değişim önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Peynirlerin depolanması sırasında açığa çıkan peptit miktarına bağlı olarak antioksidan aktivitenin arttığı izlenmiştir. Antioksidan aktivite ile proteolitik aktivite karşılaştırıldığında liyofilize peynir örneklerinde proteolizin oluşum hızıyla antioksidan aktivitedeki değişimin benzer olduğu

ve aralarında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir. Laktik asit bakterilerinin antioksidan peptitlerin oluşturma çalışmalarında radikal giderme aktivitesinin suşa bağlı özellik olduğu ve bu durumun proteolizle ilişkili olduğu görülmektedir (Virtanen vd., 2007; Gupta et.al.2009).

Çizelge 4. Keçi beyaz peynirinde mikrobiyolojik analiz sonuçları (n=3) (log kob/g)

Table 4. Microbiological counts of cheeses (n=3) (log cfu/g)

Olgunlaşma süresi <i>Ripening period</i>	Staph. spp. <i>Staph. spp.</i>	Koliform <i>Coliform</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli</i>	Maya-küf <i>Yeast-Mould</i>	Enterokok <i>Enterococ</i>
0.Ay <i>0.month</i>	4.75±0.12 <sup>a</sup>	6.88±0.47 <sup>a</sup>	6.06±0.31 <sup>a</sup>	4.72±0.29 <sup>b</sup>	<10 <sup>b</sup>
3. Ay <i>3.month</i>	3.26±0.22 <sup>b</sup>	5.28±0.06 <sup>b</sup>	4.10±0.15 <sup>b</sup>	5.02±0.12 <sup>b</sup>	<10 <sup>b</sup>
6. Ay <i>6.month</i>	3.22±0.08 <sup>b</sup>	4.94±0.32 <sup>b</sup>	<10 <sup>c</sup>	4.96±0.73 <sup>b</sup>	6.39±0,41 <sup>a</sup>
9. Ay <i>9.month</i>	3.14±0.51 <sup>b</sup>	4.01±1.02 <sup>c</sup>	<10 <sup>c</sup>	6.06±0.65 <sup>a</sup>	6.6 ±0,26 <sup>a</sup>

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir.

The different letter in the same column are significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 5. Peynirlerin antioksidan aktivite değerleri (n=3)

Table 5. Antioxidant activity values of the cheeses (n=3)

Ay <i>Month</i>	mM Troloks/g <i>mM Troloks/g</i>
0	29.34
3	54.18
6	55.01
9	55.12

Öztürk ve Akın (2018) tarafından yapılan keçi sütünden üretilmiş tulum peynirinde antioksidan aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiş bu durumun keçi sütünde bulunan yüksek orandaki hidrofilik peptit varlığından kaynaklandığı belirtilmiştir. Aynı şekilde Mushtaq vd. (2015) yaptıkları çalışmada keçi sütünden üretilen peynirlerde DPPH inhibisyon oranının manda sütünden üretilen peynirlere göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Peynirlerin proteoliz olayını izlemek amacı ile yapılan kromotografik ayırmada 0, 3., 6. ve 9.ay peynirlerinin kromotogramlarına göre 10'ar

dakika ara ile peptit fraksiyonları, fraksiyon kolektör vasıtası ile toplanmış ve fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS yöntemi ile belirlenmiştir.

Toplanan fraksiyonların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için önce tüm fraksiyonlar liyofilize edilmeden ön deneme olarak % inhibisyon oranları belirlenmiştir. İnhibisyon oranı yüksek çıkan fraksiyonlar liyofilize edildikten sonra troloks eş değeri olarak hesaplanmaları yapılmıştır. Olgunlaşmanın 6. ve 9. ayındaki peynirlerde en yüksek antioksidan aktivite oranı gösteren fraksiyonlar Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktivite miktarı (n=3)

Table 6. Amount of antioxidant activity of the cheeses fractions (n=3)

6.ay <i>6.month</i>	mM Troloks/g	9.ay <i>9.month</i>	mM Troloks/g
5	416.951	6	595.887
4	841.040	4	841.148
3	1112.131	3	895.441

Çizelge 3 ve Çizelge 4’de görüldüğü üzere çiğ süten elde edilen peynirlerde bulunan mikrobiyolojik yük aylara göre farklılıklar göstermektedir. Mikroorganizma içeriğine bağlı olarak başlangıçta 10’dan daha az sayıda olan enterokok sayısında 6. ve 9 aylarda büyük artış izlenmiş sayım sonuçları ile antioksidan aktivite arasında korelasyon bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). ABTS radikal giderme aktivitenin proteolizin ilerlemesi ile artış gösterdiği ve genellikle fermantasyon süresince aktivitenin arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir Peptit profilleri karşılaştırıldığında 4-20 kDA arasındaki bileşenlerin ABTS analizinde daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Virtanen vd., 2007). Elde ettiğimiz sonuçları incelediğimizde (Çizelge 6) erken gelen fraksiyonların en fazla antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmektedir.

## SONUÇ

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan süt proteinleri son 20 yıl içinde yapılan çalışmalar sonucunda çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahip peptitlerin ortaya çıkmasıyla daha da önem kazanmıştır. Bu durum, sütün sadece bir gıda maddesi olarak değil, aynı zamanda biyoaktif bileşenlerin bir kaynağı olarak da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Peynirlerde oluşan biyoaktif peptitler süt ve ürünlerinde bulunan proteinlerin parçalanması ile ortaya çıkmaktadır. Zengin bir peynir çeşitliliğine sahip ülkemizde en çok tüketilen peynirlerde bulunan peptitlerin özelliklerinin belirlenmesi önemlidir. Çalışma sonucunda peynir örneklerinde hidrofilik ve hidrofobik bölgede görülen piklerin fraksiyon kollaktörle toplanması sonucu fraksiyonların değişik antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu peptitlerin fonksiyonel ürün üretimi için kullanılması için öncelikle sentezinin yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

Anonymous (2015). Türk gıda kodeksi. Peynir tebliği (2015/6). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonymous (1989). T.S.E. Beyaz peynir standardı (TS 591), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Ardö, Y., Polychroniadou, A. (1999). Nitrogen Fractionation. *Laboratory Manual For Chemical Analysis Of Cheese*. Publication Office of the European Communities, Luxemburg, pp: 31-40.

Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Hayaloğlu, A.A., (2011). *Peynirde Aroma, Peynir Biliminin Temelleri*, SİDAS Medya Ltd.Şti., İzmir, 263-301.

Baptista, D. P., Araújo, F. D. S., Eberlin, M. N., Gigante, M. L. (2017). A survey of the peptite profile in Prato cheese as measured by MALDI-MS and capillary electrophoresis. *J Food Sci*, 82: 386-393.

Baptista, D.P., Galli, B. D., Cavalheiro, F.G., Negrao, F., Eberlin, M.N., Gigante, M.L. (2018). *Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptite during Prato cheese ripening. *Int Dairy J*, 87: 75-83.

Bintis, T., Papademas, P. (2002). Microbiological quality of white brined cheeses: A review. *Int J Dairy Tech*, 55: 113–120.

Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34. 535 s. Ankara.

Corrons, M. A., Liggieri, C. S., Trejo, S. A., Bruno, M. A. (2017). ACE inhibitory peptides from bovine caseins released with peptitases from *Maclura pomifera* latex. *Food Res Int*, 93: 8–15.

De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). Medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl Bacteriol*, 23: 130-138.

Demirtaş, M., Coşkun, H. (2018) Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değişimler. *GIDA*, 43 (5): 835-845. doi: 10.15237/gida.GD18073

Donkor, O.N., Henriksson, A., Singh, T.K., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007). ACE inhibitory activity of probiotic yoghurt. *Int Dairy J*, 17: 1321-1331.

Egger, L., Menard, O. (2017). Update on bioactive peptides after milk and cheese digestion. *Curr opin in Food Sci*, 14: 116-121.

Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2012) Keçi sütü, inek sütü ve bu sütlerin karışımından yapılan

- otlu peynirlerde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA* 37 (4): 211-218
- Folkertsma, B. and Fox, P.F. (1992). Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *J Dairy Res*, 59: 217–224.
- Fox P.F. (2003). Exogenous Enzymes in Dairy Technology. *Handbook of Food Enzymology*. Whitaker J.R., Voragen A.G.J., Wong D.W.S. ve Marcel Dekker, Inc.ISBN:0-8247-0686-2, P: 1108.
- Fox, P.F., O’connor, T.P., Mcsweeney P.L.H., Guinee, T.P., O’Brien, N. M. (1996). Cheese: Physical, chemical, biochemical and nutritional aspects. *Adv Food Nutr Res*, 39: 163-328.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R., Sangwan, R.B. (2009). Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *Int J Dairy Technol*, 62 (3):339-347.
- Gürsel, A., Gürsoy, A., Şenel, E., Deveci, O., Karademir, E. (2003). The use of freze shocked lactic starters in low-fat White pickled cheese. *Milchwissenschaft*, 58(5/6):279-282.
- Gürsoy, A., Gürsel, A., Şenel, E., Deveci, O., Karademir, E. (2001). Yağ içeriği azaltılmış Beyaz peynir üretiminde ısı işlem uygulanan *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* kültürlerinin kullanımı. GAP II. Tarım Kongresi, 24–26 Ekim, Şanlıurfa, Türkiye (pp. 269–278).
- Hayaloglu, A.A., Tolu, C., Yasar, K. (2013). Influence of Goat Breeds and Starter Culture Systems on Gross Composition and Proteolysis in Gokceada Goat Cheese During Ripening. *Small Ruminant Res*, 113: 231– 238.
- Hayaloğlu, A.A., Güven M., Fox, P.F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White Cheese Beyaz Peynir. *Int Dairy J*, 12: 635-648.
- Hayaloğlu, A.A., Güven, M., Fox, P F. McSweeney P.L.H. (2005). Influence of Starters on Chemical, Biochemical, and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese During Ripening. *J Dairy Sci*, 88: 3460–3474.
- IDF (1988). Determination of salt content, IDF Standard 12 B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (1989). Milk Fat Products and Butter. Determination of Fat Acidity. IDF Standard 6B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (1993). Milk. Determination of the Nitrogen (Kjeldahl Method)and Calculation of the Crude Protein Content. IDF Standard 20B,Brussels: International Dairy Federation.
- IDF (2001). Reference analysis for total solids (AOAC Ovendried method), IDF 20 1- 2. Brussels: International Dairy Federation.
- ISO (2008). Cheese-Determination of fat content-Butyrometer for Van Gulik method ISO3432:2008, International Organization for Standardization.
- Karakuş, M., Alperden, İ. (1995). Effect of starter composed of various species of lactic bacteria on quality and ripening of Turkish White pickled cheese. *Lebensm-Wiss Tech*, 28: 404-409.
- Koyuncu, M., Uzun, K.Ş., Tuncel, E. (2005). Güney Marmara Bölgesi Keçicilik İşletmelerinin Genel Durumu ve Verim Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. I. Keçicilik İşletmelerinin Genel Durumu. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (4): 373-378.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*, 11: 1-17.
- Lu, Y., Govindasamy-Lucey, S., Lucey, J.A. (2016). Angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory peptides in commercial Wisconsin Cheddar cheeses of different ages. *J Dairy Sci*, 99: 41-52.
- Mc Sweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of Cheese Ripening. *Int J Dairy Tech*, 57: 127-144.
- Mc Sweeney, P.L.H., Fox, P.F. (1997). Chemical Methods for the Characterisation of Proteolysis in Cheese During Ripening. *Lait*, 77: 41–76.
- Mc Sweeney, P.L.H., Fox, P.F., Lucey J.A., Jordan, K N., Cogan, T.M. (1993). Contribution

