

GIDA



THE JOURNAL OF FOOD

E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 44

SAYI / NUMBER : 6

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: 6 • 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

Editörler / Editors	Danışma Kurulu / Advisory Board
AVCI, Ayşe; <i>Sakarya University, Turkey</i> ÇOLAKOĞLU, A. Sinan; <i>Kabramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey</i> EYİLER, Esen; <i>Akdeniz University, Turkey</i> HALKMAN, A. Kadir; <i>Ankara University, Turkey</i> TABAN, Birce M.; <i>Ankara University, Turkey</i>	Alichanidis, Efstathios <i>Aristotle University of Thessaloniki, Greece</i> Artık, Nevzat <i>Ankara University, Turkey</i> Baysal, Taner <i>Ege University, Turkey</i> Boyacı, İsmail Hakkı <i>Hacettepe University, Turkey</i> Certel, Muharrem <i>Akdeniz University, Turkey</i> Draughon, Ann <i>Tennessee University, USA</i> Ekşi, Aziz <i>Ankara University, Turkey</i> El Soda, Morsi <i>University of Alexandria, Egypt</i> Fogliano, Vincenzo <i>University of Napoli Federico II, Italy</i> Ghosh, Bikash C. <i>National Dairy Research Institute, India</i> Gollop, Natan <i>The Volcani Center, ARO, Israel</i> Gökmen, Vural <i>Hacettepe University, Turkey</i> Griffiths, Mansel <i>University of Guelph, Canada</i> Göğüş, Fahrettin <i>Gaziantep University, Turkey</i> Gümüşkesen, Aytaç Saygın <i>Ege University, Turkey</i> Güven, Mehmet <i>Cukurova University, Turkey</i> Heperkan, Dilek <i>Istanbul Technical University, Turkey</i> Ho, Chi-Tang <i>The State University of New Jersey, USA</i> Kaya, Mükerrerem <i>Atatürk University, Turkey</i> Kaymak-Ertekin, Figen <i>Ege University, Turkey</i> Koçak, Celalettin <i>Ankara University, Turkey</i> Köksel, Hamit <i>Hacettepe University, Turkey</i> Morales, Francisco J. <i>CSIC Instituto del Fr o, Spain</i> Muhtaba, Mustafa G. <i>Florida Gulf Coast University, USA</i> Özilgen, Mustafa <i>Yeditepe University, Turkey</i> Paalme, Toomas <i>Tallinn University of Technology, Estonia</i> Parlar, Harun <i>Technical University of Munich, Germany</i> Raspor, Peter <i>University of Primorska, Slovenia</i> Rezessy-Szabo, Judit M. <i>Corvinus University of Budapest, Hungary</i> Şahin, Serpil <i>Middle East Technical University, Turkey</i> Şanlıbaba, Pınar <i>Ankara University, Turkey</i> Üstünel, Zeynep <i>Michigan State University, USA</i> Yetişemiyen, Atila <i>Ankara University, Turkey</i>
Yönetim Yeri Adres / Address Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey Tel: (+90) 0534 968 5994 • Faks: (+90) 312 317 8711 E-posta / E-mail: dergi@gidadernegi.org URL: http://www.gidadernegi.org	
Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli	
Hazırlayan / Prepared Sim Ajans 58. Sokak No: 20/1 Bahçelievler / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
Yayın Tarihi / Publication Date 15 11 2019	

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

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

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Atalar, I., Gul, O., Gul, L. B., Yazici, F. *Storage stability of low and high heat treated hazelnut beverages / Düşük ve yüksek ısı işlem uygulanmış fındık içeceklerinin depolama stabiliteleri* **980-987**
- Terkuran, M., Erginkaya, Z. *The relationships between serving temperatures and microbiological quality of normal and dietary meals produced in a university hospital kitchen / Üniversite hastane mutfağında üretilen normal ve diyet öğünlerinin servis sıcaklıkları ile mikrobiyolojik kalitesi arasındaki ilişkiler* **1020-1029**
- Gündüz, H., Aras Hisar, Ş., Gündüz, F. *The effect of different ultrasound powers treatment on some quality parameters of sardines (Sardina pilchardus) packed in vacuum packaging / Farklı güçte ultrases uygulamalarının vakum paketlenen sardalya balıklarının (Sardina pilchardus) bazı kalite parametreleri üzerine etkisi* **1071-1080**
- Yorulmaz, A., Erinc, H., Tatlı, A., Tekin, A. *The effect of irrigation on olive and olive oil characteristics / Sulama işleminin zeytin ve zeytinyağının özelliklerine etkisi* **1081-1091**
- Diñer, C., Çam, İ. B., Torun, M., Başunal Gülmez, H., Topuz, A. *Mathematical modeling of concentrations of grape, pomegranate and black carrot juices by various methods / Üzüm, nar ve kara havuç sularının farklı yöntemlerle konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi* **1092-1105**
- Levent, H., Yeşil, S. *The effects of drying methods on the quality of Turkish noodle with legume flours / Kurutma metotlarının baklagil unlu Türk erişte kalitesi üzerine etkileri* **1161-1173**

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Gülüm, L., Akoğlu, İ. T. Akoğlu, A. *Bıldırcın nugget üretimi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi / Quail meat nugget production and determination of storage stability* **954-968**
- Alayunt, N., Ö. Bölgesel farklılık ve depolama süresinin propolisin antioksidan özellikleri üzerine etkisi / *The effect of regional difference and storage time on antioxidant properties of propolis* **969-979**
- Kılıç, S., Kılıç, M. *Kırmızı pul biber örneklerinde element içeriğinin belirlenmesi / Determination of element contents in red pepper samples* **1000-1007**
- Öztürk Oruç, S., Çakır, İ. *Probiyotik kültürlerle fermente karpuz suyu üretimi üzerine bir araştırma / A research on production of fermented watermelon juice by probiotic culture* **1030-1041**
- Çorapçı, B., Kocatepe, D. *Modifiye atmosfer (MA) paketlenmiş kırlangıç (Chelidonichthys lucerna linnaeus, 1758) sotenin kalite özellikleri / The quality characteristics of tub gurnard (Chelidonichthys lucerna linnaeus, 1758) saute packaged with modified atmosphere (MA)* **1059-1070**
- Göksel Saraç, M., Dedebaş, T. *Turuncgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum üretimi ve karakterizasyonu / Production and characterization of Turkish delight enriched with citrus albedos* **1121-1135**
- Terakye, E., Bayrakdar, M. G., Suna, S., Çopur, Ö. U. *Baharat ekstraktlarıyla zenginleştirilmiş sirkeli içecek üretimi üzerine bir araştırma / A research on the production of vinegar beverage enriched with spice extracts* **1136-1147**
- Güzel, N., Bahçeci, K. S. *Çorum yöresi ballarının fenolik madde içerikleri ile renk ve antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişki / Correlation of phenolic content of honeys from Çorum region with colour and antioxidant capacity* **1148-1160**
- Lavkor, I. *Mısırdaki koçan çürüklüğüne neden olan fungal türler ve mısırdaki oluşan mikotoksinler / Fungal species causing ear rot in corn and occurred mycotoxins in corn* **1197-1209**
- Selçuk, H., Velioglu, Y. S. Baloglu, Z. *Ozonlama ve filtrasyon işleminin suların demir ve mangan içeriğine etkisi / Effects of ozonation and filtration on the iron and manganese contents of water* **1210-1221**
- Karabulut, M., Atay, E., Altan, A. *Kitin ile güçlendirilen elektroçözümlü nanoliflerin aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi / Investigation of electrospun nanofibers strengthened with chitin as active packaging material* **1237-1252**

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Var, I., Çelik, Ç. *Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama ve çoğunluğu algılama mekanizmasının engellenmesi / Quorum sensing and quorum quenching mechanism in microorganisms* **943-953**
- Değerli, C., Nehir El, S. *Optimum beslenmede sağlıklı atıştırmalıkların yeri / Importance of healthy snacks in optimal nutrition* .. **988-999**
- Karakuş, E., Ayhan, Z. *Gıda atıklarından çevre dostu biyobozunur ambalaj malzemesi üretimi / Production of environmentally friendly biodegradable packaging materials from food waste* **1008-1019**
- Çağlar Gökırmaklı, Ç., Havva Nilgün Budak, H. N., Zeynep Banu Güzel-Seydim, Z. B. *Sirkenin sağlık üzerine etkileri / Effects of vinegar on health* **1042-1058**
- Akpınar, M., Halkman, A.K. *Gıda patojenlerinin biyokontrolünde bakteriyofaj uygulamaları / Application of bacteriophages for biocontrol of food pathogens* **1106-1120**
- Oğuz, Ş., Andiç, S. *Peynir üretiminde kullanılan starter kültürler / Starter cultures used for the manufacture of cheese* .. **1174-1196**
- Geniş, B., Tuncer, Y. *Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler / Different coating materials and methods used in microencapsulation of probiotic cultures* **1222-1236**

MİKROORGANİZMALARDA ÇOĞUNLUĞU ALGILAMA VE ÇOĞUNLUĞU ALGILAMA MEKANİZMASININ ENGELLENMESİ

Işıl Var*, Çağrı Çelik

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Adana, Türkiye

Geliş / Received: 19.05.2019; Kabul / Accepted: 16.09.2019; Online baskı / Published online: 07.10.2019

Var, I., Çelik, Ç. (2019). Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama ve çoğunluğu algılama mekanizmasının engellenmesi. *GIDA* (2019) 44 (6): 943-953 doi: 10.15237/gida.GD19016

Var, I., Çelik, C. (2019). *Quorum sensing and quorum quenching mechanism in microorganisms. GIDA* (2019) 44 (6): 943-953 doi: 10.15237/gida.GD19016

ÖZ

Hücreler arası iletişim ya da çoğunluğu algılama olarak bilinen Quorum Sensing (QS) mekanizması ile gıda kaynaklı patojenler biyofilm, antibiyotik direnci ve virülans gibi etkileri oluşturarak halk sağlığını tehdit etmektedir. QS bakteriler, küfler ve mayalar gibi çeşitli mikroorganizmalarda görülmektedir. QS mekanizmasında hücreler arası iletişimde kullanılan iletişim molekülü olarak otoindükleyiciler görev almaktadır ve bu moleküllerin mikroorganizmalara göre çeşitlilik göstermesi QS mekanizmasının kontrolünü güçleştirmektedir. QS engelleme mekanizması olarak bilinen Quorum Quenching (QQ) konusunda ise son yıllarda birçok çalışma yapılmaktadır. QQ mekanizması enzimatik ve kimyasal olarak doğada bulunabilmekte ve bunun yanı sıra bitkisel gıdaların ekstraktları da QS mekanizması sinyallerine kimyasal olarak benzediğinden bu amaçla kullanılmakta ve onları inhibe etmektedir. Bu derlemede halk sağlığı için birçok disiplinde olduğu gibi gıda sektöründe de çok ciddi tehlikelere sebep olan mikroorganizmalardaki QS mekanizması ve bu mekanizmanın zararlı etkilerinin önlenmesini konu alan QQ mekanizması ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama, hücreler arası iletişim, küfler, mayalar, antibiyotik direnci

QUORUM SENSING AND QUORUM QUENCHING MECHANISM IN MICROORGANISMS

ABSTRACT

Quorum sensing (QS), is cell to cell communication, threatens on public health to make effects by means of biofilm, antibiotic resistance and virulence. QS observed in bacteria, molds and yeasts. Autoinducers are most important communication molecules in QS. And the diversity of these molecules according to microorganisms makes the control of the QS mechanism difficult. In recent years, there is a lot of work about Quorum Quenching (QQ) which is known as blocking mechanism of the QS. The QQ mechanism exists both enzymatically and chemically in nature and the extracts of plant-origin food has ability inhibited autoinducers owing to the fact that they are chemically similar to autoinducers. In this review, the QS mechanism in microorganisms that cause serious hazards in the food sector as well as in many disciplines for public health and the QQ mechanism intended to prevent the harmful effects of QS are discussed.

Keywords: Quorum sensing, quorum quenching, molds, yeasts, antibiotic resistance

*Yazışmadan sorumlu yazar/Corresponding author

✉ ivar@cu.edu.tr

☎ (+90) 544 827 4245

☎ +90 322 338 6614

GİRİŞ

Mikroorganizmalar çevrelerinden izole olarak yaşamayıp diğer mikroorganizmalar ile sürekli iletişim halindedir, sinyal molekülleri ile meydana gelen bu hücre-hücre iletişim mekanizmasına Quorum Sensing (QS) denilmektedir (Barriuso vd., 2018). Bu mekanizma hücre popülasyon dengesine bağlı olan hücre-hücre iletişim sistemlerinden biridir (Okutsu vd., 2016). Quorum Sensing virülans faktör, sporilasyon, mortalite, toksin üretimi ve biyofilm oluşturma gibi önemli mikrobiyal süreçleri düzenler (Duanis-Assaf vd., 2016). Kısaca hücreler arası iletişim için kullanılan dil denilebilmektedir (Deep vd., 2011). Bu hücreler arasındaki iletişim patojen bakterilerin gıdalarda olumsuz etkilerini de arttırmaktadır. Bu bağlantının inhibe edilmesi gıda güvenliği için önemli bir yöntem olabilmektedir (Duarter vd., 2016). QS'in önemi sadece gıda güvenliği için değil tıp, çevre ve tarım ile ilgili disiplinlerde de söz konusudur (Karaboz ve Sukatar, 2004).

QS mekanizması biyofilm, virülans etkinin yanı sıra antibiyotik direnci gibi etkileri oluşturması ile halk sağlığını da tehdit etmektedir (Dong vd., 2007). Özellikle patojenlerin antibiyotik direnci son yıllarda dikkate değer bir şekilde artmıştır (Bhardwaj vd., 2013). Mikroorganizmalardaki bu antibiyotik direnci tedavide çeşitli komplikasyonların, hataların ve ölümlerin oluşmasına neden olmaktadır (Wang vd., 2013).

QS mekanizmasını önlemek için kullanılan tüm sistemler Quorum Quenching (QQ) olarak isimlendirilmektedir. Bu sistem patojenlerin QS mekanizmasında ürettikleri otoindükleyicileri bloke ederek hücreler arası iletişimi engellemek temellidir (Chen vd., 2013).

Bu derlemede halk sağlığı ve özellikle gıda sektöründe çok ciddi tehlikelere sebep olan mikroorganizmalarda tanımlanan Quorum Sensing ve bu mekanizmanın zararlı etkilerini durdurabilmek için kullanılan Quorum Quenching mekanizmaları ele alınmıştır.

QUORUM SENSING MEKANİZMASI

Bakterilerde Quorum Sensing Mekanizması

Quorum Sensing ilk olarak akuatik ortamlarda ve su altında yaşayan canlılarla patojenik veya

mutualistik yaşayan bir tür olan ve ışık yayan *Photobacterium fischeri* (*Vibrio fischeri*) bakterilerinde tanımlanmıştır (Barrios vd., 2006; Amaral vd., 2015). Ken Nealson, Terry Platt ve Woody Hastings 1970 yılında yayınlanan makaleleri ile bu tanımlamayı ilk defa yaparak mikroorganizmalar hakkında devrim niteliğinde bir öngörüü oluşturmuşlardır (O'Toole, 2016). İsim olarak Quorum Sensing ifadesi ise Fuqua ve ark., tarafından 1994 yılında yapılan çalışmada geçmektedir. Hatta bu mekanizmanın neo-Darwinizmin evrim teorisinde açıklanan ilk çok hücreli organizmanın ortaya çıkmasında önemli unsurlarından biri olduğu ve bu aşamada rol oynamış olabileceği yönünde görüşler ileri sürülmektedir (Barriuso vd., 2018).

Yapılan çalışmalarda Quorum Sensing üç temel kısma ayrılarak incelenmektedir. İlk kısım hücre topluluğunun salgıladığı sinyal moleküllerinin oluşumudur (Hawver vd., 2016). Bu sinyal molekülleri kısaca hücre-hücre sinyal mekanizması olan Quorum Sensing sırasında otoindükleyici olarak bilinen belirli bakterilere özgü hücresel fonksiyonları harekete geçiren moleküllerdir (Almasoud vd., 2015). Genel olarak bu sinyaller hem hücre yoğunluğuna hem de biyofilm oluşumuna yardımcı olmak için çeşitli fizyolojik aktiviteleri düzenlerler (Blana vd., 2017). Örneğin QS yapan bakterilerin düşük hücre yoğunluğunda (low cell density) olduğu ortamlarda otoindükleyiciler de az miktarda bulunmakta olup hücre yoğunluğunu arttırmaya yardımcı olmak için hücre dışına salgılandıkları görülmüştür. (Rutherford ve Bassler, 2012).