- of the indigenous Microflora to the Maturation of Cheddar Cheese. *Int Dairy J*, 3: 613-634.
- Metin M. 2005 (). *Süt Teknolojisi-Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 6. Baskı, İzmir, s:802.
- Mushtaq, M., Gani, A., Shetty, P.H., Masoodi, F., Ahmad, M. (2015). Himalayan cheese (Kalari/kradi): effect of different storage temperatures on its physicochemical, microbiological and antioxidant properties. *Lebensmittel-Wissenschaft (LWT) Food Sci and Tech*, 63(2): 837-845. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.054>.
- Oneca, M., Ortigosa, M., Irigoyen, A., Torre, P. 2007 (). Proteolytic activity of some *Lactobacillus paracasei* strains in a model ovine milk curd system: Determination of free amino acids by RP\_HPLC. *Food Chem*, 100: 1602-1610.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aloğlu, H. (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft (LWT) Food Sci and Tech*, 39: 449-454.
- Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2018). Proteolysis in the Beyaz (White) Cheese Produced From Various Milk. *J Agric Sci*, 24 (2): 269-277.
- Önür, Y.Z. (2015) Keçi ve Koyun Sütlerinin Kimyasal Bileşimleri. *GIDA* 40: 363-370 doi: 10.15237/gida.GD15026
- Öztürk H.I., Akın, N. (2018). Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening. *Food Sci Tech, Campinas*, 38(4): 674-682. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11917>
- Park, E. Y., Morimae, M., Matsumura, Y., Nakamura, Y., and Sato, K. (2008). Antioxidant activity of some protein hydrolysates and their fractions with different isoelectric points. *J Agric Food Chem*, 56 (19): 9246-9251.
- Park, Y.W., Juárez, .M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res*, 68: 88-113.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N. (1999). Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acidsoluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9: 559-568.
- Pritchard, S. R., Philipps, M., Kailasapathy, K. (2010). Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Res Int*, 43: 1545-1548.
- Rashidinejad, A., Bremer, P., Birch, J., Oey, I. (2017). Nutrients in Cheese and Their Effect on Health and Disease. *Nutrients in Dairy and Their Implications on Health and Disease*. 177-192.
- 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 Radic Biol Med*, 26 (9/10): 1231-1237.
- Safitri, N.M., Herawati, E.Y., Hsu, J.L. (2017). Antioxidant Activity of Purified Active Peptide Derived from *Spirulina platensis* Enzymatic Hydrolysates. *Research J of Life Sci*, 4(2): 119-128.
- Salum, P., Govce, G., Kendirci, P., Bas, D., Erbay, Z. (2018). Composition, proteolysis, lipolysis, volatile compound profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey. *Int Dairy J*, 87: 26-36.
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J.E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova A.F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *J Dairy Sci*, 3742-3757.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G. , Tsakalidou, E. (2002). Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese, *Int J Food Microbiol*, 76: 93-105.
- Sieber, R., Bütikofer, U., Egger, C., Portman, R., Walther, B., Wechsler, D. (2010). ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties. *Dairy Sci and Tech*, 90: 47-73.

Terzaghi, B.E., Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactic Streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29(6): 807–813.

Turantaş, F., Ünlütürk, A., Gökta, D. (1989). Microbiological and compositional status of Turkish White cheese. *Int J Food Microbiol*, 8: 19-24.

USK (Ulusal Süt Konseyi), (2016). *Dünya ve Türkiye'de Süt Sektör İstatistikleri*, <http://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/2016-sut-raporu.pdf>

Ünal, M.Ü., Şener, A., Cemek, K. (2018). Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri. *Gıda*, 43 (6): 930-942.

Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen S., Korhonen, H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria, *J Appl Microbiol*, 102: 106-115.

Wishah, R. (2007). Utilization of some adjunct bacteri strains in cheese production in addition to starter culture and their effects on the cheese properties. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi. Ankara. Türkiye. 101 s.

**PROSES PARAMETRELERİ VE ÇÖZELTİ ÖZELLİKLERİNİN KOAKSİYAL ELEKTROPÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN NANOPARTİKÜLLERİN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Elif Atay, Aylin Altan\***

Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mersin, Türkiye

Geliş / Received: 22.02.2019; Kabul / Accepted: 07.05.2019; Online baskı / Published online: 19.06.2019

Atay, E., Altan, A. (2019). Proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin koaksiyal elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen nanopartiküllerin morfolojik özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (3): 534-551 doi: 10.15237/gida.GD19050

Atay, E., Altan, A. (2019). The effect of process parameters and solution properties on morphological characteristics of nanoparticles obtained by coaxial electrospraying. *GIDA* (2019) 44 (3): 534-551 doi: 10.15237/gida.GD19050

**ÖZ**

Elektropüskürtme yöntemi, gıda uygulamaları için nano ölçekli partiküllerin üretilmesini sağlayan bir enkapsülasyon yöntemidir. Proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin değiştirilmesiyle farklı morfolojilere sahip nanopartiküller elde edilebilmektedir. Bu çalışmada, çörek otu yağı koaksiyal elektropüskürtme yöntemi kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Proses parametreleri (kabuk çözelti akış hızı, uygulanan voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe) ile çözelti özelliklerinin (çözgen, kabuk ve çekirdek çözelti konsantrasyonu, yüzey aktif madde) elde edilen partiküllerin morfolojik yapıları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, kabuk çözelti konsantrasyonu, uygulanan voltaj ve iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe değişimlerinin partikül morfolojisi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Nanopartiküller, zein konsantrasyonu %17.5 (a/h)'dan %21 (a/h)'e arttırıldığında küreselliğini kaybetmiştir. İğne ile toplayıcı arasındaki mesafenin 10 cm'den 13.5 cm'e ve uygulanan voltajın 14 kV'dan 15 kV'a artması küresel ve homojen partiküllerin üretilmesini sağlamıştır. Koaksiyal elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen partiküllerin çekirdek-kabuk yapısı konfokal mikroskop görüntüsü ile doğrulanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Koaksiyal elektropüskürtme yöntemi, nanopartikül, morfoloji, zein, çörek otu yağı.

**THE EFFECT OF PROCESS PARAMETERS AND SOLUTION PROPERTIES ON MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NANOPARTICLES OBTAINED BY COAXIAL ELECTROSPRAYING**

**ABSTRACT**

Electrospraying method is an encapsulation method that allows to produce nanoscale particles for food applications. Nanoparticles with different morphologies can be obtained by changing process parameters and solution properties. In this study, black seed oil was encapsulated using coaxial electrospraying method. The aim of this study was to determine the effects of process parameters (flow rate of shell solution, voltage, distance between the spinneret tip and the collector) and solution properties (solvent type, polymer concentration of shell and core solution, surfactant) on morphological properties of zein-black seed oil nanoparticles. The results showed that the change in the concentration of shell solution, the applied voltage and the distance between the needle and the collector had a significant effect on the particle morphology. Nanoparticles lost their sphericity when the zein concentration was increased from 17.5% to 21% (w/v). The increase in distance between the needle and the collector and the applied voltage resulted in the production of spherical and homogeneous particles. The core-shell structure of the particles obtained by the coaxial electrospraying method was confirmed by the confocal microscope image.

**Keywords:** Coaxial electrospraying, nanoparticle, morphology, zein, black seed oil.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ aaltan@mersin.edu.tr,

☎ (+90) 324 361 0001

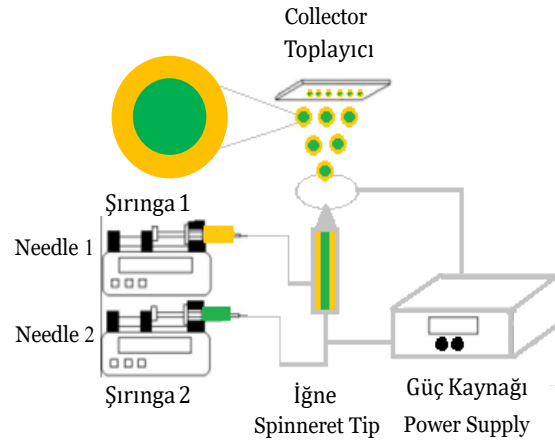
☎ (+90) 324 361 0032

## GİRİŞ

Enkapsülasyon, aktif bir maddenin veya karışımın başka bir madde veya sistem ile kaplanması veya hapsedilmesi olarak tanımlanmaktadır (Sakin vd., 2010). Mikro/nano enkapsülasyon sayesinde belirlenen aktif bileşenin korunması, stabilizasyonu, kontrollü salımı sağlanmakta ve aktif madde istenilen zamanda faaliyet göstermektedir. Nanoenkapsülasyon 100 nm ve daha küçük biyolojik ve biyolojik olmayan yapıların enkapsüle edilmesidir. Bu ölçekteki yapıların benzersiz ve yeni fonksiyonel özelliklere sahip olduğunun belirlenmesi nanoteknolojiye gösterilen ilginin ve bu alanda yapılan çalışmaların artmasını sağlamıştır (Weiss vd., 2006).

Enkapsülasyon tekniği olarak kullanılan yöntemlerden bazıları püskürtmeli kurutma, emülsiyon-çapraz bağlama ya da koaservasyondur (López-Rubio ve Lagaron, 2012). Fakat kullanılan bu yöntemler ucuz olmalarına rağmen, yüksek sıcaklık ve kullanılan organik maddelerin hazırlama aşamasında enkapsüle edilmiş hassas bileşiğe zarar vermesi gibi dezavantajlara sahiptirler. Nanoenkapsülasyon için birçok farklı yöntem olmasına rağmen elektrohidro dinamik prosesler basit, kurulumu ucuz ve etkili yöntemlerdir. Elektrohidro dinamik proseslerden elektroçirime ve elektropüskürtme yöntemleri kardeş teknolojiler olarak bilinmektedir. Elektroçirime ve elektropüskürtme yöntemleri arasındaki fark kullanılan polimer çözeltisinin viskozitesi ve konsantrasyonuna dayanmaktadır. Elektropüskürtme yöntemi ile mikron, mikron altı ve nano seviyede partiküllerin ısı ileme tabi tutulmadan üretilmesi mümkündür (Drosou vd., 2017). Koaksiyal elektropüskürtme yöntemi ile yapılan enkapsülasyon sayesinde üretilen partiküllerin çekirdek kısmındaki aktif bileşenlerin kontrollü bir şekilde salımı sağlanarak fonksiyonelliği artırılabilir (Kriegel vd., 2008). Elektropüskürtme tekniğinde göze çarpan en önemli özellik nanopartiküllerde yüksek enkapsülasyon verimi ve üretimin tek basamakta gerçekleşebilmesidir. Elektropüskürtme yöntemi elektriksel kuvvetler aracılığıyla sıvıların atomizasyonunun gerçekleştirildiği bir yöntemdir. Bu yöntemde, yüksek elektrik potansiyeli altında tutulan kapiler püskürtücüden dışarıya akan

sıvının elektrik alan tarafından itilerek çok ince damlacıklar halinde dağılması sağlanmaktadır. Voltaj uygulandığında püskürtücü ucundaki yarıküre şeklindeki sıvı koni şeklini almaktadır. Voltajın artırılmasıyla oluşan koni destabilize olmakta ve elektrik alan maksimum olduğunda sıvının yüklü damlacıklar halinde dağılması sağlanmaktadır (Bhushani ve Anandharamkrishnan, 2014). Koaksiyal elektropüskürtme prosesi Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Elektropüskürtme düzeneği  
Figure 1. Electro-spraying system

Elektropüskürtme yönteminde çözelti özellikleri ve proses değişkenleri nanopartiküllerin özelliklerini ve morfolojilerini etkileyen önemli parametrelerdir. Çözelti özelliklerinden polimer konsantrasyonu, molekül ağırlığı, viskozite, yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenlik; proses parametrelerinden uygulanan voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe, kullanılan çözeltinin akış hızı ve basınç, ortam parametrelerinden ise sıcaklık ve bağıl nem sistem koşullarını ve materyalin karakteristik özelliklerini etkilemektedir (Drosou vd., 2017).

Bu çalışma kapsamında zein proteini ile elektropüskürtme yöntemi kullanılarak çörek otu yağının enkapsülasyonu yapılmıştır. Mısırdan üretilen doğal bir polimer olan zein enkapsülasyon uygulaması için yüksek bir potansiyele sahiptir (Süngüç, 2013). Sentetik polimerin aksine son ürün açısından toksikliği düşük olduğu için avantajlıdır ve bu çalışma için tercih edilmiştir.



Çörek otu *Nigella sativa* ailesinden gelen, antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip “nimetler tohumu” olarak adlandırılan, Türkiye’de yetiştirilen önemli bitki türlerinden biridir (Nabil Mohammed vd., 2014). Çörek otu yağı doymamış yağ asitlerince zengin ve antioksidan özellik gösteren birçok bileşiği bünyesinde bulunduran bir yağdır. Çörek otuna olan ilgi geçmişte başlayıp, günümüzde artarak devam etmektedir. Çörek otu yağı hakkında günümüze kadar yapılan çalışmalara göre çörek otu yağının besleyici ve aroma yönünden zengin özelliğinin yanısıra antibakteriyel, antifungal koruyucu özellikleri nedeniyle gıda sanayinde kullanılabilir çok önemli bir gıda olduğu belirlenmiştir (Bulca, 2014). Çörek otu tek başına çok fazla tüketilebilen bir gıda maddesi değildir. Ülkemizde çörek otu ekmek, çörek ve bazı peynir çeşitlerinde çeşni maddesi olarak kullanılmakta ve bunların dışında halk arasında ezilip bal ile karıştırılarak yaygın olmasa da tüketilmektedir. Şifa kaynağı çörek otu yağının enkapsüle edilmesiyle birçok gıda formülasyonunda yer alması ve tüketiminin artırılması sağlanabilir.

Bu çalışmanın amacı, koaksiyal elektropüskürtme yöntemi kullanılarak çörek otu yağının enkapsüle edilmesi ve proses parametreleri (kabuk çözelti akış hızı, uygulanan voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe) ile çözelti özelliklerinin (çözgen, kabuk ve çekirdek çözelti konsantrasyonu, yüzey aktif madde) üretilen nanopartiküllerin morfolojileri üzerine etkilerinin incelenmesidir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Nanopartikül yapısını elde etmek için kullanılan zein (Z3625), Tween 80 ve etanol Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); glasiyal asetik asit ise Carlo Erba (Rodano, İtalya) firmasından satın alınmıştır. Çekirdek çözeltisi olarak kullanılan çörek otu yağı, Çakıroğlu firmasından (Çakıroğlu Uçucu Yağ San. Tic. Ltd. Şti., Mersin) temin edilmiştir.

### Çözeltilerin Hazırlanması

Elektropüskürtme yönteminde kabuk çözeltisi için polimer olarak zein, çekirdek çözeltisi için çörek otu yağı, çözgen olarak ise glasiyal asetik asit

ve etanol (h/h) kullanılmıştır. Kabuk çözelti konsantrasyonu %6-21 (a/h) arasında belirlenmiştir. Çekirdek çözeltisinde zein konsantrasyonu %10 (a/h) olarak sabit tutulmuş ve %30-100 (h/h) oranında çörek otu yağı ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan kabuk ve çekirdek çözeltilerine yüzey aktif maddenin etkisinin belirlenmesi için %5 (h/h) oranında Tween 80 eklenmiştir (Pérez-Masiá vd., 2014).

### Çözeltilerin Elektrik İletkenliğinin Belirlenmesi

Homojen ve küresel partiküllerin elde edildiği farklı konsantrasyonlardaki (%15-17.5, a/h) zein çözeltileri eşit oranda (h/h) etanol ve asetik asit çözgenleri kullanılarak hazırlanmış ve %5 (h/h) oranında yüzey aktif madde eklenmiştir. Yüzey aktif madde eklenmiş ve eklenmemiş zein çözeltilerinin elektrik iletkenliği iletkenlik ölçüm cihazı (CD-2005, Selecta, Spain) kullanılarak oda sıcaklığında belirlenmiştir. Analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

### Yöntem

#### Elektropüskürtme Yöntemi

Çörek otu yağının enkapsülasyonu koaksiyal elektropüskürtme cihazı (NE 100, Inovenso, Türkiye) ile yapılmıştır. Koaksiyal elektropüskürtme cihazı iki şırınga pompası (NE-300, New Era Pump Systems Inc., USA), toplayıcı ve güç kaynağından oluşmaktadır. Çift iğneli sistemde kabuk çözeltisinin geçtiği iğnenin çapı 1.2 mm, çekirdek çözeltisinin geçtiği iğnenin çapı ise 0.8 mm’dir. Üretilen nanopartiküller alüminyum folyo üzerine toplanmıştır. Elektropüskürtme işlemi oda koşullarında gerçekleştirilmiştir.

#### Deney Tasarımı

Nanopartiküllerin elde edilmesinde kullanılan kabuk çözelti konsantrasyonu %6-21 (a/h), çekirdek çözelti konsantrasyonu %30-90 (h/h), çözgen oranı %25-98 (h/h) asetik asit ve %2-75 (h/h) etanol, kabuk çözelti akış hızı 0.8-1.2 mL/sa, uygulanan voltaj 14 ve 15 kV, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ise 10 ve 13.5 cm olarak belirlenmiştir. Optimum kabuk çözelti konsantrasyonunun belirlenmesi için %6, 8, 10, 15, 17.5 ve 21 (a/h) zein konsantrasyonlarında

## Çekirdek-kabuk yapıları nanopartiküllerin morfolojik özellikleri

deneyler yapılmıştır. Çözgenlerin oranının belirlenmesi amacıyla, farklı oranlarda asetik asit:etanol (98:2, 50:50, 75:25, 25:75) karışımı çalışılmıştır. Çözgen oranı ve kabuk çözelti konsantrasyonu belirlendikten sonra iğne ile toplayıcı arasındaki mesafenin belirlenmesi için iki farklı noktada (10 ve 13.5 cm) denemeler yapılmıştır. Çekirdek konsantrasyonunun

belirlenmesi için %30, 50, 60 ve 90 olmak üzere farklı çekirdek konsantrasyonları denenmiştir. Uygulanacak voltajın belirlenmesi için 14 ve 15 kV'larda üretimler yapılmıştır. Uygulanacak voltaj belirlendikten sonra kabuk çözelti akış hızına karar verilmesi için farklı (0.8, 1 ve 1.2 mL/sa) akış hızları çalışılmıştır. Deney tasarımı detaylı olarak Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Deney tasarımı  
Table 1. Experimental design

Kabuk konsantrasyonu (% zein) <i>Concentration of shell (% zein)</i>	Çekirdek konsantrasyonu (% ÇOY) <i>Concentration of core (% BSO)</i>	Kabuk akış hızı (mL/sa) <i>Flow rate of shell (mL/h)</i>	Mesafe (cm) <i>Distance (cm)</i>	Voltaj (kV) <i>Voltage (kV)</i>	Kabuk çözeltisi çözgeni (AA: EtOH) <i>Solvent of shell solution (AA: EtOH)</i>
6	100	2.5	13.5	14	100:0
8					
10					
15					
17.5					
21					
17.5	100	2.5	13.5	14	98:2 50:50 75:25 25:75
17.5	100	2.5	13.5 10	14	50:50
17.5	30 50 60 90	2.5	13.5	14	50:50
17.5	50	2.5	13.5	14 15	50:50
17.5	50	0.8 1 1.2	13.5	14	50:50

ÇOY, BSO, Çörek otu yağı (%); AA, asetik asit; EtOH, etanol

### Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskopu (FE-SEM)

Elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen nanopartiküllerin morfolojik yapılarını analiz etmek için alan emisyonlu taramalı elektron mikroskopu (FE-SEM) (Supra 55, Zeiss, Germany) kullanılmıştır. Küçük parçalar halinde numune tutucusu üzerine yerleştirilen numuneler

platin kaplama işleminin ardından taramalı elektron mikroskopunda görüntülenmiştir. Nanopartiküllerin çapları Image J (Image J, NIMH, Maryland, USA) görüntü analiz programı kullanılarak hesaplanmıştır. Her bir görüntüde 100 farklı ölçüm yapılarak ortalama nanopartikül çapı hesaplanmıştır. Daha sonra partiküllerin görüntüleri aynı görüntü analiz programı

kullanılarak işlenmiştir. Bu programda eşik değeri filtresi uygulanarak görüntülerin kontrast ayarı yapılmıştır. Kontrast ayarı yapıldıktan sonra nanopartiküller analiz edilerek partikül çaplarının  $d_{\min}$  ve  $d_{\max}$  değerleri belirlenmiştir (Mazzoli ve Favoni, 2012). Belirlenen  $d_{\min}$  ve  $d_{\max}$  değerleri kullanılarak partiküllerin küresellik faktörü (SF) Eşitlik 1 ile hesaplanmıştır (Davarcı, 2012). Eşitlik 1'e göre hesaplanan küresellik faktörünün 0.05 değerinden küçük olması durumunda partikül küresel olarak kabul edilmektedir. Nanopartiküllerin çap ve küresellik dağılım histogram grafikleri Sigma Plot programı (Sigma Plot, 12.0, USA) kullanılarak çizilmiştir.

$$\text{Küresellik Faktörü (SF)} = \frac{d_{\max} - d_{\min}}{d_{\max} + d_{\min}} \quad (1)$$

Burada  $d_{\max}$ : maksimum çap (nm),  $d_{\min}$ : minimum çap (nm)'dir.

#### Lazer Taramalı Konfokal Mikroskopu

Elde edilen nanopartiküllerin morfolojik özellikleri incelendiğinde homojen ve küresel morfolojiye sahip olan bir örnekte enkapsülasyonun görüntülenmesi için lazer taramalı konfokal mikroskop (Zeiss LSM 700, Germany) kullanılmıştır. Nanopartiküller lam üzerine toplanmıştır. Kabuk çözeltisinde kullanılan zein polimerinin floresan özelliğinden faydalanılarak konfokal mikroskopta 488-553 nm dalga boylarında görüntüleme yapılmıştır.

#### SONUÇ VE TARTIŞMA

Elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen partiküllerin morfolojik özellikleri enkapsüle edilmiş aktif bileşiğin korunması açısından önemlidir. Elde edilen partiküllerin boyutu, şekli ve morfolojisi enkapsüle edilen aktif bileşiğin salım kinetiğini etkilemektedir. Küresel şekle sahip partiküllerde, küresel olmayan partiküllere göre kontrollü salım gerçekleştiği için aktif bileşenin daha uzun süre kararlı bir şekilde depolanabildiği belirlenmiştir (Drosou vd., 2017). Elektropüskürtme yönteminde proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin aktif bileşenin enkapsülasyonu ve elde edilen partiküllerin morfolojisi üzerinde etkisi büyüktür. Nanopartiküllerin morfolojilerini çözelti

özellikleri olarak; polimerin molekül ağırlığı, polimer çözeltisinin viskozitesi, yüzey gerilimi ve iletkenlik; proses değişkenleri olarak ise uygulanan voltaj, besleme hızı, besleme ünitesi ve toplayıcı arasındaki mesafe, ortam sıcaklığı ve rutubet etkilemektedir (Kriegel vd., 2008). Bu çalışma kapsamında hazırlanan deney tasarımı ile kabuk ve çekirdek çözelti konsantrasyonu, kullanılan çözgen oranı, kabuk çözelti akış hızı, uygulanan voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ve yüzey aktif madde kullanımının üretilen nanopartiküllerin morfolojileri üzerine etkisi incelenmiştir.

#### Kabuk Çözelti Konsantrasyonunun Etkisi

Kabuk çözelti konsantrasyonunun partikül morfolojisine etkisini incelemek amacıyla %6 ile %21 (a/h) konsantrasyon aralığında zein çözeltileri kullanılarak aynı koşullar altında nanopartiküller elde edilmiştir. Zein konsantrasyonunun %6 olması ile küresel ve düzenli nanopartikül oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 2a). Küresellik dağılım grafiği incelendiğinde %6 konsantrasyondaki zein çözeltisinden elde edilen nanopartiküllerin tamamının küresellik faktörünün (SF) 0.05 kritik limitinden büyük olduğu görülmektedir (Şekil 3a). Eşitlik 1'e göre hesaplanan küresellik faktörü;  $SF < 0.05$  ise partikül küresel olarak kabul edilir (Davarcı, 2012). Daha yüksek küresellik faktörü değerleri Şekil 2a'da görüldüğü gibi anlamlı şekil deformasyonları anlamına gelmektedir. Polimer konsantrasyonu düşük olduğunda daha kısa polimer zincirlerinin olmasından dolayı viskozite azalmakta ve elektropüskürtme sistemi düzgün çalışmamaktadır (García-Moreno vd., 2017). Smeets ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada düşük konsantrasyonlarda ve düşük viskozitelerde düzenli partikül oluşumu gözlenemeyeceğini belirtmişlerdir. Zein konsantrasyonu %8, 10 ve 15 (a/h) olduğunda farklı boyut ve şekillerde küresel olmayan nanopartiküllerin oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2b-d). Bu konsantrasyonlarda elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafikleri incelendiğinde nanopartiküllerin büyük çoğunluğunun küresellik faktörünün 0.05 değerinden büyük olduğu görülmektedir (Şekil 3b-d). Elde edilen partiküllerin morfolojilerini

çözeltilerin yüzey gerilimi ve çözeltileri hazırlarken kullanılan çözgenlerin buharlaşma hızı etkilemektedir. Kullanılan çözeltilerin yüzey geriliminin yüksek olması yassılaştırmış partiküllerin oluşmasına sebep olmaktadır. Yüzey aktif maddeler kullanılarak çözeltilerin yüzey geriliminin azaltılmasıyla elde edilen partiküllerin morfolojileri küresele dönmektedir. Çözgenin buharlaşma hızı düşük olduğunda da küresel partikül yerine yassılaştırmış partiküller elde edilmektedir. Buharlaşma hızı yüksek olan çözgenler kullanılarak partiküllerin morfolojileri küreselleştirilebilmektedir. Elektropüskürtme prosesinde küresel partiküllerin elde edilmesi için kullanılan polimerin molekül ağırlığına bağlı olarak optimum çözelti konsantrasyonunun belirlenmesi gerekmektedir (Smeets vd., 2017). Şekil 2e'de görüldüğü gibi zein konsantrasyonu %17.5'a (a/h) yükseldiğinde homojen ve küresel nanopartiküller elde edilmiştir. Şekil 3e incelendiğinde bu nanopartiküllerin küresellik faktörlerinin de 0.05 kritik değerinin altında olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyonun artması partiküllerin morfolojilerini küreselleştirirken daha büyük boyutlu partiküllerin oluşmasına da neden olmaktadır (Drosou vd., 2017). Fakat konsantrasyon biraz daha arttırıldığında (%21) nanopartiküller ile birlikte nanoliflerin oluşumu gözlenmeye başlamıştır (Şekil 2f). Bu durum sistemin elektropüskürtme yönteminden elektroçirime yöntemine geçtiğini göstermektedir. Elektroçirime ve elektropüskürtme yöntemleri arasındaki fark kullanılan polimer çözeltilisinin konsantrasyonuna dayanmaktadır. Çözelti konsantrasyonu yüksek olduğu zaman Taylor konisi olarak çıkan polimer jeti stabilize olup uzayarak lif oluşturmaktadır. Çözelti konsantrasyonu düşük olduğunda ise jet stabilize olmayıp ince damlacıklar oluşmaktadır (Bhushani ve Anandharamkrishnan, 2014). Çok düşük konsantrasyonlarda ve düşük viskozitede düzenli partikül oluşumu gözlenmezken, yüksek konsantrasyonlarda ve yüksek viskozitede de iğne ucunda tıkanmalar, jet yapısı oluşumunda zorluklar meydana gelmektedir.