Bu sinyaller temel olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincisi aminoasitler ve kısa peptitler, yaygın olarak Gram pozitif bakteriler tarafından kullanılır ve ikincisi yağ asidi türevleri, sıklıkla Gram negatif bakteriler tarafından kullanılır (Whitehead vd., 2001). Son yirmi yılda yapılan çalışmalarda bu sinyal moleküllerinin birçoğu tanımlanmıştır. Genel olarak sinyal moleküllerine N-acylated-L-homoserine lactones (AHL) Gram negatif bakteriler için, otoindükleyici peptitler (Autoinducing peptides;AIP) ise Gram pozitif bakterilerde örnek olarak verilmektedir. Bu iki temel gruba ek olarak hem Gram pozitif hem de

Gram negatif bakterilerde görülen Autoinducer-2 (AI-2) molekülleri de bulunmaktadır (Bosgelmez-Tinaz, 2013).

Bu sinyallerden AHLs homolog proteinler tarafından sentezlenmektedir (Anbazhagan, 2012). AHLs yapısında 4-18 karbonlu ve acyl zincirleri taşıyan bir homoserin lakton halkası içerir. Kısa zincirli olanları bakteri hücre membranı boyunca dağılırken, uzun zincirli olanları yüksek konsantrasyonlu bölgelere moleküllerin aktif taşınmasında kullanılır (Johansen ve Jespersen, 2017). Bunun yanında AHL'ler, S-adenosilmetionin (SAM) ile bir acyl-acly taşıyıcı protein reaksiyonuyla sentezlenir. Bu protein genellikle AHL sintazlarının LuxI ailesinin bir enzimi tarafından gerçekleştirilir ve LuxR ailesinin transkripsiyon düzenleyicileri tarafından algılanır (Skandamis ve Nychas, 2012). Hücre popülasyonuna bağlı olarak AHL konsantrasyonu hücre içinde eşik değeri konsantrasyonuna ulaşır ve genellikle LuxR reseptörlerine bağlanırlar (Zan vd., 2012). *V. fischeri* için biyoluminesans ifadesini düzenleyen temel işlem olan bu sistem ilk olarak Eberhard ve ark. (1981) tarafından tanımlanmıştır (Erzinger vd., 2018). Eberhard ve ark. (1981) HPLC ile *V. fischeri*'nin ışık yayma mekanizmasında bulunan otoindükleyicileri tespit ve sentezi için yaptıkları çalışma sonucu bu otoindükleyicilerin spesifik genetik bir regülatör olduğu ve ayrı bir enzim sistemi ile bağlantılı olduğunu gözlemlemişlerdir (Eberhard vd., 1981). Bu enzim sisteminde Lux geninin LuxP, LuxQ, LuxU ve LuxO homologlarının görev aldıkları görülmektedir. Farklı bakterilerde aynı görevi yapmalarına rağmen Lux döngülerinde farklılıklar gözlenmektedir. Örneğin Lux homologları *V. harveyi* ve *V. fischeri* bakterilerinin ikisinde de biyoluminesans özellikteyken *V. fischeri* bakterisinde biyofilm oluşumunda da görev almaktadır (Ray ve Visick, 2012). Bu gibi genetik faktörler dışında sıcaklık, pH, NaCl, gelişme ortamı, inokulum miktarı ve bakteri gelişme hızı dâhil olmak üzere AHL'lerin konsantrasyonunu ve türünü etkileyen çeşitli faktörler olabilmektedir (Skandamis ve Nychas, 2012).

Diğer bir sinyal AIPs ise 7-9 aminoasit olarak değişen uzunlukta olup 2-4 aminoasit içeren

kuyruk yapısını da bulundurmaktadır (Johnson vd., 2015). Genel olarak AIP'ler doğal ribozom sentezi yoluyla aktif olmayan pro-peptidler olarak ifade edilir ve daha sonra aktif QS sinyali üretmek üzere işlenir ve modifiye edilirler (Rampioni vd., 2014).

QS sinyali olarak AIP'leri kullanan en yaygın patojen *Staphylococcus aureus* olarak bilinmektedir (Vasquez vd., 2017). Bu patojende virülans proteinlerini kontrol eden merkez transkripsiyon gen olarak *agr* geni görev almaktadır (Traber vd., 2008). *Staphylococcus aureus* *agr* geni A'dan D'ye kadar isimlendirilerek 4 protein grubundan meydana gelmiştir (Vasquez vd., 2017). Bu gruplardan *agrB* ve *agrD* AIP'lerin sentezi, taşınması ve olgunlaşmasında rol oynarken, *agrC* geni ise bu sinyal molekülünün hücre zarı tarafından algılanmasını sağlayan AgrC proteinini kodlar (Roux vd., 2014). Meydana gelen AgrC proteini membrana bağlı olan reseptör-histidin kinaz yapıdadır (Wang vd., 2014). AgrC proteini AIP'leri algılar ve bakteri eşik yoğunluğuna ulaştığında aktifleşir (Wang vd., 2017). AgrC AIP'ler ile bağlanma işleminden sonra fosforil grubunu hücre içine aktarır (Wang vd., 2014). Bu aktarılan fosforil grubu QS mekanizmasının bir sonraki aşamasında kullanılmaktadır (Wang vd., 2017). Son grup olan *agrA* geni ise *Staphylococcus aureus*'un virülans etki yaratmasını ya da QS mekanizmasını oluşturmasını sağlar (Vasquez vd., 2017). QS mekanizmasını oluşturan *agrA* geninin kodladığı RNAII mRNA'sı ile P2 destekleyicisi AgrD proteinini sentezleyerek AIP sinyal molekülünü meydana getirir (Roux vd., 2014).

Otoindükleyici (Autoinducer-2;AI-2) ise spesifik olmayan bir molekül olup birçok farklı bakteri türünün AI-2'nin metabolik öncülü olan 4,5-dihidroksi-2,3-pentandion'u (DPD) salgıladığı bildirilmiştir. Bu molekülden türeyen AI-2 sinyali molekülü ya bakterilerin kendileri tarafından salgılanmakta ya da bir başka bakteri tarafından salgılanarak diğer bakterilerin kullanımına sunulmaktadır. Bakterilerdeki bu mekanizma spontane olarak gerçekleştiği gibi ortamda karışık yapıda bulunan bileşiklerin bir başka bakteri tarafından algılanması ile de gerçekleşebilmektedir (Song vd., 2014). Genel olarak *E. coli* ve *Salmonella*

türleri hücre dışı olarak hem kendi türleri arasında hem de başka türler arasında QS mekanizması için AI-2 sinyal moleküllerini salgılamaktadır (Kendal ve Sperandio, 2014). Yapılan çalışmalarda AI-2 otoindükleyicinin üretiminde bir genin görev aldığı görülmekte ve bu görev alan genin luxS geni olduğu bildirilmektedir (Wang vd., 2005).

QS mekanizmasının ikincisi kısmı ise otoindükleyicilerin sitoplazmada veya zar içerisinde bulunan reseptörler tarafından tespit edilmesidir (Hawver vd., 2016). Reseptör ve otoindükleyiciler arasındaki ilişkiye bakıldığında *Hafnia alvei* gibi bakteriler tarafından salgılanan AHLs molekülleri hem hücre içinde hem de hücre dışında diğer bakterilerin reseptörleri ile algılanır (Blana vd., 2017). *H. alvei*, bitkiler ve sebzelere ek olarak memelilerin gastrointestinal sistemlerinde de bulunan bir gram-negatif bakteridir (Litrenta ve Oetgen, 2017). Bu bakterinin ürettiği AHLs molekülleri hücre dışında *Salmonella enterica* hücrelerindeki reseptörler tarafından algılanır ve biyofilm oluşumu başlatılır. *Hafnia alvei* hücresinde LuxI tarafından üretilen AHLs, *Salmonella* hücresi içinde LuxR tarafından üretilen AHL reseptörü SdiA proteini tarafından algılanır (Blana vd., 2017). *Salmonella* doğrudan AHLs molekülleri üretmediğinden SdiA reseptör proteininin algıladığı bu moleküller *Salmonella* dışındaki bakteriler tarafından salgılanır. Bilinen örnekler bakarsak kaplumbağalarda *Aeromonas hydrophila*, farelerde ise *Yersinia enterocolitica* bakterileri *Salmonella*'nın biyofilm oluşum mekanizmasını harekete geçiren AHLs moleküllerini salgırlar (Habyarimana vd., 2014). Sinyal molekülü AHLs üretemeyen *Salmonella enterica* bakterileri gibi *E. coli* bakterileri de aynı şekilde AHLs molekülünü üretmediği bilinmektedir (Nguyen vd., 2015).

AI-2 reseptörleri için analiz yöntemlerinin sınırlı olmasından dolayı bir çok bakteri türünde tanımlaması yapılamamıştır (Zhang vd., 2017). Fakat AI-2 otoindükleyiciler için LsrB reseptörü birbirine yakın enterik bakteri *E. coli* için karakterize edilmiştir (Pereira vd., 2009). LsrB yüksek affiniteli bir substrat bağlayıcı periplazmik proteindir (Pereira vd., 2012). Bu proteinin AI-2'leri hücre dışında algılama özelliği olduğu

bilinmekteyse de AI-2'leri hücre içine aktarma fonksiyonu tespit edilememiştir (Hegde vd., 2011). Hedge ve ark.'nın 2011 yılında yaptıkları çalışmada *E. coli* bakterilerinin *lsrB* mutant türevleri kullanılmış ve *lsrB* geni deaktive olmuş türlerin hala AI-2'leri hücre içine transfer ettiği gözlenmiştir (Hegde vd., 2011). Bir başka çalışmada ise farklı konsantrasyonlardaki AI-2 molekülleri 5 mg/mL LsrB proteini ile inkübe edilmiştir. Zhang ve ark. 2017'de yaptıkları çalışmada LsrB proteininin ortamdaki AI-2 moleküllerini bağladığı ve LsrB proteinleri denatüre edildiği zaman ise AI-2 moleküllerini bağlayamadığı gözlenmiştir.

QS mekanizmasının üçüncü kısmında ise bakterilerin biyoluminesans üretimi, biyofilm oluşumu, genetik değişim ve virülans faktörü için gerekli genlerin ekspresyonunu aktive etme süreci bulunmaktadır (Hawver vd., 2016).

SdiA'nın hücre içindeki fonksiyonlarında AHLs moleküllerinin reseptör proteini etkilidir. SdiA sayesinde biyofilm ve virülans etki gibi hücre fonksiyonları aktif hale gelir. Fakat bunlara ek olarak SdiA'nın, *E. coli* kolonilerinin bağırsakta rektal-anal mukoza rahatsızlığında önemli rol oynayan LEE genini hücre içinde etkinleştirdiği de bilinmektedir. Bu yüzden AHL otoindükleyicilerin olmadığı bir ortamda SdiA çalışmamaktadır ve sırasıyla LEE geni aktif olamamaktadır. Böylece *E. coli* patojenleri koloni oluşturmamaktadır (Kendal ve Sperandio, 2014).

AIPs otoindükleyicileri için QS mekanizmasının üçüncü aşaması ise genel olarak *S. aureus* hücreleri baz alınarak incelenmiştir (Vasquez vd., 2017). QS mekanizmasının ikinci aşaması olan AIP'lerin hücre membranında bulunan AgrC proteini tarafından algılanmasından sonra fosforil grup hücre içine transfer edilerek AgrA proteinini aktif eder (Wang vd., 2017). Bu fosforil grup ile elde edilen fosforilasyonun *S. aureus*'un virülans etkisi ve hücre içindeki toksinlerin karakterizasyonu ile bağlantılı olduğu görülmektedir (Rajasree vd., 2016).

AI-2 otoindükleyicileri ile yapılan çeşitli araştırmalar bulunmaktadır AI-2 otoindükleyicile-

rinin biyofilm ve virülans faktörünü aktive eden genlerle ilişkisi tartışmalı konulardan biridir (Kendal ve Sperandio, 2014). Çünkü bu yapı bakterilere göre değişiklik göstermektedir. Örneğin *Salmonella Typhimurium* ve *Streptococcus* bakterilerinin meydana getirdiği AI-2'leri salgılayan luxS geni biyofilm oluşumu bakımından önemli bir rol almaktadır (Wang vd., 2005). Fakat *E. coli* bakterilerinde AI-2'leri salgılayan luxS geninin biyofilm oluşumunda herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (Wang vd., 2005). Gonzalez-Barrios ve ark.'nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada luxS geninin AI-2'leri salgılamasına rağmen biyofilm oluşumunda etkisinin olmadığı tespit edilmiş ve B3022 proteini sayesinde AI-2'lerin biyofilm yapısını oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca aynı çalışmada mqsR geni olarak yeniden isimlendirilmiş gen ile kodlanan proteinlerin de virülans etkiyi aktive ettiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalar AI-2 otoindükleyicilerin hücre fonksiyonunun bakteri türlerine göre farklılık gösterebileceğini düşündürmüştür (Wang vd., 2005).

Otoindükleyici sinyal moleküllerinin dışında bakteriyosinlerin de bağırsak florasında QS molekülü olarak kullanıldığı görülmüştür (Arqués vd., 2015). Özellikle laktik asit bakterilerinde QS mekanizmasının bakteriyosinlerle olduğu düşünülmektedir (Rizzello vd., 2012). Rizzello ve ark. 2014 yılında yaptıkları çalışmada *Lactobacillus plantarum* türünün bakteriyosin oluşumuna başlama mekanizması incelenmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmada, havuç suyunda bulunan *L. plantarum* ve *Bacillus megaterium* arasındaki ilişki PCR ile incelenmiş ve *L. plantarum* türünün bakteriyosinler ile *B. megaterium* üzerine inhibisyon etkisi olduğu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada uygunsuz çevre koşullarında yüksek hücre konsantrasyonunda bakteriyosinlerin ortamda gözlenmediği fakat düşük hücre yoğunluğunda bakteriyosinlerin üretiminin olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun QS mekanizmasının bir örneği olabileceği sonucu çıkarılmıştır.

Sinyal moleküllerinin tespit yöntemlerine bakıldığında ise literatürde çeşitli QS saptama sistemleri tarif edilmiş olup, çoğunluğu farklı moleküllerin saptanması için farklı bir afiniteye

sahip raportör gen soylarının kullanılmasıyla yapılmaktadır. Raportör genleri QS'yi uyararak bir promotörün kontrolü altına sokularak bu türlerin genetik olarak modifiye edilmesi sağlanabilmiştir (Kumar vd., 2016).

QS, bakterilerin belirli bir gen dizisinin ifadesi ile ilgili kolektif kararlar almasını sağlayan düzenleyici bir mekanizmadır ve davranışı koordine etmek için bir iletişim mekanizması olarak, QS'nin biyofilm oluşumu üzerinde bir etkisi olduğu da bulunmuştur (Kumar vd., 2016). Biyofilm oluşumu doğal ortamlarda, klinik ortamlarda ve hastalıklarda kısaca *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda bakterilerin kendilerini dış etkenlere karşı korumak için geliştirdiği baskın bir büyüme şekli olarak görülmektedir (Var ve Sağlam, 2017).

Küflerde ve Mayalarda Quorum Sensing Mekanizması

QS mekanizmasının genel olarak bakterilerde meydana geldiği düşünülse de son yıllarda küfler ve mayalarda da bu mekanizmanın görüldüğü gözlenmiştir (Padder vd., 2018; Barriuso vd., 2018). Fakat küfler ve mayalarda görülen QS mekanizmasının ve bu mekanizmada görev alan sinyal moleküllerinin özellikleri henüz net olarak tanımlanamamıştır (Barriuso vd., 2018). Küfler için ise QS mekanizması spesifik olmadığı gibi çeşitliliği de oldukça fazladır (Padder vd., 2018).

Aspergillus türlerinde QS mekanizmasının ikincil metabolitlerin oluşumu ve ortam koşullarına göre hücre yapısını değiştirme olan morfogenez gibi popülasyona bağlı davranışları düzenlediği düşünülmektedir (Barriuso vd., 2018). Bu mekanizmayı sağlayan sinyal molekülünün oksilipinler olduğu bilinmesine rağmen oksilipinlerin nasıl algılandığı ve iletildiği hakkında bilgiler sınırlıdır (Affeldt vd., 2012). Oksilipinler 3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ol yapısında olup farnesol adı ile bilinmektedir (Bacon vd., 2017). Affeldt ve arkadaşları 2012 yılında yaptıkları çalışmada *A. flavus* kültürlerinin QS mekanizmasında sinyal molekülü olarak oksilipinleri kullanıyor olduklarını belirtmişlerdir. QS mekanizması oksilipinlerin GprC ve GprD genlerini uyarmak üzerine olup bu genlerin

uyarılmasıyla *A. flavus*'un aflotoksin sentezlenmesi durdurulmaktadır.

Farnesol sinyal molekülünün görev aldığı maya ve küfler arasında *Penicillium sclerotiorum*, *Histoplasma capsulatum*, *Ceratocystis ulmi*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Ustilago maydis*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Pleurotus* sp., *Leptomitus* sp., *Achlya* sp., *Saprolegnia* sp. sayılabilmektedir (Bacon vd., 2017, Raina vd., 2010).

Yapılan bazı gözlemlere göre *S. cerevisiae* mayalarında gerçekleşen QS mekanizması amino asitlerden türetilen aromatik alkoller aracılığı ile gerçekleşmektedir. Çoğalan mayaların triptofan ve feniletıl alkol üreterek biyofilm ve virülans etkiyi kontrol ettiği düşünülmektedir (Barriuso vd., 2018). Bu mekanizmanın *S. cerevisiae* mayalarında ARO9 ve ARO10 anahtar genlerinin yüksek hücre yoğunluğu ile uyarıldığı ve triptofan ve feniletıl alkol üretilerek sinyal molekülü olarak kullanılması ile gerçekleştiği teorisi öne sürülmektedir (Chen ve Fink, 2006).

Bunun yanında insanlarda önemli bir patojen olan *Candida albicans* mayalarında gerçekleşen QS mekanizmasında tyrosol, farnesol ve volatile gibi birçok QS molekülünün rol aldığı rapor edilmiştir (Padder vd., 2018). Hornby ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları çalışmada farnesolün *C. albicans*'ın virülans etkisini yüksek hücre yoğunluğunda harekete geçirdiğini fakat klinik bulgulara hastalardan alınan dokularda farnesolün tespit edilmediğini belirtmişlerdir. Bu da farnesolün sadece QS mekanizmasını başlatan sinyal molekülü olasılığını gösterdiğini belirtmişlerdir (Hornby vd., 2001). Bunun yanında tyrosolün *C. albicans*'ta görülen QS mekanizmasındaki fonksiyonu ise farnesolün sınırlı sayıda olduğu zamanlarda devreye girmesi ve farnesol gibi sinyal molekülü görevini üstlenmesi şeklinde düşünülmektedir (Kruppa, 2008). Farnesolün fazla miktarda üretilmesi durumunda QS mekanizması baskılanmakta ve Volatile devreye girerek sinyal molekülü görevini devralmaktadır. Volatilenin bu mekanizması da diğer sinyal molekülleri gibi tam olarak açıklanamamıştır (Schmidt vd., 2015).

QUORUM QUENCHING

Bu mekanizma ilk kez Dong ve ark.'nın 2002 yılında yaptıkları çalışmada *Bacillus* sp. türünde gözlenen AiiA enziminin AHL'leri inhibe ettiğini gözlemleri ve bu olayı QS bastıran mekanizma olarak tanımlamalarıyla ortaya konmuştur (Dong vd., 2007).

QQ mekanizması enzimatik ve kimyasal olarak doğada bulunabilmektedir (Grandclement vd., 2016). Son zamanlarda enzimatik QQ mekanizması hakkında yapılan incelemeler sonucunda bu mekanizmada iki farklı grubun yer aldığını göstermiştir. Bu iki gruptan Sınıf I olarak adlandırılan AHL laktonaz, AHL-asilaz ve paraoksonaz içeren enzim kırıcı AHL molekülü olarak tanımlanmıştır. Sınıf II olarak adlandırılan grupta ise, oksidoredüktazı içeren karbonili hidrosile indirgeyen bir enzimin rol oynadığı görülmüştür. (Chen vd., 2013).

Bunun yanı sıra bitkisel gıdaların ekstraktları da QS mekanizması sinyallerine kimyasal olarak benzemekte ve onları inhibe etmektedir. Bu işlemi, sinyal moleküllerinin sentezlenmesini ya da reseptör proteinlerinin aktivitesini azaltarak, sinyal moleküllerini inhibe ederek, sinyal moleküllerini reseptör proteinlerinden ayırarak ve sinyal molekülleri yerine geçerek gerçekleştirir (Truchado vd., 2015).

Bitkisel gıdaların QQ mekanizmasına örnek olarak Almasoud ve ark.'nın 2015 yılında yaptıkları çalışma verilebilir. Bu çalışmada; laktik ve malik organik asitlerinin *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* patojenlerinin QS'deki AI-2 molekülleri üzerine inhibe edici özellikleri gösterilmiştir. *E. coli* O157:H7'ye ait AI-2'ler laktik asidin %4 çözeltisinde %80 oranında inhibe olurken, *Salmonella* AI-2'leri %76.6 oranında inhibe olmuştur. Malik asit için ise, *E. coli* O157:H7'ye ait AI-2'ler malik asidin %4 çözeltisinde %37.5 oranında inhibe olurken, *Salmonella* AI-2'leri %37.5 oranında inhibe olmuştur (Almasoud vd., 2015).

Bir başka çalışmada ise Luciardi ve ark. tarafından 2016 yılında mandalina esansiyel yağının QS mekanizmasında görev alan otoindükleycilerden

AHL molekülüne etkisi incelenmiştir. Mandalina esansiyel yağının *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin QS mekanizmasında kullanılan AHL molekülleri üzerine etkisi bakılırken aynı zamanda, biyofilm ve bakteri gelişmesi üzerine olan inhibisyon etkisi de incelenmiştir. Çalışmada mandalina esansiyel yağın bakteri gelişiminde inhibe etkisi olmadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra, mandalina esansiyel yağların AHL moleküllerini %33, biyofilm yapısını ise %41 oranında inhibe ettiği görülmüştür.

Duarte ve ark. 2016 yılında, Kışniş esansiyel yağı ve onun majör maddesi olan linaloolun *Campylobacter jejuni* ve *Campylobacter coli* ve bunun yanı sıra QS sistemi üzerine antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerini araştırmışlardır. Her iki bileşiğin de anti-*Campylobacter* aktivitesi gösterdiğinin gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, kışniş yağı ve linalool'un ayrıca, QS inhibisyonu yoluyla biyosensör olarak kullanılan *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 suşunun (*C. violaceum* ATCC 12472, N-asilhomoserin laktonları (AHL) tarafından düzenlenen QS'ye cevaben mor bir pigment olan violaceini sentezleyen bir Gram-negatif bakteridir. AHL, bazı *Campylobacter* türleri için de tanımlanmış olan Gram negatif bakterilerde QS'ye katılan başlıca indüktör moleküllerdir) üretmekte olduğu violacein üretimini inhibe ederken *in vitro* biyofilm oluşumunu da inhibe ettiği ve biyofilm dağılımına neden olduğunu göstermişlerdir.

Son yıllarda patojenlere karşı birçok QQ etkili doğal ve kimyasal ürünler üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Fakat henüz QQ etkili ürünlerin patojenlere spesifik etkileri, uygulama süresi, şekli ve oranı bilinmemektedir ve bu konu hakkında çalışmalar devam etmektedir (Tang ve Zhang, 2014).

Bir başka QQ mekanizmasını sağlayan moleküller ise küflerin meydana getirdiği ikincil metabolitlerdir. Son yıllarda yaklaşık 33 *Penicillium* spp'nin salgıladığı patulin ve penisilik asit gibi mikotoksinlerle QS mekanizmasının inhibe edilebildiği belirlenmiştir (Kalia, 2013). Ayrıca bir çok bitki türünde etkili olan ve buna bağlı olarak hayvancılık, kümes hayvancılığı ve insanlarda da

toksik etki yaratan *Fusarium* türlerinin ürettiği fumonisin mikotoksinin patojen mikroorganizmaların QS mekanizmasında görev alan AHL sinyal moleküllerini inhibe edebildiği düşünülmektedir (Bacon vd., 2017). Küflerin QQ mekanizmasını sağlaması hakkında Kong ve ark.'nın 2017 yılında yaptıkları çalışmada su kaynaklı bir patojen olan *C. violaceum*, LuxI/LuxR tarafından sentezlenen virülans etki yaratan sinyal moleküllerinin *Penicillium* sp. SCS-KFD08 tarafından salgılanan ikincil metabolitler (penicitor A, aculene E ve penicitor B) ile inhibe olduğunu gözlemişlerdir.

Bir mikroorganizmanın bir başka mikroorganizmanın QS mekanizmasında görev alan sinyal moleküllerini inhibe edebildiğini gösteren bazı çalışmalar ile karşılaşmıştır. Örneğin, Sarfraz ve ark. 2018 yılında yaptıkları çalışmada patateslerde "Siyah Ayak" hastalığına sebep olan *Pectobacterium atrosepticum* bakterisinin QS mekanizmasında görev alan AHL sinyal molekülünün *Bacillus* spp. tarafından inhibe edildiği tespit edilmiş olup bu hastalığın *Bacillus* spp. ile kontrol altına alınabileceği gösterilmiştir.

SONUÇ

Halk sağlığı açısından tehdit oluşturan patojenler hakkında yapılan çalışmalar kesintisiz olarak devam etmesine rağmen patojenlerin verdiği zararlar tam anlamıyla kontrol altına alınamamaktadır. Patojenlerin kontrol altına alınamamasına neden olan biyofilm, antibiyotik direnci ve virülans etken gibi etkilerin QS mekanizması sayesinde gerçekleştiği bilinmektedir. Hücre-hücre iletişimi olarak bilinen QS mekanizmasında iletişim molekülü olarak otoindükleyiciler görev almaktadır ve bu moleküller mikroorganizmalara göre çeşitlilik göstermektedir. Bu çeşitlilik QS mekanizmasının önemini arttırmakta ve otoindükleyiciler hakkında çalışmaların genişletilerek her bir patojene özgü moleküllerin tanımlanması gerekmektedir. Böylece patojenler ile mücadelede daha kesin çözümler alınabilecektir.

QS mekanizması patojen bakterilerin yanı sıra laktik asit bakterilerinde, küflerde ve mayalarda da gözlenmiştir. QS hakkındaki son çalışmalar

böylelikle belirli bakteriler ile sınırlı kalmayıp diğer mikroorganizmalarla da gerçekleştirilmeye başlanmıştır.

Bu konulardaki çalışmaların artması, QS mekanizmasının ve bunun patojen mikroorganizmalarda biyofilm yapma süreçleri ve virülans etkilerin ortaya çıkıştaki rolleri bu sistemin kontrol altına alınmasıyla önlenebileceği yönünde bilgilerin ulaşmasını sağlamıştır.

Patojenler ile mücadelede mikroorganizmalardaki QS mekanizmasının kontrol altına alınması QQ mekanizması ile QS mekanizmasında görev alan otoindükleyici moleküllerin inhibisyonunu temel almaktadır. Bu kapsamda QQ mekanizması hakkında birçok çalışma yapılmaktadır. Bu mekanizma hakkında çalışmaların ilerleyen yıllarda artmasıyla yeni QS mekanizmasını inhibe eden maddelerin gözleneceği düşünülmektedir.

Her ne kadar QS mekanizması sinyal moleküllerini engelleyen QQ mekanizması patojenlerin verdiği zararları engelleme konusunda umut verici olsa da mikroorganizmalarda stres yaratan bu çevresel koşullara karşı genetik mekanizmaların varlığı, onları bu etkileşimleri metabolik aktiviteleri ile dengelemek üzere evrimleşirebilir.

QS mekanizmasının sinyal moleküllerinin biyofilm, virülans etki, antibiyotik dirençliliği ve toksin üretimi dışında varsa başka fonksiyonları da olup olmadığı yönünde farklı çalışmalar kurgulanmalıdır. Buna ek olarak patojenlerin bilinenler ve çalışılanların dışında QS mekanizmasında kullanılan sinyal moleküllerinin varlığı da sorgulanmalıdır. Küfler ve mayalarda QS mekanizması tam olarak tanımlanmamış olması bu konuda çalışmaların çoğaltılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Özellikle QS ve QQ mekanizmalarıyla küflerde toksin sentezinin durdurulmasına yönelik elde edilecek veriler özellikle gıda ve tarım ürünlerindeki en önemli problemlerden biri olan mikotoksin problemlerinin çözümüne de katkı sunacaktır.

KAYNAKLAR

Affeldt, K. J., Brodhagen, M., Keller, P. N. 2012. *Aspergillus* oxylipin signaling and quorum sensing

pathways depend on G protein-coupled receptors. *Toxin*, 4: 695-717.

Almasoud, A., Hettiarachchy, N., Rayaprolu, S., Babu, D., Kwon, Y. M., Mauromoustakos, A. (2015). Inhibitory effects of lactic and malic organic acids on autoinducer type 2 (AI-2) quorum sensing of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium. *LWT - Food Sci Technol*, 66 (2016): 560-564.

Anbazhagan, D., Mansor, M., Yan, G. O. S., Yusof, M. Y. M., Hassan, H., Sekaran, D. S. (2012). Detection of quorum sensing signal molecules and identification of an autoinducer synthase gene among biofilm forming clinical isolates of *Acinetobacter* spp., *PLoS ONE*, 7(7): 1-12.

Amaral, G. R. S., Campeao, M. E. (2015). Finding diagnostic phenotypic features of *Photobacterium* in the genome sequences. *Antonie Leeuwenhoek*, 107: 1351-1358.

Arqués, J. L., Rodríguez, E., Langa, S., Landete, J. M., Medina, M. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens. *BioMed Res International*, 1-9.

Bacon, C. W., Hinton, D. M., Mitchell, T. R. (2017). Is quorum signaling by mycotoxins a new risk-mitigating strategy for bacterial biocontrol of *Fusarium verticillioides* and other endophytic fungal species? *J Agric. Food Chem.*, 65 (33): 7071-7080.

Barrios, A. F. G., Zuo, R., Hashimoto, Y., Yang, L., Bentley, W. E., Wood, T. K. (2006). Autoinducer 2 controls biofilm formation in *Escherichia coli* through a novel motility quorum-sensing regulator (MqsR, B3022). *J Bacteriol*, 188 (1): 305-316.

Barrios, G. F. A., Zuo, R., Hashimoto, Y., Yang, L., Bentley, W. E., Wood, T. K. (2006). Autoinducer 2 controls biofilm formation in *Escherichia coli* through a novel motility quorum-sensing regulator (MqsR, B3022). *J Bacteriol*, 188 (1): 305-316.

Barriuso, J., Hogan, D. A., Keshavarz, T., Martinez, M. J. (2018). Role of quorum sensing and chemical communication in fungal

- biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev*, 42(5): 627-638.
- Bhardwaj, A. K., Vinothkumar, K., Rajpara, N. (2013). Bacterial quorum sensing inhibitors: attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discov*, 8(1): 68-83.
- Blana, V., Georgomanou, A., Giaouris, E. (2017). Assessment of the effect of a *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium culture supernatant on the single-cell lag time of foodborne pathogens. *Food Control*, 80: 83-91.
- Bosgelmez-Tinaz, G. (2013). Disruption of bacterial cell-to-cell communication (quorum sensing): a promising novel way to combat bacteria-mediated diseases. *MÜSBED*, 3(3): 159-163.
- Chen, H., Fink, G. R. 2006. Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes Dev*, 20(9): 1150–1161.
- Chen, F., Gao, Y., Chen, X., Yu, Z., Li, X. (2013). Quorum quenching enzymes and their application in degrading signal molecules to block quorum sensing-dependent infection. *Int J Mol Sci*, 14:17477-17500.
- Deep, A., Chaudhary, U., Gupta, V. (2011). Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. *J Lab Phys*, 3(1): 4-11.
- Dong, Y., Wang, L., Zhang, L. (2007). Identification of quorum-quenching n-acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. *Appl Environ Microbiol*, 68(4): 1754-1759.
- Dong, Y., Wang, L., Zhang, L. (2007). Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implication. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 362: 1201-1211.
- Duanis-Assaf, D., Steinberg, D., Chai, Y., Shemesh, M. (2016). The Lux S based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Microbiol*. 6: 151.
- Duarter, A., Luis, A., Oleastro, M., Domingues, F. C. (2016). Antioxidant Properties of coriander essential oil and linalool and the irpotential to control *Campylobacter* spp.. *Food Control*, 61(2016): 115-122.
- Eberhard, A., Burlingame, A. L., Eberhard, C., Kenyon, G. L., Nealson, K. H., Oppenheimer, N. J. (1981). Structural identification of autoinducer of photobacterium fischeri luciferase. *Biochem*, 20(9): 2444-2449.
- Erzinger, G. S., Schmoeller, F., Pinto, L. H., Ame´rico1, L., Hemmersbach, R., Hauslage, J., H ¨ader, D. (2018). Bioluminescence systems in environmental biosensors. *Bioassays*, 241–262.
- Fuqua, W. C., Winans, S. C., Greenberg, E. P. (1994). Quorum Sensing in Bacteria: the LuxR-LuxI Family of Cell Density-Responsive Transcriptional Regulators. *J Bacteriol*, 176(2): 269-275.
- Grandclement, C., Tannieres, M., Morera, S., Dessaux, Y., Faure, D. (2016). Quorum Quenching: Role in Nature and Applied Developments. *FEMS Microbiol Rev*, 40: 86–116.
- Habyarimana, F., Sabag-Daigle, A., Ahmer, B. M. M. (2014). The SdiA-regulated gene *sygE* encodes a type III secreted effector. *J Bacteriol*, 196(12): 2301-2312.
- Hawver, L. A., Jung, S. A., Ng, W. (2016). Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. *FEMS Microbiol Rev*, 40(5): 738-752.
- Hegde, M., Englert, D. L., Schrock, S., Cohn, W. B., Vogt, C., Wood, T. K., Manson, M. D., Jayaraman, A. (2011). Chemotaxis to the Quorum-Sensing Signal AI-2 Requires the Tsr Chemoreceptor and the Periplasmic LsrB AI-2-Binding Protein. *J Bacteriol*, 193(3): 768–773.
- Hornby, J. M., Jensen, E. C., Lisec, A. D., Tasto, J. J., Jahnke, B., Shoemaker, R., Dussault, P., Nickerson, K. W. 2001. Quorum Sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol. *Appl Environ Microbiol*, 67(7): 2982-2992.
- Johansen, P., Jespersen, L. (2017). Impact of quorum sensing on the quality of fermented foods. *Curr Opin Food Sci*, 13:16-25.
- Johnson, J. G., Wang, B., Debelouchina, G. T., Novick, R. P., Muir, T. W. (2015). Increasing AIP