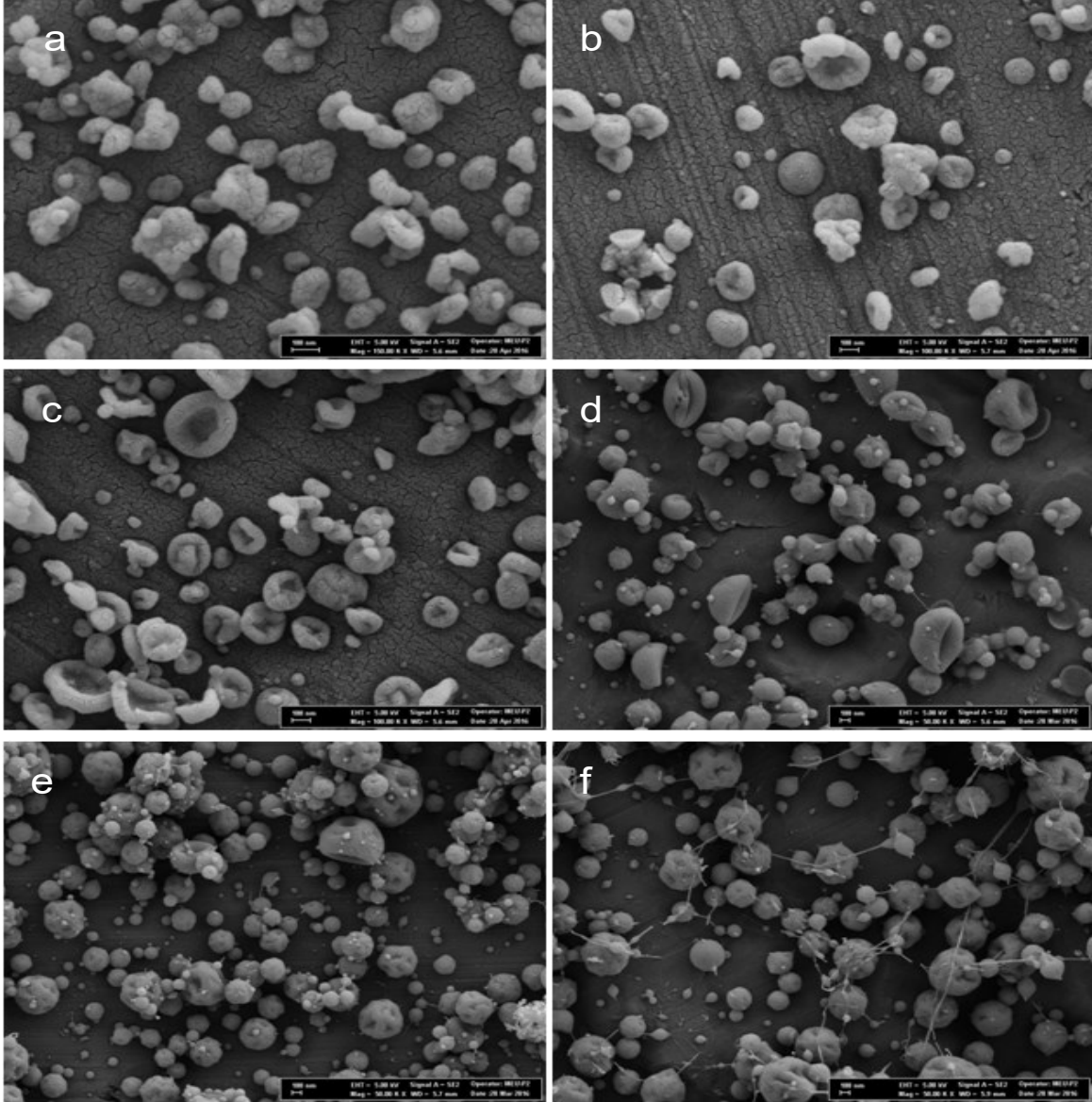
### Çözgen Oranının Etkisi

Elektropüskürtme prosesinde zein çözeltilisini hazırlamak için kullanılan çözgenin partiküllerin

morfoloji üzerinde etkisini incelemek amacıyla 98:2, 50:50, 75:25, 25:75 oranlarında asetik asit:etanol kullanılmıştır. Farklı oranlarda kullanılan asetik asit ve etanol çözgen sistemi, elde edilen partiküllerin yüzeyi içe çökmüş, yapışkan yapıda ve küresel olmayan partikül morfolojileri ile birlikte homojen ve küresel şekilli partiküllerin oluşmasına sebep olmuştur. Asetik asit-etanol çözgen karışımının 98:2 oranında kullanılması partikül yerine boncuklu lif yapısının oluşmasına sebep olmuştur (Şekil 4a). Asetik asit oranı yüksek olduğunda çözeltide asetik asitin daha az ayrışmasından kaynaklı olarak çözeltilerin elektrik iletkenliği azalmaktadır (Zhang ve Kawakami, 2010). Elektrik iletkenliği düşük olduğunda ise proses sürekliliği bozulmakta ve düzenli partikül oluşumu gözlenmemektedir (Drosou vd., 2017). Asetik asit-etanol çözgen karışımının 75:25 oranında olmasıyla elde edilen nanopartiküller yapışkan yapıda ve küresel olmayan şekillerde görüntülenmiştir (Şekil 4c). Çözgende asetik asit oranının yüksek olmasından dolayı hem elektriksel iletkenlik hem de yüzey gerilimi düşmektedir (Zhang ve Kawakami, 2010). Yüzey gerilimi, elektropüskürtme sisteminde prosesin başlamasına katkı sağlamakta ve düşük olduğunda daha küresel partiküller elde edilmektedir (Drosou vd., 2017). Yüzey gerilimi düşük olduğunda küresel partikül elde edilememesinin sebebi çözgende asetik asit oranı arttırdığında yüzey gerilimi ile birlikte elektriksel iletkenliğinin de düşmesidir. Elektriksel iletkenliğin düşük olmasının olumsuz etkisi, yüzey geriliminin düşük olmasının olumlu etkisini yenmekte ve düzgün partikül oluşumu gözlenmemektedir. Asetik asit-etanol çözgen karışımının 25:75 oranında olması durumunda yapışkan olmayan morfolojide ve yarı küresel yapıda nanopartiküller elde edilmiştir (Şekil 4d). Bunun sebebi etanol oranının yüksek olmasından dolayı proses sırasında çözeltideki çözgenin daha kolay buharlaşmasının sağlanmasıdır. Kullanılan çözgenin buharlaşma hızı, ürünün kuruma süresini belirlediği için son derece önemlidir (Gómez-Mascaraque vd., 2017). Zhang ve Kawakami (2010) yaptıkları çalışmada çözeltiye etanol eklenmesinin elektropüskürtme sisteminin stabilitesini arttırdığını ve süreci iyileştirdiğini belirtmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde homojen dağılım ve düzgün

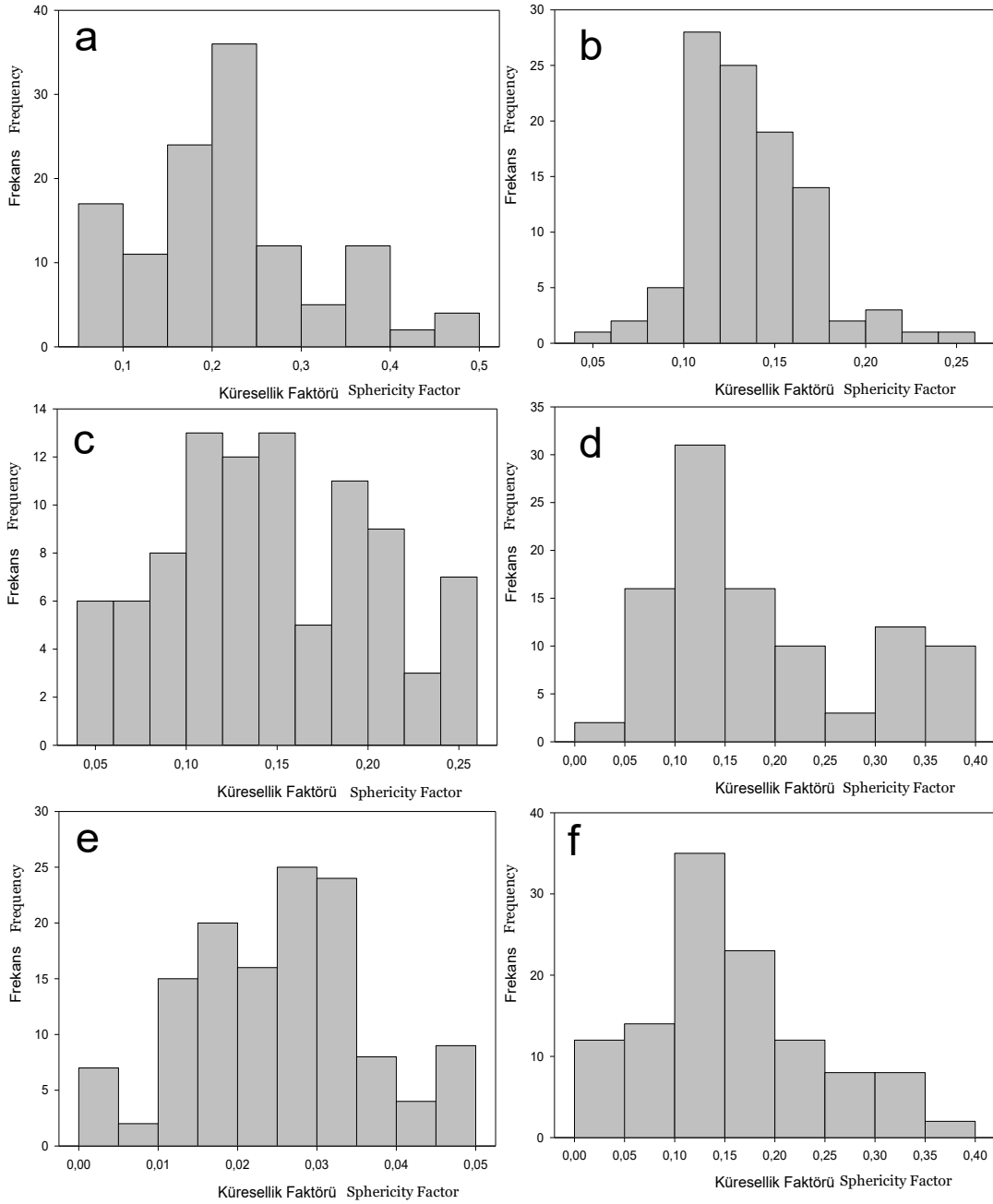
morfolojinin çözen olarak eşit oranda (h/h) asetik asit ve etanol kullanılmasıyla elde edildiği belirlenmiştir (Şekil 4b). Eşit oranda asetik asit ve etanol kullanılmasıyla elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafiği

incelendiğinde küresellik faktörünün 0.05 değerinin altında yoğunlaştığı ve nanopartiküllerin çoğunluğunun küresel olduğu belirlenmiştir (Şekil 5).