- macrocycle size reveals key features of agr activation in *Staphylococcus aureus*. *ChemBioChem*, 16: 1093–1100.
- Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnol Adv*, 31: 224–245.
- Karaboz, İ., Sukatar, A., (2004). Bakterilerde sosyal davranışlar (bakterilerde iletişim mekanizmaları). *Orlab On-Line Mikrobiyol Derg*, 2(5): 23-32.
- Kendal, M. M., Sperandio, V. (2014). Cell-to-cell signaling in *E. coli* and *Salmonella*. *EcoSal Plus.*, 6(1): 1-22.
- Kong, F. D., Zhou, L. M., Ma, Q. Y., Huang, S. Z., Wang, P., Dai, H. F., Zhao, Y. X. (2017). Metabolites with gram-negative bacteria quorum sensing inhibitory activity from the marine animal endogenous fungus *Penicillium* sp. SCS-KFD08. *Arch Pharm Res*, 40(1): 25-31.
- Kruppa, M. 2008. Quorum sensing and *Candida albicans*. *Mycoses*, 52: 1-10.
- Kumar, J. S., Umsha, S., Prasa, K. S., Niranjana, P. (2016). Detection of quorum sensing molecules and biofilm formation in *Ralstonia solanacearum*. *Curr Microbiol*, 72: 297–305.
- Litrenta, J., Oetgen, M. (2017). *Hafnia alvei*: a new pathogen in open fractures. *Trauma Case Rep*, 8: 41–45.
- Luciardi, M. C., Blazquez, M. A., Cartagena, E., Bardon, A., Arena, M. A. (2016). Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *LWT - Food Science and Technology*, 68: 373-380.
- Nguyen, Y., Nguyen, N. X., Rogers, J. L., Liao, J., MacMillan, J. B., Jiang, Y., Sperandio, V. (2015). Structural and mechanistic roles of novel chemical ligands on the SdiA quorum-sensing transcription regulator. *M Biol*, 6(2): 1-10.
- Okutsu, N., Morohosi, T., Xie, X., Kato, N., Ikeda, T. (2016). Characterization of *N*-acylhomoserine lactones produced by bacteria isolated from industrial cooling water systems. *Sensors*, 16(44): 1-9.
- O'Toole, G. A. (2016). Classic spotlight: quorum sensing and the multicellular life of unicellular organisms. *J Bacteriol*, 198(1): 601.
- Padder, S. A., Prasad, R., Shah, A. H. (2018). Quorum sensing: a less known mode of communication among fungi. *Microbiol Res*, 210: 51-58.
- Pereira, C. S., Regt, A. K., Brito, P. H., Miller, S. T., Xavier, K. B. (2009). Identification of functional LsrB-Like autoinducer-2 receptors. *J Bacteriol*, 191(22): 6975-6987.
- Pereira, C. S., Thompson, J. A., Xavier, K. B. (2012). AI-2-mediated signalling in bacteria. *FEMS Microbiol Rev.*, 37: 156–181.
- Raina, S., Odell, M., Keshavarz, T. 2010. Quorum sensing as a method for improving 643 sclerotiorin production in *Penicillium sclerotiorum*. *J. Biotechnol*, 148: 91-98.
- Rajasree, K., Fasim, A., Gopal, B. (2016). Conformational features of the *Staphylococcus aureus* agrA-promoter interactions rationalize quorum-sensing triggered gene expression. *Biochem Biophys Rep*, 6: 124-134.
- Rampioni, G., Leoni, L., Williams, P. (2014). The art of antibacterial warfare: deception through interference with quorum sensing-mediated communication. *Bioorg Chem*, 55: 60-68.
- Ray, V. A., Visick, K. L. (2012). LuxU connects quorum sensing to biofilm formation in *Vibrio fischeri*. *Mol Microbiol*, 86(4), 954–970.
- Rizzello, C. G., Filannino, P., Cagno, R., Calasso, M., Gobetti, M. (2014). Quorum-sensing regulation of constitutive plantaricin by *Lactobacillus plantarum* Strains under a model system for vegetables and fruits. *Appl Environ Microbiol*, 80(2): 777-787.
- Roux, A., Todd, D. A., Velazquez, J. V., Cech, N. B., Sonenshein, A. L. (2014). CodY mediated regulation of the *Staphylococcus aureus* Agr system integrates nutritional and population density signals. *J Bacteriol*, 196(6):1184-1196.
- Rutherford, S. T. and Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and

- possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, (2): 1-25.
- Sarfraz, S., Sahi, S. T., Rehman, A., Rajput, N. A., Alam, M. W., Hameed, A., Riaz, K. (2018). Antagonistic potential of *Bacillus* spp. associated with potato rhizosphere for controlling pectobacterium based infections in potato. Uluslar arası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi, 26-28 Ekim, Aydın, Türkiye.
- Schmidt, R., Etalo, D. W., Jager, V., Gerards, S., Zweers, H., Boer, W., Garbeva, P. 2016. Microbial small talk: volatiles in fungal–bacterial interactions. *Front Microbiol*, 6(1495): 1-12.
- Skandamis, P. N., Nychas, G. E. (2012). Quorum sensing in the context of food microbiology. *Appl Environ Microbiol*, 78(16): 5473-5482.
- Song, X., Qiu, H., Xiao, X., Cheng, Y., Li, W., Sheng, G., Li, X., Yu, H. (2014). Determination of autoinducer-2 in biological samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using pre-column derivatization. *J Chromatogr A*, 1361: 162–168.
- Tang, K., Zhang, X. (2014). Quorum quenching agents: resources for antivirulence therapy. *Mar Drugs*, 12: 3245-3282.
- Traber, K. E., Lee, E., Benson, S., Corrigan, R., Cantera, M., Shopsin, B., Novick, R. P. (2008). Agr function in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Microbiol*, 154: 2265-2274.
- Truchado, P., Larrosa, M., Castro-Ibanez, I., Allende, A. (2015). Plant food extracts and phytochemicals: their role as quorum sensing inhibitors. *Trends in Food Science & Technology*, 43: 189-204.
- Vasquez, J. K., Tal-Gan, Y., Cornilescu, G., Tyler, K. A., Blackwel, H. E. (2017). Simplified AIP-II peptidomimetics are potent inhibitors of *Staphylococcus aureus* AgrC quorum sensing receptors. *ChemBioChem*, 18(4): 413-423.
- Var, I., Sağlam, S. 2017. "Biofilm Structure of Foodborne Pathogens". Antimicrobial Research: Novel bioknowledge and educational programs Microbiology Book Series, No: 6-Formatex Research center. Edited by A.Mendez-Vilas. Printed in Spain. s.301-307.
- Wang, B., Zhao, A., Novick, R., Muir, T. W. (2014). Activation and inhibition of the receptor histidine kinase AgrC occurs through opposite helical transduction motions. *Mol Cell*, 53(6): 929–940.
- Wang, B., Zhao, A., Xie, Q., Olinares, P. D., Chait, B. T., Novick, R., Muir, T. W. (2017). Functional plasticity of the AgrC receptor histidine kinase required for Staphylococcal virulence. *Cell Mic Biol*, 24: 1-11.
- Wang, H., Tu, F., Gui, Z., Lu, X., Chu, W. (2013). Antibiotic resistance profiles and quorum sensing-dependent virulence factors in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Indian J Microbiol*, 53(2): 163–167.
- Wang, L., Li, J., March, J. C., Valdes, J. J., Bentley, W. E. (2005). *luxS*-Dependent gene regulation in *Escherichia coli* K-12 revealed by genomic expression profiling. *J Bacteriol*, 187(24): 8350–8360.
- Whitehead, N. A., Barnard, A. M. L., Slater, H., Simpson, N. J. L., Salmond, G. P. C. (2001). Quorum-sensing in gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 25: 365-404.
- Zan, J., Cicirelli, E. M., Mohamed, N. M., Sibhatu, H., Kroll, S., Choi, O., Uhlson, C. L., Wysoczinski, C. L., Murphy, R. C., Churchill, M. E. A., Hill, R. T., Fuqua, C. (2012). A complex Luxr–Luxi type quorum sensing network in a roseobacterial marine sponge symbiont activates flagellar motility and inhibits biofilm formation. *Mol Microbiol*, 85(5): 1-17.
- Zhang, Y., Qi, K., Jing, Y., Zuo, J., Hu, J., Lv, X., Chen, Z., Mi, R., Huang, Y., Yu, S., Han, X. (2017). LsrB-based and temperature-dependent identification of bacterial AI-2 receptor. *AMB Expr*, 7(188): 1-10.

BILDİRCİN NUGGET ÜRETİMİ VE DEPOLAMA STABİLİTESİNİN BELİRLENMESİ

Levent Gülüm¹, İlker Turan Akoğlu², Aylin Akoğlu^{3,*}

- ¹) Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mudurnu Süreyya Astarıcı Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Bolu, Türkiye
²) Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye
³) Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 10.05.2019; Kabul / Accepted: 06.09.2019; Online baskı / Published online: 11.10.2019

Gülüm, L., Akoğlu, İ. T., Akoğlu, A. (2019). Bildircin nugget üretimi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi. *GIDA* (2019) 44 (6): 954-968 doi: 10.15237/gida.GD19077

Gülüm, L., Akoğlu, İ. T., Akoğlu, A. (2019). *Quail meat nugget production and determination of storage stability. GIDA* (2019) 44 (6): 954-968 doi: 10.15237/gida.GD19077

ÖZ

Bu çalışmada bildircin nugget üretimi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada %75 bildircin eti ve %25 piliç eti kullanılarak nuggetlar (BN) üretilmiş, ardından 4°C ve -18°C'de depolanarak kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde BN örneklerinin su, yağ, protein ve kül içeriği sırasıyla, %55.97, %8.84, %16.17 ve %2.08 olarak tespit edilmiştir. Yağ asitleri bileşimine bakıldığında, en yüksek orana sahip yağ asitleri linoleik asit (%21.55), linolenik asit (%21.78) ve palmitik asit (%19.18) olarak belirlenmiştir. Soğuk depolamada kimyasal analizlerden pH, peroksit, sertlik-2, sakızimsılık, sıklık; duyu analiz parametrelerinde ise dış renk ve koku değerlerindeki değişiklikler istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Donmuş depolamada ise su aktivitesi, peroksit, sertlik-2, sakızimsılık, elastikiyet, çiğnenebilirlik, esneklik, sertlik-1 ve sıklık değerlerindeki değişimlerin istatistik olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). 4°C'deki 20 günlük depolama sonunda TMAB, TPAB ve toplam *Enterobacteriaceae* sayıları sırasıyla 5.70 ± 0.3 , 6.40 ± 0.1 ve < 1 log kob/g olarak bulunmuş, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* ise tespit edilmemiştir.

Anahtar kelimeler: Kanatlı eti, bildircin eti, nugget, üretim, depolama

QUAIL MEAT NUGGET PRODUCTION AND DETERMINATION OF STORAGE STABILITY

ABSTRACT

In this study it was aimed to produce quail nugget and to determine its storage stability. Nugget samples consisting of 75% quail meat and 25% chicken meat were produced and stored at 4°C and -18°C and physicochemical, microbiological and sensory analyzes were performed. In the analyzes, the moisture, fat, protein and ash content of BN samples were determined as 55.97%, 8.84%, 16.17% and 2.08% respectively. In the composition of fatty acids, the highest fatty acids were determined as linoleic acid (21.55%), linolenic acid (21.78%) and palmitic acid (19.18%). In cold storage, pH, peroxide, hardness-2, gum, tightness values in the chemical analysis; the external color and odor values in the sensory analysis were found to be statistically significant ($P < 0.05$). In frozen storage, water activity, peroxide, hardness-2, gum, elasticity, chewiness, elasticity, hardness-1 and tightness values were found to be statistically significant ($P < 0.05$). At the end of 20 days storage at 4°C, TMAB, TPAB and total *Enterobacteriaceae* numbers were found to be 5.70 ± 0.3 , 6.40 ± 0.1 and < 1 log cfu/g, respectively, and *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* were not detected.

Keywords: Poultry meat, quail meat, nugget, production, storage

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉ aylinakoglu@ibu.edu.tr

☎ (+90) 374 254 1000/4780

☎ (+90) 374 253 4557

GİRİŞ

“Kanatlı hayvan” terimi; ticari ya da hobi amaçlı olarak yetiştiriciliği yapılabilen tavuk, hindi, kaz, ördek, bıldırcın, sülün, keklük, deve kuşu, beç tavuğu ve güvercin gibi çok çeşitli kanatlı türlerini kapsamaktadır. Kanatlı hayvan yetiştiriciliği, dünyada üzerinde önemle durulan bir hayvansal üretim dalıdır (Akgün, 2006). Kanatlı hayvanlar, çıkımdan itibaren kısa sürede (40-45 gün) kesim olgunluğuna gelmeleri, her bölgeye uyum sağlamaları, karkas randımanlarının yüksek olması, üretim masraflarının düşük olması, jenerasyon sürelerinin kısa olması, et veriminin artırılmasına yönelik bilimsel çalışmalara hızla cevap verebilmeleri, civciv olarak kolay ve ucuz temin edilebilmeleri, her türlü yemi değerlendirebilmeleri ve bunların yanında; hazırlanma süresinin ve servisinin kolay olması, elzem besin öğelerinin birçoğuna sahip olması ve duyuşal özelliklerinin iyi olması nedenleriyle tercih edilmektedir (Anıl vd., 1995; Ergezer, 2005). Bu bağlamda kanatlı ürünleri, hem dünyada hem de ülkemizde ekonomik hayvansal protein kaynağını oluşturarak sürekli büyüme ve gelişme göstermektedir. Kanatlılar arasında önemli bir tür olan bıldırcınların üretimi ise hızlı bir şekilde artış göstermektedir (Maiorano vd., 2011; Şekeroğlu vd., 2013; Yıldırım ve Öztürk, 2013). Bıldırcın, piliçlere oranla; yetiştirilmesi için gerekli alanın daha düşük olması (Sarica vd., 2003), daha az yem tüketiminin olması (Nazlıgöl ve Bardakçioğlu, 2001; Laçın vd., 2007), çok kısa bir sürede eşeşsel olgunluğa erişmesi ve jenerasyon aralığının daha kısa olması (İnal, 2013; Çelik vd., 2014), hastalıklara ve ekstrem koşullara daha dayanıklı olması (Çelik vd., 2014) gibi bir takım avantajlara sahiptir. Bu özelliklerden dolayı, bıldırcın yetiştiriciliği piliç ve ördeğe kıyasla neredeyse aynı kâr marjına kıyasla çok daha düşük sermaye yatırımına ihtiyaç duymakta ve içerdiği zengin kaynaklar sayesinde üretiminin gerçekleştirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Nasar vd., 2016). Bıldırcın etinin lezzetli olması ve besleyicilik değerinden dolayı diyet programlarına uygunluğu, tüketicinin bu ürüne olan ilgisini artırmaktadır (Genchev vd., 2008). Bıldırcın, et kalitesi açısından (pH, renk ve doku), piliç etine benzemektedir. Ayrıca derisinde çok az yağ ve kolesterol içermesi nedeniyle de düşük

kolesterolünü korumak isteyen tüketiciler için ideal bir gıdadır (Nasar vd., 2016).

Ülke ekonomisi için stratejik bir öneme sahip olan kanatlı etleri ve ürünlerinin tüketimini artırmak amacıyla ürün çeşitliliğinin artırılması gerektiği öngörülmüş, et ve et ürünleri içerisinde ise kaplamalı ürünlerin tüketiminde artış eğiliminin olduğu belirtilmiştir. Tüketiciler için elde edilen ürünlerin damak zevkine hitap etmesinin yanında beslenme trendlerine de ayak uydurması açısından nugget, önemli bir çeşidi oluşturmaktadır (Güner, 2005). Bıldırcın, hâlihazırda birçok işletme tarafından yumurta üretimi için yetiştirilmekte ve piyasada bulunan bıldırcın etinin ise sadece bütün bıldırcın eti olarak satıldığı görülmektedir. Bıldırcının kaplamalı ürünler için kullanılan bir hammadde olması durumunda bu alanda talep edilen diğer gıdalar içerisine girebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada bıldırcın ve piliç etlerinin farklı oranlarda karıştırılması ile üretilen nuggetın, tüketime elverişliliğinin belirlenmesi ve bıldırcın etinin et ve et ürünleri sektörüne kazandırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla üretilen nuggetlar, soğuk ortamda ve dondurularak muhafaza edilmiş ve depolanmaları sürecinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal analizler yapılarak kalite değişimleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada materyal olarak Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü bünyesinde yetiştirilen Japon bıldırcınlarının but ve göğüs etlerinin karışımından elde edilen kıyma kullanılmıştır. Nugget üretiminde Erpiliç A.Ş.’de ticari piliç nugget üretimi için kullanılan piliç yağı, bitkisel sıvı yağ, bitkisel lifler (bambu, bezelye, buğday), tuz, baharat, stabilizör (sodyum polifosfat), ekmeş mayası ve renk maddeleri (annatto, kurkumin) gıda katkı maddeleri kullanılmıştır.