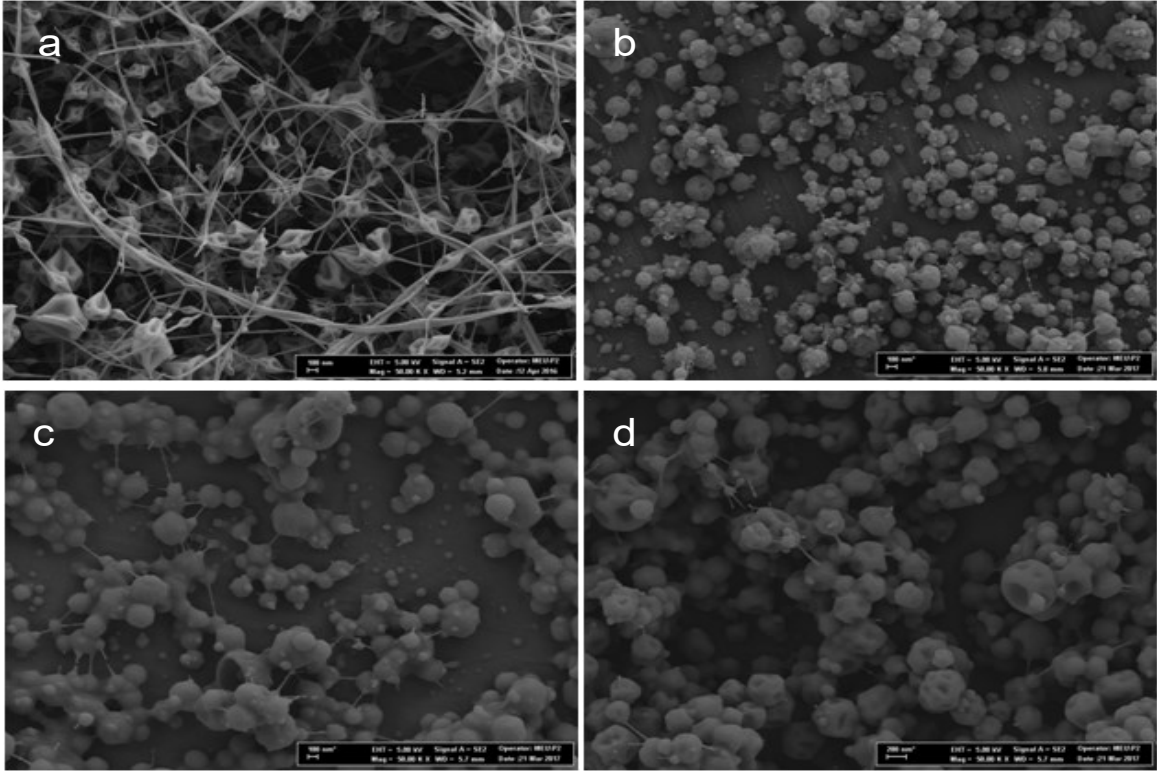
Şekil 2. Asetik asit içinde hazırlanmış farklı konsantrasyondaki zein kabuk çözeltisinden elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a)%6, b) %8, c)%10, d)%15, e)%17.5, f)%21 (çekirdek konsantrasyonu %100 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.72 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV)

Figure 2. FE-SEM images of nanoparticles obtained from different concentration of zein shell solution prepared in acetic acid a)6%, b)8%, c)10%, d)15%, e)17.5%, f)21% (core concentration 100% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.72 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV)



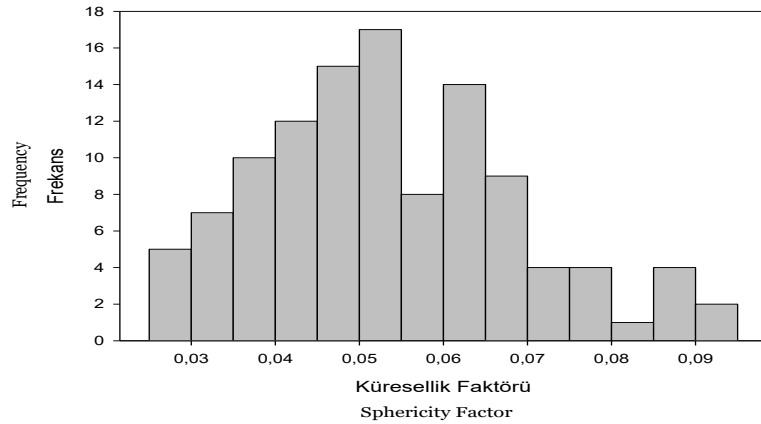
Şekil 3. Asetik asit içinde hazırlanmış farklı konsantrasyondaki zein kabuk çözeltisinden elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafikleri a)%6, b) %8, c)%10, d)%15, e)%17.5, f)%21 (çekirdek konsantrasyonu %100 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.72 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV)

Figure 3. Sphericity histogram graph of nanoparticles obtained from different concentration of zein shell solution prepared in acetic acid a)%6, b) %8, c)%10, d)%15, e)%17.5, f)%21 (core concentration 100% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.72 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV)



Şekil 4. Farklı oranlarda kullanılan asetik asit (AA)-etanol (EtOH) çözen karışımlarından elde edilen nanolif/nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a)98:2, b)50:50, c)75:25, d)25:75 (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, çekirdek konsantrasyonu %100 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.72 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV)

Figure 4. FE-SEM images of nanofiber/nanoparticles obtained from solvent mixtures of acetic acid (AA)-ethanol (EtOH) at different ratio a) 98:2, b)50:50, c)75:25, d)25:75 (shell concentration 17.5% zein, core concentration 100% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.72 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV)



Şekil 5. 50:50 oranında asetik asit (AA)-etanol (EtOH) karışımından elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafiği

Figure 5. Sphericity histogram graph of nanoparticle obtained from solvent mixtures of 50:50 acetic acid (AA)-ethanol (EtOH)

### Yüzey Aktif Madde Kullanımının Etkisi

Yüzey aktif maddelerin elektropüskürtme prosesi üzerindeki kritik rolünü gözlemek amacıyla kabuk ve çekirdek çözeltilerine yüzey aktif madde ilave edilmesiyle elde edilen partiküllerin SEM görüntüleri incelenmiştir. Sadece kabuk, sadece çekirdek ve hem kabuk hem de çekirdek çözeltilerine %5 (h/h) oranında yüzey aktif madde ilave edilmesiyle elde edilen SEM görüntüleri Şekil 6'da verilmiştir. Sadece kabuk çözeltilerine yüzey aktif madde eklenmesiyle elde edilen partiküllerin SEM görüntülerinde, nanopartiküllerin çapları prosenin kararlı hale gelmemesinden dolayı homojen dağılmamıştır (Şekil 6a). Şekil 6b'deki SEM görüntülerine göre sadece çekirdek çözeltilerine yüzey aktif madde eklenmesiyle elde edilen nanopartiküllerin yapışık ve lifli bir yapıda olduğu gözlenmiştir. Hem kabuk hem de çekirdek çözeltilerine yüzey aktif madde eklenmesiyle homojen ve küresel morfolojideki nanopartiküller elde edilmiştir (Şekil 6c). Yüzey aktif maddenin hem kabuk hem çekirdek çözeltilerine eklenmesi yüzey gerilimini düşürerek çekirdek-kabuk yapısının daha düzgün oluşmasını sağlamak ve yüzey kaviteleşmesini önlemektedir. Homojen ve küresel olmayan morfolojideki partiküllerin elde edilemediği çözeltilere yüzey aktif madde eklenmesiyle birlikte bu düzensiz yapının üstesinden gelinebilmektedir (García-Moreno vd., 2017). Nanopartiküllerin çap dağılımları 38 ile 369 nm arasında değişim göstermiştir. Elektropüskürtme prosenin başlayabilmesi için voltaj tarafından oluşturulan elektriksel kuvvetin yüzey gerilimini yenmesi gerekmektedir. Elektropüskürtme yöntemini geliştirmek ve iğne ucundan damlamayı sınırlandırmak için iyonlaşmayan yüzey aktif maddeler kullanılabilir (Gomez-Mascaraque vd., 2017). Yüzey aktif maddeler yüzey gerilimini düşürerek prosenin iyileştirilmesini ve kabul edilebilir voltajlarda gerçekleşmesini sağlamaktadırlar (Gomez-Mascaraque vd., 2016). Farklı zein konsantrasyonlarında (%15, 15.5, 16, 16.5, 17 ve 17.5 (a/h)) eşit oranda (h/h) etanol ve asetik asit kullanılarak hazırlanmış; daha sonra üzerine yüzey aktif madde (Tween 80) eklenmiş ve eklenmemiş çözeltilerinin elektrik iletkenlik değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Yüzey aktif madde eklenmemiş çözeltilerin iletkenlik değerleri  $128.9 \pm 0.80$  ile

$200.4 \pm 1.23$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ , yüzey aktif madde eklenmiş çözeltilerin iletkenlik değerleri ise  $183.2 \pm 0.88$  ile  $202.6 \pm 0.51$   $\mu\text{S}/\text{cm}$  arasında değişmiştir. Yüzey aktif madde eklenmemiş ve eklenmiş çözeltilerde zein konsantrasyonundaki artışın elektrik iletkenliğini önemli derecede ( $p < 0.05$ ) artırdığı belirlenmiştir. Aynı konsantrasyondaki çözeltilere yüzey aktif madde eklenmesinin de çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerini artırdığı belirlenmiştir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında çözeltilere Tween 20, Span 20 ve lesitin olmak üzere farklı yüzey aktif maddelerinin eklenmesi çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerlerini artırmıştır (Pérez-Masiá vd., 2014). García-Moreno ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada elektrik iletkenliği yüksek olan çözeltilerle daha iyi bir jet elde edilmesine bağlı olarak daha homojen yapıların elde edildiği sonucuna varmışlardır. Çözeltilerin elektriksel iletkenliğinin artırılması sayesinde daha düşük voltajlarda stabil bir proses ve partikül üretimi gerçekleştirilebilmektedir.

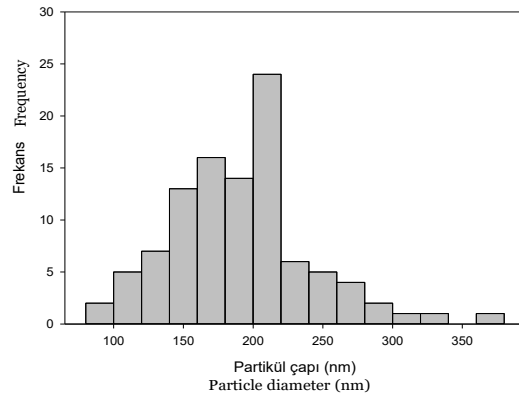
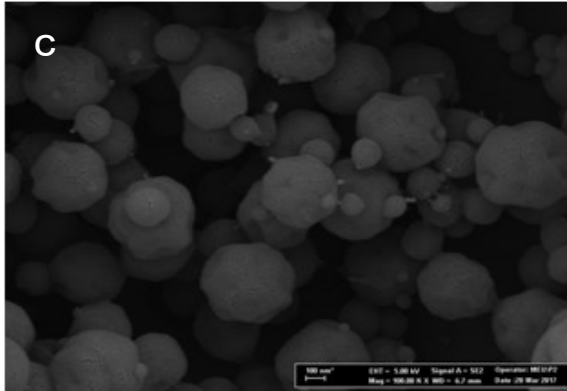
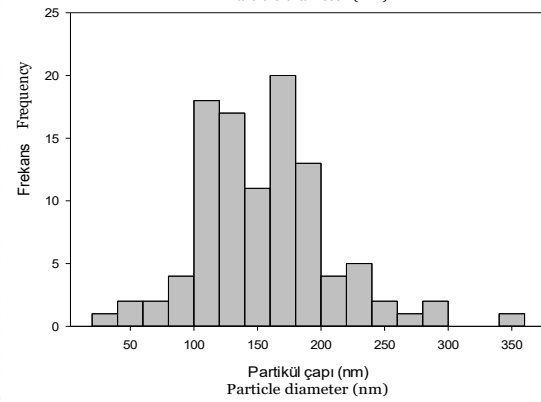
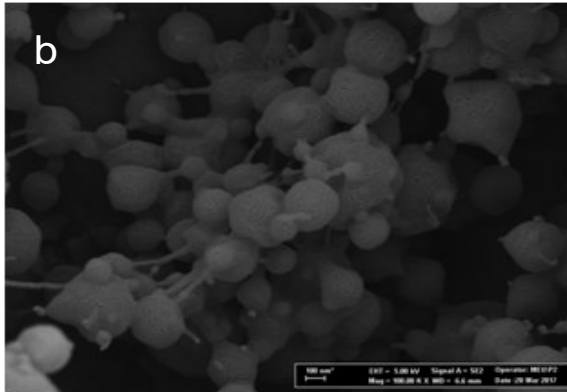
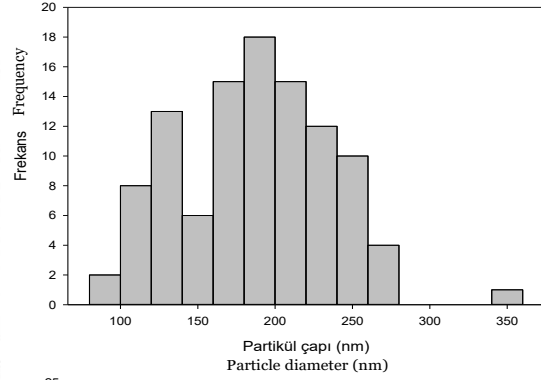
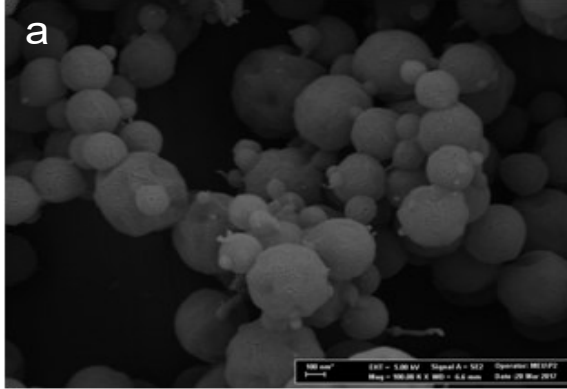
### İğne ile Toplayıcı Arasındaki Mesafenin Etkisi

Besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafenin elektropüskürtme prosesi ve elde edilen nanopartiküllerin morfolojisi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla 10 ve 13.5 cm mesafede üretimler yapılmıştır. Farklı mesafelerde üretilen partiküllerin SEM görüntüleri Şekil 7'de verilmiştir. Elde edilen partiküllerin SEM görüntülerine göre mesafenin 10 cm'den 13.5 cm'e artırılması ile çözgenin tamamen buharlaştırılması sağlanarak daha küresel ve homojen partiküller elde edilmiştir (Şekil 7b). Şekil 7c incelendiğinde mesafenin artırılması ile elde edilen nanopartiküllerin küresellik faktörü dağılımının 0.05 kritik değerinden küçük olduğu görülmektedir. Besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe artırıldığında jetin izleyeceği yol da arttığı için oluşan nanopartikül çapı azalmakta, çözgen tamamen buharlaşmakta ve partiküller kuru bir şekilde oluşmaktadır. Mesafe çok artırıldığında ise partikül oluşumu gerçekleşmemektedir. Süngüç (2013) çalışmasında mesafenin optimum aralıkta olmadığı elde edilen ürünün morfolojisinde bozukluklar ve önemli derecede partikül



kayıplarının olabileceğini belirtmiştir. Besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe

arttırıldığında elektropüskürtme prosesinde nanopartikül çapı azalmaktadır.



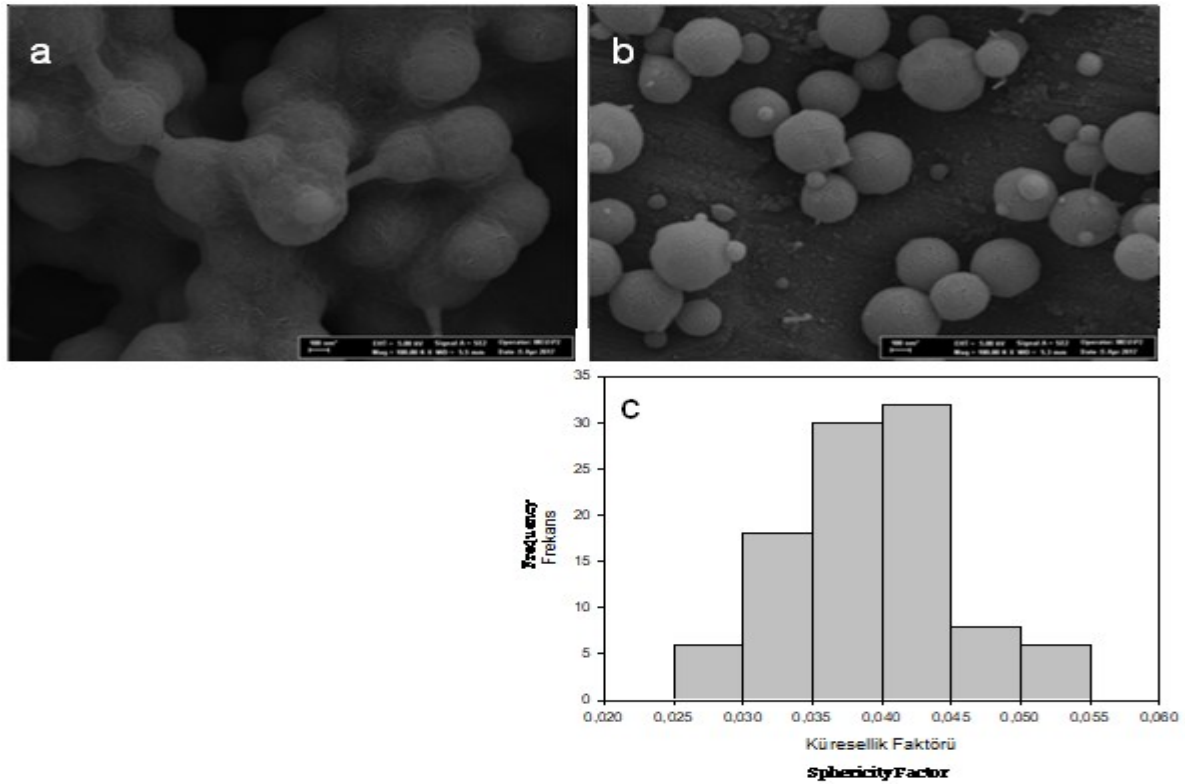
Şekil 6. Yüzey aktif maddesi (%5 (h/h)) eklenerek elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a)kabuk çözeltisi, b)çekirdek çözeltisi, c)kabuk ve çekirdek çözeltisi (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, çekirdek konsantrasyonu %100 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.72 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV, çözgen oranı 50:50 (AA:EtOH))

Figure 6. FE-SEM images of nanoparticles obtained by adding surfactant (5%, v/v) a) shell solution, b) core solution, c) shell and core solution (shell concentration 17.5% zein, core concentration 100% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.72 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV, solvent ratio 50:50 (AA:EtOH))

Çizelge 2. Çözeltilerinin elektrik iletkenlik değerleri  
Table 2. Electrical conductivity values of the solutions

Zein konsantrasyonu (%) Concentration of zein (%)	Yüzey aktif madde içermeyen çözeltilerin iletkenlik değerleri ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) Conductivity values of solutions without surfactant ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Yüzey aktif madde içeren çözeltilerin iletkenlik değerleri ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) Conductivity values of solutions with surfactant ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
15.0	128.9 $\pm$ 0.80 <sup>a</sup>	182.3 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>
15.5	144.6 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	186.8 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>
16.0	147.4 $\pm$ 0.83 <sup>c</sup>	187.1 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>
16.5	153.7 $\pm$ 0.85 <sup>d</sup>	188.5 $\pm$ 0.40 <sup>c</sup>
17.0	158.6 $\pm$ 0.72 <sup>e</sup>	190.5 $\pm$ 0.87 <sup>d</sup>
17.5	200.4 $\pm$ 1.23 <sup>f</sup>	202.6 $\pm$ 0.51 <sup>e</sup>

Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

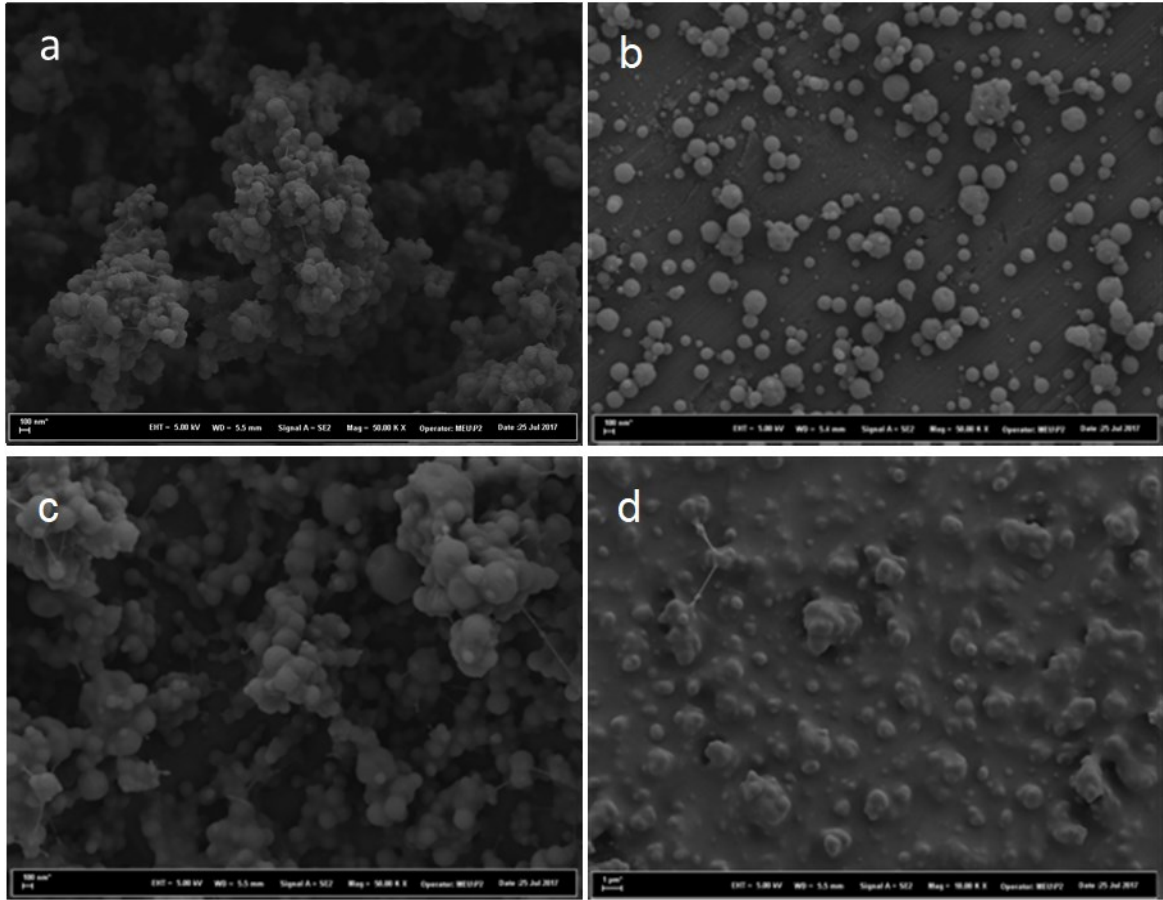


Şekil 7. Besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe değişimi sonucu elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a)10 cm, b)13.5 cm, c)13.5 cm’de elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafiği (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, çekirdek konsantrasyonu %100 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.72 mL/sa, voltaj 14 kV, çözen oranı 50:50 (AA:EtOH), hem kabuk hem çekirdek çözeltisinde %5 Tween 80)

Figure 7. FE-SEM images of the nanoparticles obtained from the change of distance between needle tip and the collector a)10 cm, b)13.5 cm, c) sphericity histogram graph of nanoparticle obtained at 13.5 cm (shell concentration 17.5% of the zein, core concentration 100% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.72 mL/h, voltage 14 kV, solvent ratio 50:50 (AA: EtOH), 5% Tween 80 in both shell and core solution)

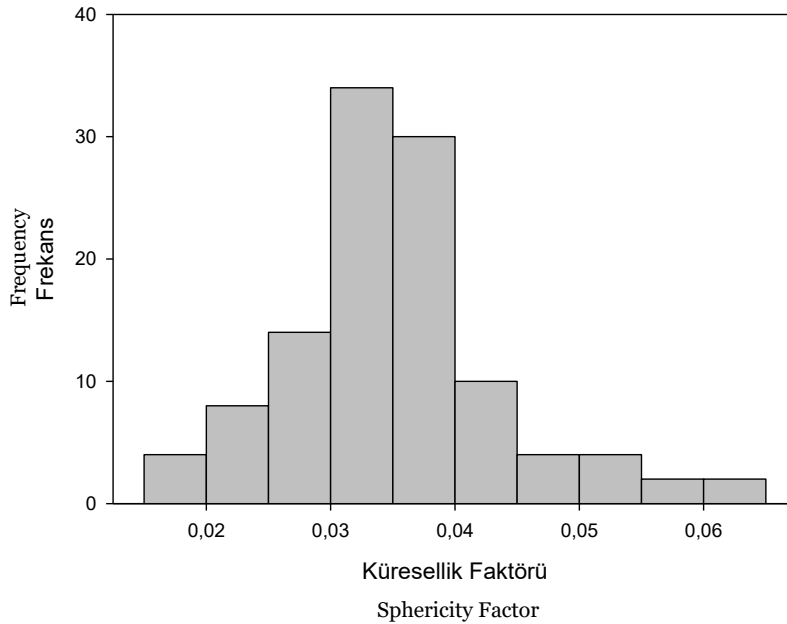
**Çekirdek Çözelti Konsantrasyonunun Etkisi**  
Elektropüskürtme prosesi üzerinde çekirdek çözelti konsantrasyonunun etkisinin belirlenmesi amacıyla %30, 50, 60 ve 90 (h/h) olmak üzere farklı konsantrasyonlarda çörek otu yağı içeren çekirdek çözeltileri kullanılarak nanopartiküller elde edilmiştir. Şekil 8'e göre en küresel morfolojinin çekirdek çözeltisinde %50 (h/h) oranda çörek otu yağı kullanılmasıyla elde edilen nanopartiküllerde olduğu belirlenmiştir (Şekil 8b). Şekil 9 incelendiğinde çekirdek çözeltisinde %50

(h/h) oranda çörek otu yağı kullanılmasıyla elde edilen nanopartiküllerin küresellik faktörü dağılımının 0.05 değerinin altında yoğunlaştığı belirlenmiştir. Elektropüskürtme prosesinde %100 çörek otu yağı içeren çekirdek çözeltisi kullanıldığında iğne ucundan damlama miktarı artmaktadır. Çekirdek çözeltisinin yağ ve polimer çözeltisi karışımı ile hazırlanması sayesinde iğne ucundan damlama miktarında azalma ve üretimde süreklilik gözlenmiştir.