Yöntem

Farklı formülasyonlarda hazırlanan nuggetlar (bıldırcın ve piliç eti karışımı) eğitimli panelistler

tarafından duyuşal analize tabi tutulmuş ve asıl denemelerde kullanılacak olan nugget formülasyonu belirlenmiştir (Gülüm vd. 2016). Buna göre en beğenilen formülasyon olan %75 bildircin eti-%25 piliç eti kullanılarak nugget üretimi Erpiliç A.Ş.'nin İleri İşlenmiş Ürünler Bölümü'nde (Göynük-Bolu) gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde kontrol örneği olarak kullanılmak üzere %100 piliç etinden oluşan nugget üretimi de gerçekleştirilmiştir. Nuggetlar için firmanın verdiği raf ömürlerine istinaden; soğuk (4°C) depolama şartlarında 0., 5., 10., 15. ve 20. günlerde; donmuş (-18°C) depolama şartlarında ise 30., 60., 90., 120. günlerde fizikokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal Analizler

pH, su, protein, yağ, kül içeriği ölçümleri AOAC (1990)'a göre gerçekleştirilmiştir. Üründeki oksidatif bozulmaların belirlenmesi için yapılacak olan peroksit ve serbest yağ asitliği (SYA) analizlerinde kullanılmak amacıyla soğuk ekstraksiyonla üründeki yağ elde edilmiştir (Bligh ve Dyer, 1959) ve ardından elde edilen yağ örneklerinden peroksit (AOCS, 2003) ve SYA değerleri (AOAC, 1990) belirlenmiştir. Örnekte bulunan yağ asitlerinin tanımlanmasında 37 yağ asidi metil esteri karışımından oluşan standart kullanılmıştır (Jimenez vd., 2006). Nugget örneklerindeki lipit oksidasyonunun düzeyi, tiyobarbitürik asit (TBA) değeri analizi ile belirlenmiştir (Tarladgis vd., 1960). Nugget örneklerindeki su aktivitesi değerleri (a_w), AW LAB RTD-502 marka tayin cihazıyla ölçülmüştür (Ensoy, 2004; Çolak vd., 2011). Nugget örneklerinin kesit yüzeyi renk yoğunlukları, örneklerin yüzeyinden rastgele seçilen 3 farklı noktadan ölçüm yapılarak Minolta Chromameter CR300 kolorimetre cihazı kullanılarak belirlenmiştir (Hunt vd., 1991).

Tekstür Analizi

Nugget örneklerinde tekstür analizi, kesme analizi ve tekstür profili analizi (TPA) olmak üzere TA.HD. Plus Stable Micro Systems cihazı kullanılarak yapılmıştır. Pişmiş ürünler uygun bir tabla üzerine alınıp kesme analizi için 1.5 cm x 0.8 cm x 5 cm (genişlik x yükseklik x uzunluk)

boyutlarında; tekstür profili analizi (TPA) için ise 1.5 cm x 0.8 cm x 1.5 cm (genişlik x yükseklik x uzunluk) boyutlarında kesilmiştir. Kesme analizinde Warner Bratzler Shear bıçağı kullanılmıştır. Analizde test öncesi hız 2 mm/s, test hızı 2mm/s, test sonrası hız 10 mm/s olacak şekilde 5 kg'lık yük hücresi kullanılarak, 20 g'lık tetikleyici kuvvetle, bıçak ete değdikten sonra 3 cm kesme yapılmıştır. Her bir örneğin farklı noktalarından iki kesme yapılarak sıklık ve sertlik-1 değerleri saptanmıştır. TPA'da ise TPA P/100 probu kullanılmıştır. Analizde test öncesi hız 2 mm/s, test hızı 0.5 mm/s, test sonrası hız 5 mm/s olacak şekilde 5 kg'lık yük hücresi kullanılarak, 0.1 g'lık tetikleyici kuvvetle, prob ete değdikten sonra 4 s sıkıştırma yapılmıştır. Sıkıştırma işlemi örneklerin yüksekliklerinin yaklaşık % 30'u olacak şekilde art arda 2 kez gerçekleştirilmiş ve sertlik-2, iç yapışkanlık, elastikiyet, sakızimsılık, dış yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik değerleri elde edilmiştir (Bostan vd., 2001; Aylangan ve Vural, 2012).

Duyuşal Analizler

Duyuşal analizler depolama sırasında belirlenen kontrol günlerinde 12 kişilik deneyimli panelist ekibi tarafından yapılmıştır. Nugget örnekleri panelistlerce değerlendirilirken her grubun kendi içinde değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmış ve örnekler ayrı ayrı sunulmuştur. Nuggetlar kızgın tavada iki yönü 2-3 dk ısıtılarak tadımcılara sunulmuş ve analiz sırasında her bir örneğin tadımından sonra panelistlere su ve tuzsuz galeta tüketmeleri tavsiye edilmiştir (Kolsarıcı ve Candoğan, 1995). Duyusal değerlendirmede görünüş, renk, sululuk, koku, çiğnenebilirlik, lezzet ve genel beğeni özellikleri, 9'lu hedonik skala kullanılarak 1-9 arasında (9-Mükemmel, 8-Çok iyi, 7-İyi, 6-Orta derecede iyi, 5-Orta, 4-Orta derecede kötü, 3-Kötü, 2-Çok kötü, 1-Aşırı kötü) puanlamaya tabi tutulmuştur.

Mikrobiyolojik Analizler

Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB), Toplam Psikrofilik Aerobik Bakteri (TPAB) ve Toplam *Enterobacteriaceae* sayımı için; nugget örneklerinden steril ortamda 10 g tartılmış aseptik koşullarda 90 mL Maximum Recovery Diluent (MRD) içine aktararak 2 dk stomacher'da

(MAYO homogenius HG400) homojenize edilmiştir. Daha sonra örneklerde gerekli seyreltmeler yapılarak TMAB ve TPAB sayımı için Plate Count Agar (PCA) besiyerine, Toplam *Enterobacteriaceae* sayımı için Violet Red Bile Dextrose (VRBD) Agar besiyerine dökme şeklinde ekim yapılmıştır. TMAB sayımı için 30°C'de 24 saat inkübasyon, TPAB sayımı için ise 6.5°C'de 10 gün inkübasyon sağlanmış ardından ilgili dilüsyonlardan sayım yapılmıştır. Toplam *Enterobacteriaceae* sayımı için 37°C'de 24 saat inkübasyon yapılmış ve VRBD Agar besiyerinde 0.5–2 mm çaplı koyu kırmızı renkli koloniler *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri olarak sayılmıştır. Sonuçlar standart şekilde hesaplanarak kob/mL olarak verilmiştir (Halkman, 2005).

Salmonella spp. analizi için 25 g örnek 225 mL tamponlanmış peptonlu su içinde homojenize edilmiş ve ön zenginleştirme amacı ile 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Selektif zenginleştirme amacıyla 10 mL Rappaport Vassiliadis Soy (RVS) Brotha ön zenginleştirme kültüründen 0.1 mL eklenmiş ve 41,5±1°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı amaçla 10 mL Muller–Kauffmann Tetrathionate/Novobiocin Brotha ön zenginleştirme kültüründen 1 mL eklenmiş ve 37°C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra selektif zenginleştirme kültüründen Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar ve Brilliant Green Agar besiyerlerine öze ile ayrı ayrı sürme yapılmıştır ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan tipik kolonilere ileri tanımlama testleri (Triple Sugar Iron (TSI) Agar'da gelişme, Üre Broth'da gelişme, Lisin Iron Agar'da gelişme) uygulanarak doğrulama yapılmıştır (ISO 6579:2002, 2012).

Listeria monocytogenes analiz için 25 g örnek 225 mL Fraser Broth (yarım konsantre) besiyerinde stomacher kullanılarak homojenize edilerek 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu ön zenginleştirme kültüründen doğrudan ChromoCult *Listeria* Selective Agar (ALOA) ve/veya Palcam Agar selektif besiyerlerine sürme yapılmıştır. Ayrıca ön zenginleştirme kültüründen 10 mL Fraser Broth (tam konstare) besiyerine 0,1 mL aktararak 35-37°C'de 48 saat inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyonun 24 ve 48. saatlerinde ALOA ve/veya Palcam Agar besiyerlerine sürme yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. *Listeria* türleri öncelikle selektif katı besiyerlerinde oluşturdukları tipik koloniler ile tanımlanmıştır. Doğrulamanın ilk aşaması her Petriden *Listeria* şüpheli kolonilerin beşer tanesinin saflaştırma için Tryptic Soy Agar-Yeast Extract (TSYEA) besiyerinde kültüre alınarak, tipik *Listeria* kolonilerinin morfolojik olarak incelenmiş ardından katalaz, hemoliz, karbonhidrat fermentasyon testleri yapılarak doğrulama yapılmıştır (ISO 11290, 1996).

İstatistik Analiz

İki tekerrürlü olarak yapılan çalışmada her bir tekerrürde analizler en az üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve her bir analiz için, SPSS 20.0 paket programı kullanılarak istatistik olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizi tekniği (Anova) ile grup ortalamaları arasındaki fark belirlenmiş, bu farklılığın önem derecesi ise Tukey çoklu karşılaştırma testi yapılarak incelenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Örneklerin kimyasal bileşimi

Bıldırcın karışımı nugget (BN) ile piliç nugget (PN) örneklerinin su, yağ, ham protein, kül analizi sonuçları ve yağ asitleri bileşimi Çizelge 1'de verilmiştir. Buna göre BN örneklerinin daha yüksek su, protein ve daha düşük yağ ve kül içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. BN örneklerinin protein oranının yüksek, yağ oranının düşük olmasının tüketiciler için tercih sebebi olacağı düşünülmektedir. Ticari nugget örneklerinin kimyasal kompozisyonun araştırıldığı bir çalışmada örneklerin su, protein, yağ ve kül değerleri çalışmamızla uyumlu olarak sırasıyla %34.71-56.51, %12.52-16.62, %18.14-25.00, %1.20-1.58 olarak belirlenmiştir (Lukman vd. 2009). Yağ asitleri bileşimi analizinde BN ile PN örneklerinin sonuçları arasında farklılıkların olduğu, BN örneklerinde linolenik, stearik ve palmitik asitlerin PN'ye oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Örneklerin kimyasal bileşimi
Table 1. Chemical composition of samples

	BN (%)	PN (%)
Su İçeriği (<i>water content</i>)	55.97±0.88	54.87±0.35
Yağ İçeriği (<i>lipid content</i>)	8.84±0.37	9.61±0.17
Ham Protein İçeriği (<i>raw protein content</i>)	16.17±0.73	13.10±0.33
Kül İçeriği (<i>ash content</i>)	2.08±0.51	2.18±0.06
Yağ Asitleri (<i>fatty acids</i>)	BN (%)	PN (%)
Behenik asit (<i>Behenic acid</i>) (C22:0)	0.58	0.20
Oleik asit (<i>Oleic acid</i>) (C18:1)	10.38	32.15
Dokosadienoik asit metil ester (<i>Docosadienoic acid methyl ester</i>) (C22:2)	-	0.09
Heneikosanoik asit metil ester (<i>Henicosanoic acid methyl ester</i>) (C21:0)	-	0.05
Linoelaidik asit (<i>Linoleic acid</i>) (C18:2 Trans)	11.08	0.06
Linoleik asit (<i>Linoleic acid</i>) (C18:2 Cis)	21.55	46.54
Linolenik asit (<i>Linolenic acid</i>) (C18:3 Cis)	21.78	1.30
Miristik asit (<i>Myristic acid</i>) (C14:0)	0.21	0.23
Palmitik asit (<i>Palmitic acid</i>) (C16:0)	19.18	13.13
Palmitoleik asit (<i>Palmitoleic acid</i>) (C16:1)	1.52	1.56
Stearik asit (<i>Stearic acid</i>) (C18:0)	13.72	4.68

Kimyasal Analiz Bulguları

pH Değeri

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Soğuk depolamada BN örneklerindeki en yüksek pH değeri 6.45 olarak 20. günde, donmuş depolamada ise 6.44 olarak 60. günde gözlenmiştir. BN için her iki depolama sıcaklığında da depolamanın sonunda, başlangıç pH değerine göre bir artışın meydana geldiği, PN için ise başlangıç pH değerine göre bir azalmanın meydana geldiği tespit edilmiştir. BN'lerin soğuk depolanması boyunca PN'lerin ise soğuk ve donmuş depolanması boyunca başlangıç ve bitiş değerleri arasındaki farklılık istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Benzer şekilde Choudhary vd. (2019) bildircin nugget örneklerini 4 °C'de 20 gün boyunca depoladıkları çalışmalarında depolama sonunda pH değerinde önemli düzeyde bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. BN ile PN'nin depolama süresince pH değerleri arasındaki farklılık karşılaştırıldığında sadece donmuş depolamanın 60 ve 90. günlerdeki değişimlerin istatistik açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Depolamanın farklı günlerinde görülen bu pH değişikliklerinin, gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar ve mikroorganizma faaliyeti yanında üretimde kullanılan çeşitli katkı maddelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Serbest Yağ Asitliği Değeri

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait SYA değerleri Çizelge 3'te verilmiştir. Depolama süresi boyunca BN örneklerinin SYA değerindeki değişim istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Soğuk depolamada en yüksek SYA değeri, BN örneklerinde 2.95 % oleik asit olarak 20. günde; PN örneklerinde 3.15 % oleik asit olarak 15. günde tespit edilmiştir. Depolamanın 90. ve 120. günlerde BN örneklerinin SYA değerlerinin, PN örneklerinin SYA değerlerinden istatistik açıdan önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Kolsarıcı (2004) et ve et ürünlerinde SYA'nın, depolama boyunca hidrolize uğrayarak peroksitlere ve diğer ürünlere parçalanmaktayken bir kısmının da üründe birikerek miktarının arttığını, depolama sıcaklığının da SYA değerine etki etmekte olup sıcaklığın azalması ile SYA değerinin düştüğünü belirtmiştir. Bayrak (2011) da yapmış olduğu çalışmada, et ürünlerinde SYA değerinin depolama ile arttığını belirtmiştir.

Peroksit ve Tiyobarbitürik Asit Değerleri

Et ve et ürünlerinde lipit oksidasyonu sonucunda birincil ve ikincil reaksiyon ürünleri oluşur ve oluşan bu bileşenler de etin renk, aroma, lezzet, yapı ve aynı zamanda esansiyel yağ asitleri ve yağda eriyen vitaminlerinde kayba sebep olur. Sonuçta da raf ömründe azalma ve ileri düzeyde oksidasyon oluşumunda da toksik bileşikler

oluşur. Birincil oksidasyon düzeyinin tespit edilmesi için peroksit değerinin, ikincil oksidasyon düzeyinin tespit edilmesi için ise TBA değerinin

belirlenmesi en yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Demirkaya, 2013).

Çizelge 2. Örneklerin depolama boyunca pH değerleri

Table 2. pH values of samples during storage

Depolama sıcaklığı Storage temperature	Depolama süresi (gün) Storage time (days)	BN	PN	P
4 °C	0	6.33 ^{bc} ±0.05	6.54 ^a ±0.01	0.219
	5	6.29 ^c ±0.01	6.38 ^b ±0.03	0.145
	10	6.37 ^{abc} ±0.01	6.52 ^a ±0.01	0.609
	15	6.43 ^{ab} ±0.01	6.46 ^{ab} ±0.02	0.089
	20	6.45 ^a ±0.03	5.96 ^c ±0.08	0.172
	P	0.014	0.00	
-18 °C	30	6.36 ^{bc} ±0.01	6.60 ^b ±0.05	0.100
	60	6.44 ^{Aa} ±0.00	6.70 ^{Ba} ±0.03	0.026
	90	6.32 ^{Ac} ±0.01	6.59 ^{Bb} ±0.03	0.043
	120	6.39 ^{ab} ±0.03	6.47 ^c ±0.01	1.000
	P	0.008	0.000	

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Çizelge 3. Örneklerin depolama boyunca SYA değerleri

Table 3. FFA values of samples during storage

Depolama sıcaklığı Storage temperature	Depolama süresi (gün) Storage time (days)	BN	PN	P
4 °C	0	2.35±0.33	2.27 ^b ±0.09	0.334
	5	2.29±0.18	2.16 ^b ±0.02	0.096
	10	2.27±0.16	2.30 ^b ±0.29	0.101
	15	2.51±0.26	3.15 ^a ±0.22	0.704
	20	2.95±0.43	2.89 ^a ±0.29	0.911
	P	0.249	0.00	
-18 °C	30	3.01±0.36	2.32 ^a ±0.24	0.943
	60	2.44±0.39	2.18 ^{ab} ±0.03	0.155
	90	2.96 ^A ±0.03	1.75 ^{Bb} ±0.24	0.038
	120	3.09 ^A ±0.10	2.37 ^{Ba} ±0.26	0.027
	P	0.211	0.029	

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait TBA değerleri Çizelge 4'te verilmiştir. Depolama süreci boyunca BN örneklerinde, TBA değerindeki değişim istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Diğer taraftan Choudhary vd. (2019), bıldırcın nugget

örneklerinin 4° C'de 20 günlük depolama sonucundan TBA değerinde önemli bir artış olduğunu belirlemişler ve bu artışın sebebinin ambalaj materyalinin oksijen geçirgenliği ile ilgili olabileceğini ifade etmişlerdir. Çizelge 4'te TBA değerlerinde bazı artış ve azalışların olduğu

görülmektedir. TBA değerinde ki mevcut artış ve azalışların sebebinin ise oksidasyon ara ürünlerinin farklılaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Rinaldi vd. (2014), TBA değerinde artış ve azalışların olmasını oksidasyon bileşenlerinin yüksek derecede reaktif olması sonucu etteki protein ve aminoasit gibi bileşenlerle reaksiyona girerek miktarlarının değişmesinden kaynaklandığını bildirmiştir. Demirkaya (2014), TBA değerinde görülen artış

ve azalışların hidrojen peroksitlerin yapısında bulunan malonaldehitin stabil olmayan yapısından kaynaklandığını belirtmiş, yine hammadde ve/veya üretim tekniklerindeki farklılıklardan ve depolama şartlarından kaynaklı bazı farklılıklar olabileceğini de bildirmiştir. BN ile PN örneklerinin TBA değerindeki değişimlerin karşılaştırılmasında, yalnızca 15. günde PN'lerin önemli düzeyde yüksek TBA değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 4. Örneklerin depolama boyunca TBA değerleri (mg malonaldehit / kg örnek)

Table 4. TBA values of samples during storage (mg malonaldehyde / kg sample)

Depolama sıcaklığı <i>Storage temperature</i>	Depolama süresi (gün) <i>Storage time (days)</i>	BN	PN	P
4 °C	0	1.37±0.14	2.05 ^b ±0.39	0.088
	5	1.62±0.45	1.22 ^c ±0.03	0.147
	10	1.30±0.07	2.16 ^b ±0.15	0.103
	15	1.48 ^A ±0.01	2.53 ^{Bab} ±0.13	0.021
	20	1.59±0.06	2.74 ^a ±0.09	0.343
	P	0.564	0.00	
-18 °C	30	1.64±0.22	1.25 ^a ±0.06	0.353
	60	1.38±0.09	1.12 ^b ±0.03	0.298
	90	1.55±0.08	1.04 ^b ±0.04	0.709
	120	1.65±0.15	0.90 ^c ±0.06	0.996
	P	0.302	0.000	

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait peroksit değerleri Çizelge 5'te verilmiştir. Her iki depolama boyunca örneklerin başlangıç ve bitiş peroksit değerindeki değişim istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Buna ilave olarak her iki nugget örneğinin peroksit değerinin soğuk depolamada arttığı, donmuş depolamada ise azaldığı tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca BN ve PN örneklerinin peroksit değerindeki değişimler kıyaslandığında sadece 5. günde PN'deki yüksek peroksit değerinin istatistik açıdan önemli olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Kolsarıcı (2004) et ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunun primer ürünlerinden hidroperoksitlerin oksidasyonunun göstergesi olduğunu ve bu değerlerin de depolama sıcaklığına bağlı olarak değişebileceğini belirtmiştir.

Su Aktivitesi Değeri

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait a_w değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Et ve et ürünlerinde mikroorganizmaların yaşama ve çoğalması a_w değeri ile yakından ilişkilidir. Depolama ile a_w değerinde düşüşlerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. BN ve PN örnekleri arasındaki farklılığa bakıldığında a_w değerlerinin soğuk depolama ve donmuş depolama boyunca istatistik açıdan önemli bir değişim göstermediği tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Donmuş depolamadaki BN örneklerinin başlangıç ve bitiş a_w değerindeki değişim istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Ancak donmuş depolamadaki PN örneklerindeki değişim istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Çizelge 5. Örneklerin depolama boyunca peroksit değerleri (meq O₂/kg yağ)
 Table 5. Peroxide values of samples during storage (meq O₂/kg lipid)

Depolama sıcaklığı Storage temperature	Depolama Süresi (gün) Storage time (days)	BN	PN	P
4 °C	0	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^d ±0.00	-
	5	0.00 ^{Ab} ±0.00	7.33 ^{Bc} ±0.11	0.016
	10	15.83 ^a ±4.56	24.71 ^b ±0.32	0.151
	15	21.95 ^a ±0.22	27.10 ^a ±1.15	0.068
	20	22.56 ^a ±1.42	23.75 ^b ±0.59	0.564
	P	0.000	0.000	
-18 °C	30	22.59 ^a ±3.79	18.93 ^a ±1.46	0.502
	60	16.90 ^{ab} ±0.11	14.10 ^b ±0.19	0.118
	90	11.61 ^b ±1.31	14.33 ^b ±0.65	0.742
	120	9.21 ^b ±1.80	14.70 ^b ±1.81	0.384
	P	0.013	0.004	

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Çizelge 6. Örneklerin depolama boyunca su aktivitesi değerleri

Table 6. a_w values of samples during storage

Depolama sıcaklığı Storage temperature	Depolama Süresi (gün) Storage time (days)	BN	PN	P
4 °C	0	0.95±0.00	0.96±0.01	0.561
	5	0.95±0.00	0.95±0.01	0.116
	10	0.95±0.00	0.94±0.01	0.561
	15	0.96±0.01	0.95±0.01	0.184
	20	0.95±0.00	0.95±0.02	0.184
	P	0.360	0.264	
-18 °C	30	0.95 ^a ±0.01	0.95±0.01	0.184
	60	0.93 ^{ab} ±0.00	0.94±0.00	0.116
	90	0.94 ^{ab} ±0.00	0.95±0.01	0.561
	120	0.93 ^b ±0.01	0.94±0.01	0.116
	P	0.049	0.363	

a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Tekstür Analizi

Etin tekstürü müşteriler tarafından etin kabul edilebilirliğinde etkili bir parametre olması nedeniyle et ürünlerinde oldukça önem arz etmektedir (Ertaş ve Doğruer, 2010). Her iki depolama süresi boyunca BN ve PN örneklerine ait TPA ve kesme analizi değerleri Çizelge 7'de verilmiştir. BN örneklerinin soğuk depolamada sertlik-2, sakızimsılık, çiğnenebilirlik ve sıklık değerlerindeki değişikliklerin istatistik açıdan önemli olduğu ($P < 0.05$); donmuş depolanan örneklerde ise sertlik-1, sertlik-2, elastikiyet,

sakızimsılık, çiğnenebilirlik, sıklık ve esneklik değerleri arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). PN örneklerinde ise soğuk depolamada sertlik-1 ve sıklık değerleri dışında TPA değerindeki değişimler istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$); donmuş depolamada ise sertlik-1, sertlik-2, dış yapışkanlık, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, sıklık ve esneklik değerlerindeki değişimlerin istatistik açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 7. Örneklerin depolama boyunca tekstür analiz sonuçları
 Table 7. Texture analysis results of samples during storage

DS (gün) ST (days)	Sertlik-2 (N/cm ²) Hardness		İç Yapışkanlık Adhesiveness		Elastikiyet (cm) Springiness		Dış Yapışkanlık Cohesiveness		Sakızimsılık Gumminess		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	4254.9 ^A ab±748.6	2868.5 ^B ±36.9	-12.37 ±6.9	-19.79 ±0.6	0.77 ^A ±0.00	0.71 ^B ±0.01	0.69 ±0.02	0.71 ±0.01	2918.3 ^A ab±438.9	2032.3 ^B ±0.7
	5	4021.6 ^A ab±69.9	3035.2 ^B ±320.4	-11.39 ±2.3	-37.53 ±7.9	0.75 ±0.01	0.76 ±0.06	0.71 ^A ±0.01	0.76 ^B ±0.03	2861.1 ^A ab±210.6	2306.7 ±156.3
	10	3914.3 ^A ab±87.5	2937.0 ^B ±344.4	-14.01 ^A ±6.7	-38.49 ^B ±8.5	0.75 ±0.02	0.75 ±0.04	0.71 ^A ±0.01	0.77 ^B ±0.02	2761.4 ^A ab±187.2	2250.2 ^B ±230.2
	15	3035.1 ^b ±298.9	3050.8 ±314.2	-6.28 ^A ±1.6	-33.85 ^B ±18.9	0.77 ±0.03	0.76 ±0.06	0.68 ^A ±0.00	0.75 ^B ±0.01	2080.1 ^b ±199.9	2289.9 ±247.3
	20	4951.8 ^{Aa} ±228.7	2438.3 ^B ±140.3	-17.45 ^A ±2.4	-30.24 ^B ±14.1	0.75 ±0.03	0.77 ±0.09	0.69 ^A ±0.02	0.74 ^B ±0.03	3402.4 ^A ±225.3	1821.2 ±1088.5
	P	0.044	0.797	0.316	0.355	0.800	0.669	0.196	0.069	0.035	0.738
	-18 °C	30	3601.2 ^{Aa} ±163.9	2679.1 ^{Ba} ±237.2	-16.95 ±10.3	-2.31 ±0.1	0.74 ^b ±0.0	0.76 ±0.0	1.72 ±0.0	0.67 ^c ±0.02	2592.1 ^a ±47.0
60		3303.9 ^a ±63.6	2441.8 ^a ±380.3	-16.06 ±9.9	-2.16 ±0.1	0.75 ^{ab} ±0.0	0.75 ±0.0	0.70 ±0.0	0.71 ^b ±0.00	2322.6 ^A ab±53.2	1730.0 ^B ab±276.7
90		2508.1 ^{Ab} ±277.3	1273.6 ^{Bb} ±40.7	-1.32 ±0.4	-1.71 ±0.4	0.80 ^{Ab} ±0.0	0.72 ^B ±0.0	0.74 ^A ±0.0	0.79 ^{Ba} ±0.01	1857.3 ^A bc±257.9	1001.3 ^B c±22.0
120		2298.2 ^{Ab} ±77.2	1791.4 ^{Bb} ±608.9	-3.09 ±0.9	-2.10 ±0.2	0.78 ^{Aab} ±0.0	0.76 ^B ±0.0	0.74 ±0.00	0.74 ^B ±0.0	1694.8 ^{Ac} ±54.3	1321.7 ^B bc±51.7
P		0.004	0.000	0.186	0.051	0.042	0.678	0.225	0.00	0.008	0.002

DS (gün) ST (days)	Çiğnenbilirlik Chewiness		Sertlik-1 Değeri (g.s) Toughness		Sıklık Değeri (g) Firmness		Esneklik Resilience		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	2242.6 ^{Aab} ±354.8	1434.8 ^B ±28.7	7812.6 ^A ±1077.9	5721.3 ^{Bc} ±7.8	882.7 ^{ab} ±199.4	699.5 ^b ±6.0	0.37 ±0.01	0.38 ±0.01
	5	2158.8 ^{Aab} ±180.1	1754.5 ^B ±148.7	6042.5 ±549.5	6492.2 ^{bc} ±559.2	676.1 ^{Ab} ±2.9	789.2 ^{Bab} ±56.6	0.38 ±0.14	0.43 ±0.04
	10	2073.1 ^{Aab} ±182.5	1688.7 ^B ±158.4	8721.3 ±1164.6	7445.2 ^{ab} ±890.5	965.9 ^{Aab} ±132.9	761.5 ^{Bab} ±80.1	0.39 ±0.01	0.42 ±0.02
	15	1592.6 ^b ±109.3	1733.3 ±87.5	8890.8 ±563.8	8225.9 ^a ±317.3	1128.7 ^{Aa} ±58.3	909.6 ^{Ba} ±18.8	0.38 ^A ±0.02	0.41 ^B ±0.00
	20	2565.0 ^a ±269.2	1457.0 ±993.07	9321.1 ±544.9	7525.3 ^{ab} ±393.4	1092.4 ^{Aab} ±16.3	879.5 ^{Ba} ±73.9	0.39 ±0.01	0.39 ±0.02
	P	0.066	0.841	0.055	0.001	0.046	0.005	0.612	0.103
	-18 °C	30	1919.8 ^a ±49.7	1370.1 ^a ±239.4	6205.3 ^b ±600.3	5044.5 ^a ±289.1	676.4 ^{bA} ±87.6	515.9 ^{aB} ±41.6	0.26 ^{Ab} ±0.0
60		1742.7 ^{ab} ±44.6	1295.0 ^a ±253.7	6336.8 ^{ab} ±926.4	3980.3 ^{Bb} ±252.6	721.3 ^{Aab} ±94.2	418.0 ^{Bb} ±27.2	0.39 ^{Aa} ±0.0	0.37 ^{Bc} ±0.0
90		1486.6 ^{Ab} ±211.0	723.8 ^{Bb} ±12.1	8156.2 ^{Aa} ±322.9	4711.9 ^{Bab} ±33.3	875.4 ^{Aa} ±54.1	489.15 ^{Bab} ±13.6	0.41 ^{Aa} ±0.0	0.44 ^{Ba} ±0.0
120		1325.1 ^{Ab} ±46.4	1000.4 ^{Bab} ±56.8	7912.3 ^{Aa} ±715.4	4908.0 ^{Ba} ±25.9	877.6 ^{Aa} ±140.7	505.62 ^{Ba} ±20.5	0.40 ^a ±0.1	0.39 ^b ±0.0
P		0.021	0.007	0.000	0.007	0.003	0.010	0.000	0.000

DS: Depolama süresi (gün); a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

ST: Storage time (days); a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Renk Analiz Bulguları

İleri işlenmiş ürünlerde istenen renk; hammadde, kullanılan kaplama materyali, pişirme yöntemi, üretimde kullanılan katkı maddeleri, kızartma yağının sıcaklığı, çeşidi, kullanım süresi ya da sıklığı gibi etkilere bağlıdır (Gökçe vd., 2016). Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri Çizelge 8'de verilmiştir. BN örneklerinin soğuk depolama ve donmuş depolama boyunca L^* , a^* ve b^* değerlerindeki farkların istatistik açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Bu farklılığın üretimde kullanılan et türünün farklı olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. BN ve PN örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerleri karşılaştırıldığında L^* değerinin soğuk depolamanın 5. gününde, a^* değerinin soğuk depolamanın 0. ve 15. gününde, b^* değerinin soğuk depolamanın 0., 5. ve 20. gününde gösterdiği farklılıkların istatistik açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Hem pigmenti, myoglobini, demir ve a^* değeri arasında pozitif bir

korelasyon bulunmaktayken hem pigmenti, myoglobini, demir ve L^* değeri arasında negatif bir korelasyon bulunmaktadır (Boulianne ve King, 1995). Çeşitli kaynaklarda bıldırcın etinde bulunan demir miktarının piliç etine oranla daha fazla olduğu belirtilmektedir. Buna göre çalışma ile paralel bir şekilde BN'lerde L^* değerinin daha düşük; a^* değerinin ise PN'ye göre daha yüksek rakamlarda olduğu görülmektedir. Bayrak (2011) lipit oksidasyonunun ilerlemesine bağlı olarak pigment oksidasyonunun arttığını böylece de b^* değerlerinin azaldığını belirtmektedir. Lukman vd. (2009) ticari nugget örneklerinin fizikokimyasal özelliklerini araştırdığı çalışmasında farklı markalara ait nugget örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerlerini sırasıyla 64.38-68.41, 0.51-3.51 ve 16.46-19.35 olarak belirlemiştir. Çalışmamızda BN'ye ait a değerlerinin Lukman vd. (2009)'da verilen değerlerin üzerinde, b değerinin ise aynı çalışmadaki değerlerin altında kaldığı görülmektedir.