Şekil 8. Farklı oranlarda çekirdek çözelti konsantrasyonlarından elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a) %30 çörek otu yağı, b) %50 çörek otu yağı, c) %60 çörek otu yağı, d) %90 çörek otu yağı (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.5 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV, çözgen oranı 50:50 (AA:EtOH), hem kabuk hem çekirdek çözeltisinde % 5 Tween 80)

*Figure 8. FE-SEM images of nanoparticles obtained from different concentrations of core solutions a) 30% black seed oil, b) 50% black seed oil, c) 60% black seed oil, d) 90% black seed oil (shell concentration 17.5% zein, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.5 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV, solvent ratio 50:50 (AA:EtOH), 5% Tween 80 in both shell and core solution)*



Şekil 9. %50 oranında çörek otu yağı içeren çekirdek çözelti konsantrasyonundan elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafiği

Figure 9. Sphericity histogram graph of nanoparticle obtained from 50% black seed oil concentrations of core solutions

### Uygulanan Voltajın Etkisi

İtici bir güç olan voltajın elektropüskürtme prosesi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla 14 ve 15 kV olmak üzere iki farklı voltajda elde edilen nanopartiküllerin morfolojisi Şekil 10'da verilmiştir. Voltajda yapılan 1 kV'lık değişim partiküllerin yapısının iyileşmesini ve küreselleşmesini sağlamıştır. 15 kV ile elde edilen nanopartiküllerin morfolojisinin homojen ve küresel olduğu belirlenmiştir (Şekil 10b). Şekil 10c incelendiğinde voltajın artmasıyla elde edilen nanopartiküllerin küresellik dağılım grafiğine göre; küresellik faktörlerinin 0.05 değerinin altında yoğunlaştığı görülmüştür. Voltaj değişimi iğne ucundaki jetin konumunu etkilemektedir. Voltaj düşük olduğunda iğne ucundan damlama şeklinde iç faz sızıntısı gerçekleşmekte ve yassılaştırmış partiküller elde edilmektedir. Uygulanan voltajın artırılması iğne ucundan damlamayı azaltmakta, çözeltinin yüzey geriliminin üstesinden gelmeyi kolaylaştırmakta ve elektropüskürtme prosesinin daha düzgün gerçekleşmesini sağlamaktadır (Gomez-Mascaraque vd., 2016). Yüksek voltaj uygulanması

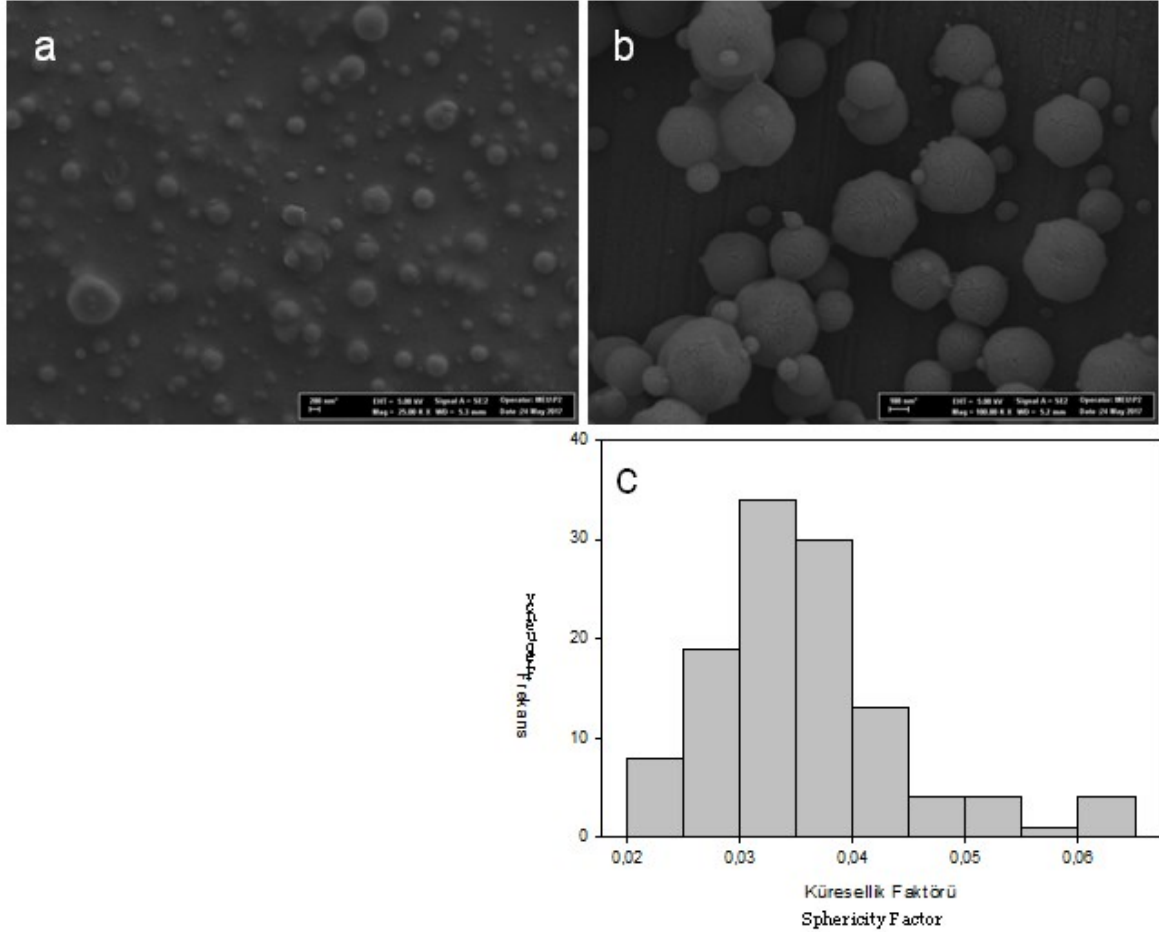
nanopartikül çapının da azalmasını sağlamaktadır (Süngüç, 2013). Eğer uygulanan voltaj proses için yeterli gelmezse, elektriksel itme kuvveti polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aşamaz ve düzgün partiküller oluşamaz. Proseste voltajın artırılmasıyla artan elektriksel alan kuvveti sayesinde partiküllerin boyutu azalmaktadır (Süngüç, 2013).

### Kabuk Çözelti Akış Hızının Etkisi

Elektropüskürtme prosesinde partiküllerin boyutunu doğrudan etkileyen bir diğer önemli parametre akış hızıdır. Farklı kabuk çözelti akış hızları ile elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri Şekil 11'de verilmiştir. Akış hızı 0.8 mL/sa olduğunda partikül oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 11a). Akış hızının 1 mL/sa'e artırılması ile partiküllerin morfolojileri küreselleşmiştir (Şekil 11b). Akış hızının daha da artırılması iğne ucundan çözelti akışının artmasına sebep olmuş ve partikül morfolojisi içerisinde küçük liflerin oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 11c). Akış hızının artması ile iğne ucundan daha fazla çözelti akışı sebebiyle partiküllerin çapında artış

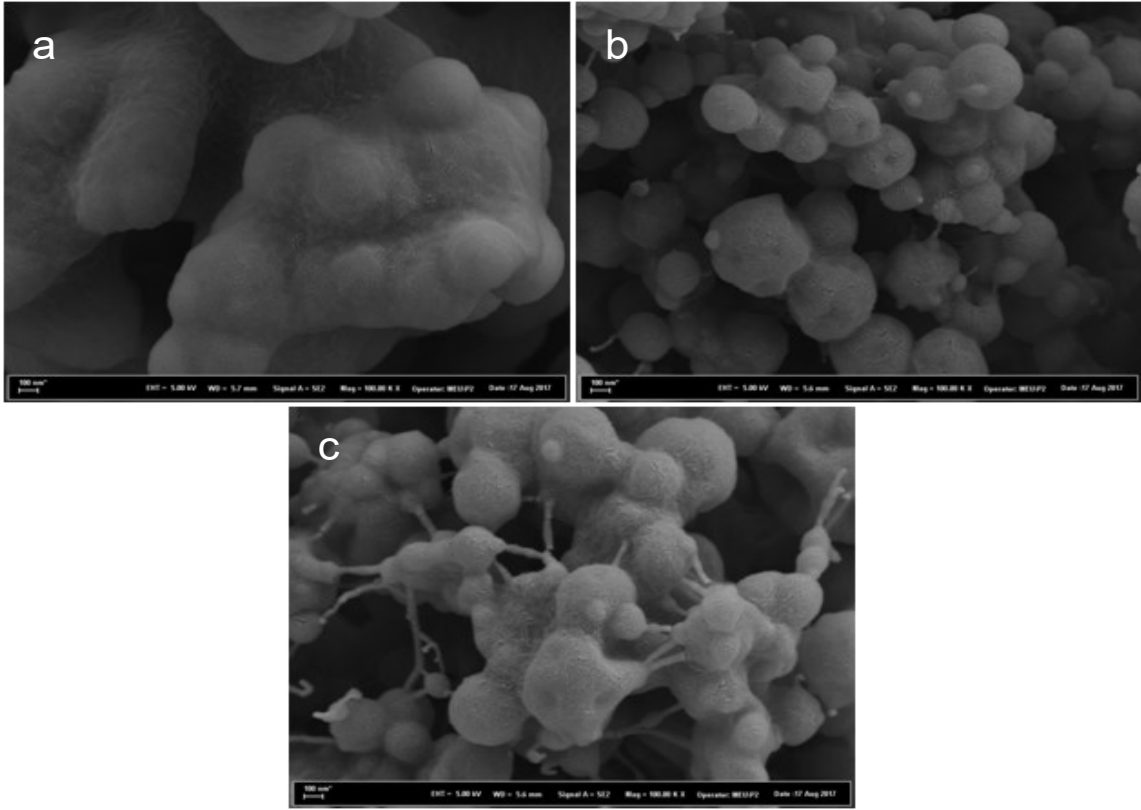
meydana gelmektedir. Akış hızı düşük olduğunda, iğne ucunda daha az çözelti akışından kaynaklı olarak nanopartikül çapında azalma meydana gelmektedir. Akış hızının azalmasıyla uygulanan

voltaj tüm polimerin elektriksel alana dahil olmasını sağlamakta, iğne ucunda oluşacak koni düzenli olmakta ve daha az damlama gerçekleşmektedir.