Çizelge 8. Örneklerin depolama boyunca L^* , a^* , b^* değerleri

Table 8. L^* , a^* , b^* values of samples during storage

DS (gün) ST (days)	Renk değerleri Color value						
	L^*		a^*		b^*		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	64.74±0.68	75.24±1.22	5.25 ^A ±0.08	1.17 ^{Bb} ±0.84	15.49 ^A ±0.11	15.09 ^B ±1.50
	5	62.82 ^A ±0.32	76.96 ^B ±2.19	5.45±0.30	2.14 ^{ab} ±0.15	15.72 ^A ±0.40	16.03 ^B ±1.07
	10	64.64±0.31	75.42±0.54	5.57±0.16	2.37 ^a ±0.08	15.95±0.54	16.67±0.45
	15	63.27±1.79	74.04±1.62	5.42 ^A ±0.10	1.97 ^{Bab} ±0.35	14.83±0.46	15.82±0.21
	20	64.49±0.05	75.84±0.32	5.74±0.00	2.55 ^a ±0.15	15.22 ^A ±0.23	15.00 ^B ±0.77
	P	0.228	0.207	0.154	0.020	0.156	0.225
-18 °C	30	64.45±2.47	76.84 ^b ±0.85	4.97±0.06	1.08 ^b ±0.05	15.30±0.28	16.19 ^b ±0.14
	60	64.90±0.42	76.69 ^b ±0.63	5.07±0.37	1.03 ^b ±0.24	15.90±0.42	16.05 ^b ±0.06
	90	65.80±0.28	77.23 ^{ab} ±0.13	4.93±0.18	1.46 ^a ±0.10	15.75±0.21	16.29 ^b ±0.31
	120	65.70±0.28	78.31 ^a ±0.27	5.06±0.34	0.78 ^b ±0.04	15.85±0.63	17.12 ^a ±0.16
	P	0.691	0.026	0.929	0.002	0.537	0.000

DS: Depolama süresi (gün); a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

ST: Storage time (days); a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Duyusal Analiz Bulguları

Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait duyusal analiz değerleri Çizelge 9'da verilmiştir. BN örneklerinde soğuk depolama süresince yapılan duyusal analizlerde dış renk ve koku

puanlarındaki değişimin istatistik açıdan önemli olduğu ($P < 0.05$) ancak görünüş, iç renk, sululuk, çiğnenebilirlik, lezzet ve genel beğeni puanlarındaki değişimlerin istatistik açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$). Choudhary vd.

(2019) ise çalışmalarında 4°C’de 20 gün boyunca depolanan bildircin nugget örneklerinin genel beğeni puanının 7.28 ± 0.03 ’ten 5.62 ± 0.05 ’e düştüğü ve önemli düzeyde bir azalış gösterdiğini bildirmiştir ($P < 0.05$) Donmuş depolamada ise duyu analiz parametrelerindeki değişimlerin istatistik açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). BN ve PN örnekleri karşılaştırıldığında ise bazı farklılıklar tespit edilmiştir. BN ve PN örneklerinin görünüş puanı karşılaştırıldığında; soğuk depolamanın 10. günü ile donmuş depolamanın 120. gününde, koku puanı karşılaştırıldığında soğuk depolamanın 10 ve 20. gününde, lezzet puanı karşılaştırıldığında soğuk depolamanın 5, 10 ve 20. gününde, genel beğeni

puanı karşılaştırıldığında ise soğuk depolamanın 0, 5, 10 ve 20. günlerdeki farklılıkların istatistik açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Soğuk depolamada BN örneklerinin başlangıç dış renk puanının 5. günde önemli oranda düştüğü ($P < 0.05$) ardından 10. günde önemli oranda arttığı ($P < 0.05$) ve sonrasındaki değişimin istatistik açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0.05$). Soğuk depolamada BN örneklerinin koku puanlarında başlangıca göre 10. gündeki artış istatistik açıdan önem taşırken sonrasında soğuk depolamanın son gününe kadarki değişimlerin istatistik açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$).

Çizelge 9. Örneklerin depolama boyunca duyu analizi sonuçları

Table 9. Sensory analysis values of samples during storage

DS (gün) ST (days)	Görünüş Appearance		İç Renk Inner color		Dış Renk Outside color		Sululuk Juicy		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	6.39 ± 1.15	7.58 ± 0.51	4.87 ± 1.35	7.58 ± 0.51	5.97 ^{ab} ± 1.14	7.92 ± 0.79	6.24 ± 1.32	6.83 ± 1.11
	5	6.63 ± 1.01	6.33 ± 1.72	5.67 ± 1.58	7.42 ± 1.31	5.38 ^b ± 1.38	7.75 ± 1.36	6.00 ± 1.47	6.17 ± 1.53
	10	6.83 ^A ± 0.99	6.42 ^B ± 1.68	5.27 ± 1.62	6.75 ± 1.66	6.70 ^a ± 1.37	7.33 ± 1.67	6.47 ± 1.36	6.58 ± 1.78
	15	6.63 ± 1.06	7.08 ± 1.16	5.79 ± 1.06	7.67 ± 0.89	6.50 ^a ± 1.14	8.17 ± 1.19	6.21 ± 1.28	6.25 ± 1.22
	20	6.04 ± 1.78	5.67 ± 2.10	5.13 ± 2.07	6.00 ± 2.49	6.67 ^a 1.34	6.92 ± 2.35	5.75 ± 1.96	6.33 ± 1.72
	P	0.174	0.037	0.144	0.050	0.001	0.320	0.474	0.809
	-18 °C	30	6.21 ± 1.81	7.17 ± 1.40	5.13 ± 2.07	7.83 ± 1.19	6.67 ± 1.34	8.00 ± 1.60	5.75 ± 1.96
60		5.54 ± 2.35	7.83 ± 1.03	6.11 ± 1.45	7.75 ± 1.06	6.29 ± 1.67	8.08 ± 1.16	5.96 ± 1.69	7.00 ± 0.95
90		6.31 ± 1.09	6.92 ± 1.08	5.70 ± 1.19	7.25 ± 1.60	6.50 ± 1.68	7.50 ± 1.45	6.08 ± 1.60	6.58 ± 1.51
120		6.71 ^A ± 1.20	7.00 ^B ± 1.54	5.96 ± 1.27	7.67 ± 1.15	6.33 ± 1.52	7.67 ± 1.15	6.17 ± 1.66	7.17 ± 1.19
P		0.101	0.298	0.117	0.684	0.820	0.686	0.853	0.583

DS: Depolama süresi (gün); a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

ST: Storage time (days); a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Çizelge 9. Örneklerin depolama boyunca duyu analizi sonuçları (devam)
 Table 9. Sensory analysis values of samples during storage (continued)

DS (gün) ST (days)	Koku Smell		Çiğnenebilirlik Chewiness		Lezzet Flavour		Genel beğeni General taste		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	5.71 ^b ±1.54	6.58 ±1.00	6.87 ±1.34	7.33 ±0.89	6.47 ±1.39	7.58 ^b ±0.51	6.39 ^A ±1.15	7.58 ^{Ba} ±0.51
	5	6.33 ^{ab} ±1.37	6.92 ±1.56	7.04 ±0.95	6.42 ±1.44	6.46 ^A ±1.22	6.00 ^{Bab} ±1.54	6.63 ^A ±1.01	6.33 ^{Bab} ±1.72
	10	6.87 ^{Aa} ±1.17	6.33 ^B ±1.56	6.93 ±1.70	5.83 ±1.85	6.87 ^A ±1.20	6.33 ^{Bab} ±1.92	6.83 ^A ±0.99	6.42 ^{Bab} ±1.68
	15	7.00 ^a ±1.14	7.25 ±1.76	6.75 ±1.36	6.92 ±1.38	6.71 ±1.08	6.91 ^{ab} ±1.31	6.63 ±1.06	7.08 ^{ab} ±1.16
	20	6.17 ^{Aab} ±1.71	5.67 ^B ±1.67	6.54 ±1.86	5.92 ±1.78	6.00 ^A ±1.91	5.25 ^{Ba} ±2.38	6.04 ^A ±1.78	5.67 ^{Bb} ±2.10
	P	0.002	0.132	0.799	0.082	0.220	0.014	0.174	0.037
	-18 °C	30	6.17 ±1.71	6.92 ±1.68	6.54 ±1.86	7.17 ±1.64	6.00 ±1.91	7.17 ±1.75	6.04 ±1.78
60	6.79 ±1.55	7.58 ±0.90	7.32 ±1.33	7.75 ±1.76	7.04 ±1.45	7.75 ±1.13	6.93 ±1.39	7.83 ±1.03	
90	5.92 ±1.47	6.00 ±1.71	6.81 ±1.74	7.25 ±1.29	6.77 ±1.31	7.00 ±1.28	6.77 ±1.24	6.92 ±1.08	
120	6.67 ±1.31	6.67 ±1.61	7.04 ±1.37	7.25 ±1.54	6.92 ±1.32	6.92 ±1.68	6.92 ^A ±1.21	7.00 ^B ±1.29	
P	0.135	0.096	0.339	0.792	0.076	0.517	0.097	0.298	

DS: Depolama süresi (gün); a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

ST: Storage time (days); a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

TMAB ve TPAB sayıları nugget gibi pişirilmiş et ürünlerinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde önemli kriterlerdir. İleri işleme sırasındaki kaplama işlemi bakteriyel bozulmayı yavaşlatmakta, kızartma işlemi ise mikroorganizmaların gıdalarda varlığını azaltmakta ve son olarak ön pişirme işlemi de raf ömrünü uzatmaktadır (Çankırılıgil ve Berik 2016). Depolama süresince BN ve PN örneklerine ait mikrobiyolojik analiz bulguları Çizelge 10'da verilmiştir. Soğuk depolanan BN örneklerindeki en yüksek TMAB sayısı 5.70 log kob/g, TPAB sayısı 6.40 log kob/g, toplam *Enterobacteriaceae* sayısı < 1 ; PN örneklerinde ise TMAB sayısı 8.02 log kob/g, TPAB sayısı 8.90 log kob/g ve toplam *Enterobacteriaceae* sayısı 5.12 log kob/g olarak 20. günde gözlenmiştir. Donmuş depolamanın 120. gününde hem BN hem de PN örneklerinde TMAB, TPAB ve toplam *Enterobacteriaceae* sayısı < 1 olarak tespit edilmiştir. *Salmonella* spp. ve

Listeria monocytogenes ise her iki örnekte de tespit edilmemiştir. Benzer olarak Yavaş vd. (2008) piliç etinden üretilen kaplamalı ürünlerde raf ömrü boyunca meydana gelen değişimlerin incelendiği bir çalışmada kontrol grubu piliç nuggetlarda 21 günlük depolama boyunca en yüksek TMAB değerini 6.18 log kob/g olarak 21. günde olduğunu tespit etmiştir.

SONUÇ

Çalışmada nugget üretimi ile hem yeni bir ürün üretilmiş hem de bıldırcın etinin değeri artırılmaya çalışılmıştır. BN örnekleri; soğuk depolamada pH, SYA, su aktivitesi; duyu özelliklerinden iç renk ile mikrobiyolojik özelliklerden TMAB, TPAB, toplam *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* ve *Listeria* varlığı açısından PN analiz sonuçları ile istatistik açıdan önemli olmayan farklılıklar göstermiştir. Donmuş depolamada ise, su aktivitesi, TBA ve peroksit değeri; enstrümantal renk değerlerinden Hunter L^* , a^* ve b^* ; duyu özelliklerinden iç renk,

dış renk, sululuk, çiğnenebilirlik, koku ve lezzet analizi sonuçları açısından PN analiz sonuçları ile istatistik açıdan önemli olmayan farklılıklar göstermiştir. BN'nin PN ile benzer fizikokimyasal, tekstürel ve duyuşsal özellikler göstermesi, piyasaya sunulması durumunda, kabul edilebilirliği yüksek bir ürün olduğunu göstermektedir. Hatta BN'nin depolanması boyunca acılaşıma göstergesi olan peroksit ve TBA gibi değerlerinin PN'ye göre daha da düşük olması, duyuşsal analizde genel beğeni puanının PN'ye göre önemli düzeyde daha yüksek olması ve yine mikrobiyolojik analizlerde TMAB ve TPAB sayılarının PN'ye göre daha düşük kalması,

ürünün tercih edilebilirliğinde önemli özellikler olarak görülmektedir. Bildırcın etinin içerdiği besin öğelerinin sağlık faydaları da dikkate alındığında ileri işlenmiş ürünler gibi alternatif ürün seçeneklerinin piyasaya sunulması, bildırcın etinin tüketimini artırmak adına yarar sağlayacaktır. Bu çalışma kanatlı eti üreticileri ve ileri işlenmiş et üreticileri için yeni bir ürün geliştirme açısından yol gösterici olacaktır. İleriki çalışmalarda hem bildırcın nugget üretiminin hem de kaplama materyalinin formülasyonunda optimizasyon çalışmaları yapılarak ürün standardizasyonu sağlanabilecektir.

Cizelge 10. Örneklerin depolama boyunca mikrobiyolojik analiz bulguları
Table 10. Results of microbiological analysis during storage

DS (gün) ST (days)	TMAB (log kob/g)		TPAB (log kob/g)		Toplam Enterobacteriaceae (log kob/g)		Salmonella spp. (log kob/25 g)		L. monocytogenes (log kob/25 g)		
	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	BN	PN	
4 °C	0	3.65±0.2	2.34±0.2	3.63±0.1	2.09±0.6	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok
	5	3.90±0.3	3.63±0.3	4.11±0.1	3.71±0.4	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok
	10	4.86±1.6	4.70±0.2	4.72±1.3	6.97±0.1	<1	3.43±0.2	Yok	Yok	Yok	Yok
	15	5.10±1.4	6.92±0.2	5.30±1.1	7.19±0.1	<1	4.51±0.1	Yok	Yok	Yok	Yok
	20	5.70±0.3	8.02±0.2	6.40±0.1	8.90±0.1	<1	5.12±0.8	Yok	Yok	Yok	Yok
-18 °C	30	2.78±0.5	3.15±0.2	3.43±0.1	<1	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok
	60	2.62±0.2	2.62±0.2	2.73±0.3	<1	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok
	90	2.67±0.1	2.87±0.1	<1	<1	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok
	120	<1	<1	<1	<1	<1	<1	Yok	Yok	Yok	Yok

DS: Depolama süresi (gün); n=3; a, b, c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

A, B: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik açıdan birbirinden farklıdır ($P < 0.05$).

ST: Storage time (days); n=3; a, b, c: The averages of different letters in the same column are statistically different ($P < 0.05$).

A, B: The averages shown in different letters on the same line are statistically different ($P < 0.05$).

TEŞEKKÜR

Çalışmaya destek veren Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 2016.09.04.1030) ve Erpiliç Entegre Tavukçuluk Üretim Pazarlama ve Tic. Ltd. Şti.'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akgün, A.A. (2006). Farklı Kaplama Formülasyonları ile Kaplanmış Tavuk

Köftelerinin Duyusal, Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 87 s.

Anıl, N., Doğruer, Y., Gürbüz, U. (1995). Tavuk Etinin Beslenmedeki Yeri ve Önemi, VI. Hayvancılık ve Beslenme Sempozyumu, 23-25 Ekim 1995, Konya, Türkiye, 167-174 s.