Şekil 10. Farklı voltaj uygulanmasının sonucunda elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a)14 kV, b)15 kV, c)15 kV'da elde edilen nanopartikülün küresellik dağılım grafiği (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, çekirdek konsantrasyonu %50 çörek otu yağı, kabuk çözelti akış hızı 2.5 mL/sa, çekirdek çözelti akış hızı 0.3 mL/sa, mesafe 13.5 cm, çözügen oranı 50:50 (AA:EtOH), hem kabuk hem çekirdek çözeltisinde %5 Tween 80)

Figure 10. FE-SEM images of nanoparticles obtained as a result of different voltage application a)14 kV, b)15 kV, c) sphericity histogram graph of nanoparticle obtained at 15 kV (shell concentration 17.5% of the zein, core concentration 50% of the black seed oil, flow rate of shell solution 2.5 mL/h, flow rate of core solution 0.3 mL/h, distance 13.5 cm, solvent ratio 50:50 (AA: EtOH), 5% Tween 80 in both shell and core solution)



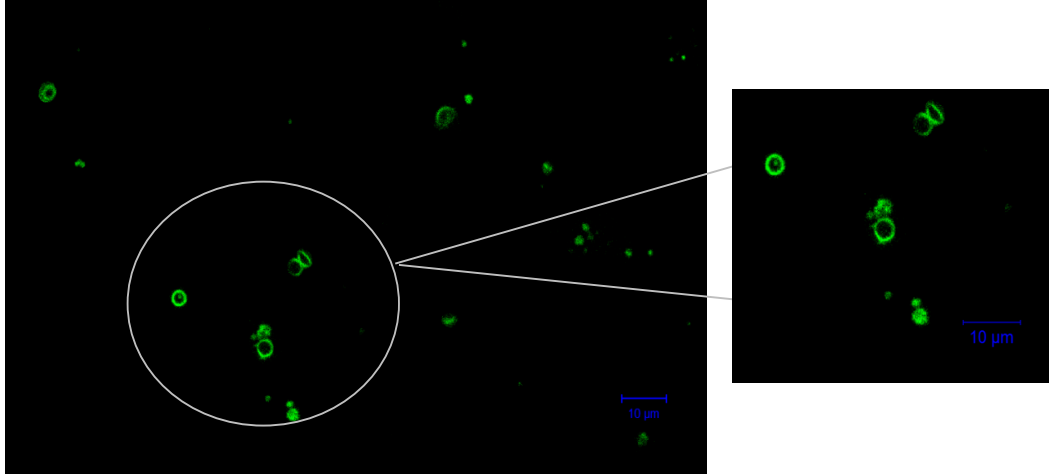
Şekil 11. Farklı kabuk çözelti akış hızları uygulanması sonucunda elde edilen nanopartiküllerin FE-SEM görüntüleri a) 0.8 mL/sa, b) 1 mL/sa, c) 1.2 mL/sa (kabuk konsantrasyonu %17.5 zein, çekirdek konsantrasyonu %50 çörek otu yağı, çekirdek çözelti akış hızı 0.4 mL/sa, mesafe 13.5 cm, voltaj 14 kV, çözgen oranı 50:50 (AA:EtOH), hem kabuk hem çekirdek çözeltisinde %5 Tween 80)

*Figure 11. FE-SEM images of nanoparticles obtained as a result of application of different shell solution flow rates a) 0.8 mL/h, b) 1 mL/h, c) 1.2 mL/h (shell concentration 17.5% of the zein, core concentration 50% of the black seed oil, flow rate of core solution 0.4 mL/h, distance 13.5 cm, voltage 14 kV, solvent ratio 50:50 (AA: EtOH), 5% Tween 80 in both shell and core solution)*

Nano boyutlardaki çekirdek-kabuk yapısı lazer taramalı konfokal mikroskopu kullanılarak görüntülenmiştir. Kabuk materyali olarak kullanılan zein proteini lazer taramalı konfokal mikroskop altında floresan özellik göstermektedir (Fernandez vd., 2009). Bu özelliğinden faydalanılarak nano boyuttaki partiküllerin sahip olduğu kabuk yapısı halka şeklinde görüntülenmiştir. Koaksiyal elektropüskürtme yöntemiyle elde edilen çekirdek-kabuk yapısının konfokal mikroskop görüntüsü Şekil 12'de gösterilmiştir.

Yapılan bu çalışma sonucunda proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin homojen ve

küresel nanopartiküllerin elde edilmesi üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Aynı sistem üzerinde proses parametreleri ve çözelti özelliklerinde değişiklikler yapıldığında materyalin karakteristik özelliklerinin etkileneceği ve farklı morfolojilerde nanopartiküllerin elde edilebileceği görülmüştür. Elektrohüdrodinamik proseslerin optimize edilmesiyle düzensiz, homojen ve küresel olmayan morfolojilerin iyileştirilebileceği belirlenmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin morfolojilerinin homojen ve küresel olmasının, aktif bileşenin daha uzun süre korunması ve kontrollü salımının gerçekleşmesi açısından fayda sağlayacağı düşünülmektedir.



Şekil 12. Lazer taramalı konfokal mikroskop görüntüsü  
Figure 12. Image of laser scanning confocal microscope

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP), 2017-2-TP2-2566 nolu proje ile desteklenmiştir. Çalışma kapsamında çekirdek çözeltisi olarak kullanılan çörek otu yağını temin eden Çakıroğlu Yağ (Çakıroğlu Uçucu Yağ San. Tic. Ltd. Şti., Mersin) firmasına teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

- Bhushani, A., Anandhararmakrishnan, C. (2014). Electrospinning and electrospaying techniques: Potential food based applications. *Trends Food Sci Technol* 38: 21-33, doi.org/10.1016/j.tifs.2014.03.004.
- Bulca, S. (2014). Çörek otunun bileşenleri ve bu yağın ve diğer bazı uçucu yağların antioksidan olarak gıda teknolojisinde kullanımı. *ADÜ Ziraat Derg* 11(2): 29 – 36.
- Drosou, C., Krokida, M., Biliaderis, C. (2017). Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospaying and spray drying: a comparative assessment of food-related applications. *Drying Technol* 35 (2): 139–162, doi.org/10.1080/07373937.2016.1162797.
- Fernandez, A., Torres-Giner, S., Lagaron, J. (2009). Novel route to stabilization of bioactive antioxidants by encapsulation in electrospun fibers of zein prolamine. *Food Hydrocoll* 23: 1427–1432, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.10.011.

Ganan-Calvo, A.M., Davila, J., Barrero, A. (1997). Current and droplet size in the electrospaying of liquids. Scaling laws. *J Aerosol Sci* 28(2): 249–275, doi.org/10.1016/S0021-8502(96)00433-8.

García-Moreno, P., Özdemir, N., Stephansen, K., Mateiu, R., Echegoyen, Y., Lagaron, J.M., Chronakis, I., Jacobsen, C. (2017). Development of carbohydrate-based nano-microstructures loaded with fish oil by using electrohydrodynamic processing. *Food Hydrocoll* 69: 273-285, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.02.013.

Davarcı, F. (2012). Effects of some physical parameters on penetration, size and shape in alginate gel microencapsulation. İstanbul Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye.

Gomez-Mascaraque, L., Morfin, R., Perez-Masia, R., Sanchez, G., Lopez-Rubio, A. (2016). Optimization of electrospaying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in-vitro digestion. *Food Sci Technol* 69: 438-446, doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.071.

Gómez-Mascaraque, L., Ambrosio-Martín, J., Perez-Masiá, R., Lopez-Rubio, A. (2017). Impact of acetic acid on the survival of *L. plantarum* upon microencapsulation by coaxial electrospaying. *J Healthcare Eng* Article ID 4698079, 6 pages, doi.org/10.1155/2017/4698079.

- Kepekçi, D.B. (2011). Elektroğırme yöntemiyle Lnp Nanoliflerin Üretimi ve Karakterizasyonu. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye.
- Kriegel, C., Arrechi, A., Kit, K.M., McClements, D.J., Weiss, J. (2008). Fabrication, functionalization and application of electrospun biopolymer nanofibers. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48: 775–797, doi: 10.1080/10408390802241325.
- López-Rubio, A., Lagaron, J.M. (2012). Whey protein capsules obtained through electrospaying for the encapsulation of bioactives. *Innov Food Sci Emerg Technol* 13: 200–206, doi.org/10.1016/j.ifset.2011.10.012.
- Mazzoli, A., Favoni, O. (2012). Particle size, size distribution and morphological evaluation of airborne dust particles of diverse woods by Scanning Electron Microscopy and image processing program. *Powder Technol* 225: 65-71, doi.org/10.1016/j.powtec.2012.03.033.
- Nabil Mohammed, K., Nuthalapati, V., Chidambaram, R. (2014). Anti-oxidant activity assessment of nanoencapsulated commercial black cumin seed oil. *Int J Pharma Res Rev* 3:1-7.
- Pérez-Masiá, R., Lagaron L.J., López-Rubio, A. (2014). Development and optimization of novel encapsulation structures of interest in functional foods through electrospaying. *Food Bioprocess Technol* 7:3236–3245.
- Pérez-Masiá, R., Lagaron L.J., López-Rubio, A. (2014). Surfactant-aided electrospaying of low molecular weight carbohydrate polymers from aqueous solutions. *Carbohydr Polym* 101: 249– 255, doi: 10.1016/j.carbpol.2013.09.032.
- Sakin, M., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg* Cilt 16, Sayı 1, 77-86.
- Smeets, A., Clasen, A., Mooter, G. (2017). Electrospaying of polymer solutions: Study of formulation and process parameters. *Eur J Pharm Biopharm* 119:114–124, doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.06.010.
- Süngüç, C. (2013). Encapsulation of *Sarcopoterium spinosum* extract in zein particle by using electrospay method. İzmir İleri teknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi İzmir, Türkiye.
- Weiss, J., Takhistov, P., McClements, D. J. (2006). Functional materials in food Nanotechnology. *J Food Sci* 71: R107–R116, doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00195.x.
- Zhang, S., Kawakami, K. (2010). One-step preparation of chitosan solid nanoparticles by electrospay deposition. *Int J Pharm* 397: 211–217, doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.007.



# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Öztürk, B., Zeyrekçe, B. *Utilization of flavor network analysis for a new recipe in Marmara region / Marmara bölgesinde yeni bir tatlı tarifi için lezzet bileşikleri ağ analizinin kullanımı*.....396-408
- Şanlıbaba, P., Uymaz Tezel, B. *Isolation of phages infecting Listeria monocytogenes / Listeria monocytogenes spesifik fajların izolasyonu* .....463-471
- Sarıca, E., Coşkun, H., Kemer, İ. C., Samur, E. S., Çifçi, F. M., Aktaş, A., Erer, H., Vergili, E. *A comparative study on the shelf life of the yogurts produced from cow and buffalo milks / İnek ve manda sütünden yapılan yoğurtların raf ömürleri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma*.....483-490
- Şirinyıldız, D. D., Aydın, E., Öztürk, Y., Avcı, T., Yıldırım, A., Yorulmaz, A. *The level of 3-MCPD fatty acid esters in vegetable oils and margarines collected from Turkish market / Türk piyasasından toplanan bitkisel yağlar ve margarinlerde 3-MCPD yağ asidi esterlerinin düzeyi*.....491-497

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Kamiloğlu, S. *Taze ve dondurulmuş elmalarda ve elma posasında polifenol biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi / Evaluation of polyphenol bioaccessibility in fresh and frozen apples and apple pomace* .....409-418
- Kılınçer, F. N., Demir, M. K. *Çimlendirilmiş bazı tahıl ve baklagillerin fiziksel ve kimyasal özellikleri / Physical and chemical properties of germinated some cereals and legumes* .....419-429
- Salman, S., Azarabadi, N., Özdemir, F. *Siyah çay harmanında partikül boyutu ve demleme süresinin dem özellikleri üzerine etkisi / The effect of particle size and brewing time on the infusion properties of tea blends* .....442-452
- Hançer, A., Karabulut, İ. *Şeker pancarı besinsel lifinin fonksiyonel özellikleri üzerine farklı ekstraksiyon uygulamaları ve mikronizasyonun etkileri / Effects of different extraction treatments and micronization on the functional properties of sugar beet dietary fibre* .....498-512
- Köten, M., Satouf, M. *Farklı formülasyonlarda kahvaltılık zahter üretimi ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi / Production of breakfast zahter in different formulations and determination of some quality characteristics* ..... 513-522
- Öner, Z., Sarıdağ, A. M. *Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler / The changes during maturation of the white cheese produced from goat milk* .....523-533
- Atay, E., Altan, A. *Proses parametreleri ve çözelti özelliklerinin koaksiyal elektropüskürtme yöntemi ile elde edilen nanopartiküllerin morfolojik özellikleri üzerine etkisi / The effect of process parameters and solution properties on morphological characteristics of nanoparticles obtained by coaxial electrospraying* .....534-551

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Ata, Ö., Tavman, Ş. *Kolajen ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması / Comparison of collagen extraction methods* .....383-395
- Fundagül Erem, F. *Probiyotik fırın ürünleri üretim yöntemleri / Production methods for probiotic bakery products*.....430-441
- Erk, G., Seven, A., Akpınar, A. *Vegan ve vejeteryan beslenmede probiyotik bitkisel bazı süt ürünlerinin yeri / Feature of plant-based probiotic dairy products in vegan and vegetarian nutrition* .....453-462
- Aykın Dinçer, E. Erbaş, M. *Kurutulmuş et ürünlerinin kalite özellikleri / Quality properties of dried meat products* .....472-482