- AOAC (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, IAC, Arlington, VA, USA.
- AOCS (2003). Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils. AOCS Official Method Cd 8-53, Surplus Peroxide Value Acetic Acid-Chloroform Method. AOCS Cold Spring Harbour, NY, USA.
- Aylangan, A., Vural, H. (2012). Farklı Işınlama Dozlarının Hamburger Köftelerinin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkileri. *Gıda*, 37(1): 9–16.
- Bayrak, E. (2011). Farklı Baharat Ekstraktlarının Mekanik Ayrılmış Piliç Etlerinden Üretilen Sosilerin Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Konya, Türkiye, 118 s.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can J Biochem Physiol*, 37(8): 911–917.
- Bostan, K., Uğur, M., Çetin, Ö. (2001). Bitkisel Yağ ve Lif Kullanılarak Kanatlı Eti Salamı Üretimi Üzerine Deneysel Çalışmalar. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 27(2): 645–657.
- Boulianne, M., King, A.J. (1995). Biochemical and Color Characteristics of Skinless Boneless Pale Chicken Breast. *Poult Sci*, 74(10): 1693–1698.
- Choudhary, C.K., Londhe, S.V., Patil, D.P., Gangane, G.R., Bhumre, P.N., Shinde P.A., Nemade, A.S. (2019). Evaluation of Shelf-life of Bengal Gram Flour Based Japanese Quail Meat Nuggets. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(3): 999–1003.
- Çankırılıgil, E.C., Berik, N (2016). Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Krokotlerinin Soğuk Muhafazada (+4°C) Raf Ömrünün Belirlenmesi, *Turkish J Aqua Sci*, 32(1): 35-48.
- Çelik, Ş., İnci, H., Kayaokay, A. (2014). Bıldırcınlarında Canlı Ağırlığın Yetiştirme Sistemleri ve Cinsiyete Göre İncelenmesi. *TURKJANS*, 1(3): 384–389.
- Çolak, H., Uğurluay, G., Nazlı, B., Bingöl, E.B. (2011). Paketlemede Kullanılan Nem Tutucu Filtrelerin Hindi Etinin Raf Ömrü Üzerine Etkisi. *İstanbul Üniv Vet Fak Der*, 37(2): 107–116.
- Demirkaya, A. K. (2013). Tereyağında Tiyobarbiturik Asit (TBA) Testi ile Lipid Oksidasyonunun Değerlendirilmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8(3): 237–240.
- Demirkaya, A.K. (2014). Bilecik İlinde Tüketime Sunulan Kıyma ve Tavuk Etlerinde Lipid Oksidasyonu. *Akademik Gıda*, 12(3): 26-29.
- Ensoy, Ü. (2004). Hindi Sucuğu Üretiminde Starter Kültür Kullanımı ve Isıl İşlem Uygulamasının Ürün Karakteristikleri Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 147 s.
- Ergezer, H. (2005). Değişik Yöntemlerle Marine Edilmiş Kanatlı Etlerin Kimyasal Mikrobiyolojik, Tekstürel ve Duyusal Özellikleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 100 s.
- Ertaş, N., Doğruer, Y. (2010). Besinlerde Tekstür. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 7(1): 35-42.
- Kaymak Erten, F. (2005). Gıda Maddelerinin Kaplanması: Kaplama Yöntem ve Ekipmanları. *Pamukkale Üniv Müh Bilim Derg*, 11(1): 85-94.
- Genchev, A., Mihaylova, G., Ribarski, S., Pavlov, A., Kabakchiev, M. (2008). Meat Quality and Composition in Japanese Quails. *Trakia J of Sci*, 66(4): 72–82.
- Gökçe, R., Akgün, A.A., Ergezer, H., Akcan, T. (2016). Farklı Kaplama Bileşenleriyle Kaplamanın Derin Yağda Kızartılan Piliç Nuggetların Bazı Kalite Karakteristikleri Üzerine Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 22 (3): 331-338.
- Gülüm, L., Akoğlu, İ.T., Akoğlu, A. (2016). Determination of Consumer Perception For Using Quail Meat in The Further Processed Products. *International Congress on Food of Animal Origin (Industry Partnership)*, 10-13 November 2016, Turkish Republic of North Cyprus, 110–113 s.
- Güner, K.G. (2005). Farklı Kaplama Materyali Kullanılarak Üretilen Tavuk Nuggetların Kalite

- Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Türkiye, 91 s.
- Halkman, A.K. (2005). *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, 358 s.
- Hunt, M., Acton, J., Benedict, R., Calkins, C., Cornfort, D., Jeremiah, L., Shivas, S. (1991). Guidelines For Meat Color Evaluation. National Live Stock and Meat Board Publisher Chicago, Illinois, 17 p.
- ISO 11290-1 (1996). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 1: Detection method. <https://www.iso.org/standard/19268.html> (Erişim tarihi: 01.02.2018)
- ISO 6579 (2002). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs Horizontal Method for the Detection of *Salmonella* spp. <https://www.iso.org/standard/29315.html> (Erişim tarihi: 01.02.2018)
- Jimenez, M., Garcia, H., Beristain, C. (2006). Spray-dried Encapsulation of Conjugated Linoleic Acid (CLA) with polymeric matrices. *J Sci Food Agric*, 86(14): 2431–2437.
- Kolsarıcı, N., Candogan, K. (1995). The Effects Of Potassium Sorbate and Lactic Acid on The Shelf-Life of Vacuum-Packed Chicken Meats. *Poult Sci*, 74(11): 1884–93.
- Kolsarıcı, N. (2004). Mekanik Ayrılmış Tavuk Etlerinin Soğuk ve Donmuş Depolama Stabilitesi. Ankara Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu, Ankara, 51 s.
- Laçın, E., Çoban, Ö., Sabuncuoğlu, N. (2007). Japon Bildircinlerinde (*Coturnix coturnix japonica*) Farklı Işık Şiddeti ve Canlı Ağırlığın Bazı Performans Özellikleri Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 2(1): 28–33.
- Lukman, I., Nurul, H., Noryati, I. (2009). Physicochemical and Sensory Properties of Commercial Chicken Nuggets. *As J Food Ag-Ind*, 2(2): 171–180.
- Maiorano, G., Knaga, S., Witkowski, A., Cianciullo, D., Bednarczyk, M. (2011). Cholesterol Content and Intramuscular Collagen Properties of Pectoralis Superficialis Muscle of Quail From Different Genetic Groups. *Poult Sci*, 90(7): 1620–1626.
- Nasar, A., Rahman, A., Hoque, N., Talukder, A.K., Das, Z.C. (2016). A Survey of Japanese Quail (*Coturnix Coturnix japonica*) Farming in Selected Areas of Bangladesh. *Vet World*, 9(9): 940.
- Nazlıgül, A., Bardakçioğlu, H.E. (2001). Japon Bildircinlerinde (*Coturnix coturnix japonica*) Yerleşim Sıklığının Yumurta Verimi, Yumurta Ağırlığı ve Yem Tüketimine Etkisi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 27(2): 429–438.
- Rinaldi, M., Dall'Asta, C., Paciulli, M., Cirlini, M., Manzi, C., Chiavaro, E. (2014). A Novel Time/Temperature Approach to Sous Vide Cooking of Beef Muscle. *Food Bioprocess Tech*, 7(10): 2969–2977.
- Sarıca, M., Camcı, Ö., Selçuk, E. (2003). Bildircin, Sülün, Keklik, Etçi Güvercin, Beç Tavuğu ve Devekuşu Yetiştiriciliği, 3. Baskı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Baskı Ünitesi, Samsun.
- Şekeroğlu, A., Eleroğlu, H., Sarıca, M., Camcı, Ö. (2013). Yerde Üretimde Kullanılan Altlık Materyalleri ve Altlık Yönetimi. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 10: 25–34.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T., Dugan, L. (1960). A Distillation Method For The Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *J Am Oil Chem Soc*, 37(1): 44–48.
- Yavaş, E., Bilgin, B., Yılmaz, İ. (2008). Piliç Etinden Üretilen Kaplamalı Ürünlerde Raf Ömrü Boyunca Meydana Gelen Değişimler. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, Türkiye, 577–580 s.
- Yıldırım, A., Öztürk, E. (2013). Damızlık Japon Bildircini Rasyonlarında Soya Küspesi Yerine Pamuk Tohumu Küspesi İkamisinin Yumurta Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi. *TURJAF*, 1(1): 44–50.

BÖLGESEL FARKLILIK VE DEPOLAMA SÜRESİNİN PROPOLİSİN ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Naci Ömer Alayunt*

Siirt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye

Geliş / Received: 27.03.2019; Kabul / Accepted: 09.10.2019; Online baskı / Published online: 15.10.2019

Alayunt, N.Ö. (2019). Bölgesel farklılık ve depolama süresinin propolisin antioksidan özellikleri üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (6): 969-979 doi: 10.15237/gida.GD19063.

Alayunt, N.Ö. (2019). The effect of regional difference and storage time on antioxidant properties of propolis. GIDA (2019) 44 (6): 969-979 doi: 10.15237/gida.GD19063.

ÖZ

Propolis, geleneksel tıpta kullanılan fenolik ve flavonoid bileşikler, terpenler ve tokoferol gibi daha birçok biyoaktif madde içeren bir karışımdır. Üç farklı bölgede *Apis Mellifera Caucasicus* arı türlerinden toplanan propolis örnekleri, Haziran ayında ve 8 ay oda sıcaklığında depolama süreci sonunda Şubat ayında 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile antioksidan-oksidan parametre ölçümleri yapılmıştır. B1 vitamini ($44.24 \pm 5.04 - 64.48 \pm 5.12$ µg/g), B2 vitamini ($66.13 \pm 2.44 - 104.42 \pm 3.85$ µg/g), A vitamini ($3.58 \pm 0.09 - 17.44 \pm 0.25$ µg/g), E vitamini ($15.88 \pm 1.38 - 38.64 \pm 2.75$ µg/g), malondialdehit (MDA) ($0.381 \pm 0.020 - 1.419 \pm 0.023$ nmol/mL) ve DPPH ($95.42 \pm 1.22 - 368.22 \pm 4.31$ mg/L) düzeyleri gözlemlenmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma ve $P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir. Yüksek rakımlı bölgelerde elde edilen propolisin, Haziran ayında yapılan analizinde en iyi antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Raf ömrü, iklim ve çevresel koşullara bağlı olarak propolis örneklerinde antioksidan düzeylerin değişiklik gösterdiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, depolama, malondialdehit, propolis, vitaminler

THE EFFECT OF REGIONAL DIFFERENCE AND STORAGE TIME ON ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PROPOLIS

ABSTRACT

Propolis is a mixture of many other bioactive substances such as phenolic and flavonoid compounds, terpenes and tocopherol used in traditional medicine. The antioxidant-oxidant parameter measurements of propolis, obtained from *Apis Mellifera Caucasicus* bee species in three different regions, were performed in June and at the end of 8 months room temperature storage process in February with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) and high performance liquid chromatography (HPLC). Vitamin B1 ($44.24 \pm 5.04 - 64.48 \pm 5.12$ µg / g), vitamin B2 ($66.13 \pm 2.44 - 104.42 \pm 3.85$ µg / g), vitamin A ($3.58 \pm 0.09 - 17.44 \pm 0.25$ µg / g), vitamin E ($15.88 \pm 1.38 - 38.64 \pm 2.75$ µg / g), malondialdehyde (MDA) ($0.381 \pm 0.020 - 1.419 \pm 0.023$ nmol / mL) and DPPH ($95.42 \pm 1.22 - 368.22 \pm 4.31$ mg/L) levels were observed. Results were accepted as mean±standard deviation and $P < 0.05$ significance level. Propolis obtained from high altitude regions showed the best antioxidant properties in June analysis ($P < 0.05$). Antioxidant levels are thought to vary in propolis samples depending on shelf life, climate and environmental conditions.

Keywords: Antioxidant, storage, malondialdehyde, propolis, vitamins

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ nacialayunt@hotmail.com,

☎ (+90) 484 212 1111/4101

☎ (+90) 484) 223 1998

GİRİŞ

Genel olarak “arı tutkalı” olarak bilinen propolis, bal arılarının, belirli enzimler ve balmumu içeren tükürüklerini esas olarak yaprak ve çiçek tomurcuklarından toplanan, birçok ağaç türünün kabuk çatlaklarından toplanan eksüda ile karıştırarak ürettiği reçineli bir karışımdır. Propolis, kovan içlerinde çatlakların kapatılması, iç yüzeyin düzleştirilmesi ve kovanın iç sıcaklığının muhafaza edilmesinin yanı sıra kötü hava koşullarının önlenmesi (örneğin, soğuk havalarda çıkış açıklığının boyutunun düşürülmesi) ve arıların avcılardan korunması için kullanılır (Pasupuleti vd., 2017). Antimikrobiyel aktivitesi nedeniyle aseptik bir iç çevreye de katkıda bulunmakta ve çok büyük olan kovanları istila etmiş ölü böcek zararlılarının vücudunu kaplamak için kullanılmaktadır (Bonamigo vd., 2017a).

Ayrıca, kanserlerin tedavisi, nörodejeneratif, kardiyovasküler ve gastrointestinal sistem hastalıklarının yanı sıra yara ve yanıkların tedavisinde ajan olarak kullanımlarına ilgi artmıştır (Bazmandegan vd., 2017; Baltas vd., 2016). Arı ürünlerinin, birçok hastalığın patogenezinin altında yatan oksidatif stresin etkileriyle karşı karşıya gelebilecek potansiyel bir doğal antioksidan kaynağı olduğu düşünülmektedir. Genel olarak, serbest radikalleri temizleme yeteneğini ifade eden maddelere ait olan fenolik karaktere sahip bileşikler, arı ürünlerinin antioksidan kapasitelerinden esas olarak sorumludur (Kim vd., 2015; Florio vd., 2017). Fenolik bileşikler, flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki ana bileşik gruptan oluşurlar (Rzepecka-Stojko vd., 2015) Flavonoidler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar flavanonoller, flavanoller (katesinler), antosiyaninler ve kalkonlar gibi çeşitli alt gruplar ve izoflavonlar ve neflavonoidler içeren polifenolik yapı bitki türevleridir (Arct ve Pytkowska, 2008; Panche vd., 2016). Flavonoidlerin moleküllerinde fenol gruplarının varlığı, onları süpürme sırasında oluşan radikallerin rezonansta stabilize olması nedeniyle onlara daha fazla antiradikal aktivite kazandırır (Arct ve Pytkowska, 2008). Yapılan araştırmalarda, yüksek miktarda biyoaktif bileşen

içerdiklerinden dolayı ham madde yerine propolis ve arı poleni özleri kullanılmıştır (Denisow ve Denisow-Pietrzyk, 2016). Bununla birlikte, farklı polaritelere sahip çözücüler kullanılmakta ve ekstrenin özellikleri sadece kullanılan çözücüye değil, aynı zamanda ekstraksiyon koşullarına, yani zamana ve sıcaklığa da bağlı olduğu bilinmektedir (Kim vd., 2015). Bu nedenle, günümüzde bu arı ürünü, ilaç ve gıda endüstrileri için büyük ilgi çekmektedir (Moreira vd., 2008). Farklı arı türlerinin ürettiği propolis, kimyasal bileşimlerini ve potansiyel farmakolojik aktivitelerini değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır (Valente vd., 2011; Ewnetu vd., 2013).

Nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi sayısız hastalığın patogenezinin altında yatan oksidatif stresin etkilerini önleyebilen doğal maddeler ekosistemde bitkiler ve canlılar tarafından sentezlenebilmektedir. Bu çalışma doğal kaynaklardan takviye gıda almanın önemini göz önüne alarak, seçilen arı propolislerinin olası tıbbi uygulamalarındaki antioksidan kapasite bilgisinin mevcut durumunu güncellemeyi amaçlamaktadır. Buradan hareketle, bitki orijini, coğrafi konumu ve depolama süresi gibi etkilerin arı ürünlerindeki antioksidan mekanizmalara etkisine özel bir dikkat çekilmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Üç farklı coğrafi bölgede bulunan Kafkas ırkı olarak bilinen *Apis Mellifera Caucasicus* cinsi bal arıları kolonilerinden 2018 yılında Haziran ayında propolis örnekleri alınmıştır (Çizelge 1). Örneklerin alındığı kovanların yerleri: Adıyaman İli Kâhta İlçesi (KH), Elazığ İli Sivrice İlçesi (SV) ve Tunceli İli Ovacık İlçesi (OV) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada her bir bölgeden 6 örnek olmak üzere toplam 18 propolis örneği alınmıştır. Örnekler, Haziran ve Şubat aylarında çalışılmak üzere her bölge için üçer örnek olacak şekilde gruplara ayrılmıştır. Tanımlanan saha çalışmaları için özel bir izin gerekmemiştir. Propolis örneklerini toplamak için yapılan tüm saha çalışmaları özel arazide ve mal sahibi izni ile yapılmıştır. Saha çalışmaları nesli tükenmekte olan veya korunan türleri içermemektedir. Bölge isimleri ve rakımları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 1. Bölge ve Rakımlar
Table 1. Region and Altitudes

Örnek alınan bölge <i>Sampled region</i>	Rakım (metre) <i>Altitude (meters)</i>
Ovacık (OV)	1300
Sivrice (SV)	1271
Kâhta (KH)	832

Propolis Örneklerinin Alınışı

Arı kovanlarından steril cam kavanozlara alınan propolisler laboratuvara getirilerek ekstraksiyon yapılarak kadar serin ve kuru bir yerde (1-2 °C, % 25 nispi rutubet) muhafaza edilmiştir (Kutlu, 2010). İki farklı mevsimde propolis örneklerinin MDA, vitamin (B1, B2, A ve E) ve DPPH analizleri yapılmak üzere çalışma gününe kadar uygun saklama koşullarında muhafaza edilmiştir. Önce 2018 Haziran ayında propolisler analize tabi tutulmuştur. Daha sonra oda koşullarında (25 °C) serin ve karanlık bir yerde muhafaza edilmiş diğer grup propolisler 2019 Şubat ayında analiz edilmiştir. Analiz sonuçları istatistiksel olarak hesaplanarak çizelgeler halinde verilmiştir.

Propolis Etanol Ekstraktının Hazırlanması (ExEP)

Propolisin etanol ekstreleri, % 80 etanol ile 4.5 g/mL oranında hazırlanmıştır. Bu çözelti, tamamen çözününceye kadar bir su banyosunda kapalı bir kap içinde 70 °C'de muhafaza edilerek ve daha sonra 80 g/m² filtre kağıdı üzerinde filtre edilmiştir (Alencar vd., 2007). Ekstreler hazırlandıktan sonra etiketlenerek karanlık yerde kapalı kaplarda saklanmış ve analize kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Kimyasal Analiz

HPLC Metoduyla Vitamin A ve E Analizi:

Numunelerden hazırlanan Propolis etanol ekstraktından (ExEP) 0,3 ml üzerine 0,3 mL %1' lik H₂SO₄ ihtiva eden etil alkolden ilave edilerek proteinler çöktürülmüştür. Karışım vortekslendikten sonra 2500 devirde 5 dakika santrifüjlenmiş ve örnekler üzerine 250 µL n-hegzan ilave edilmiştir. Hegzan ilavesiyle ortamdaki yağda çözünen vitaminler hegzan fazına ekstakte edilmiştir. Hegzan ilavesinden sonra tekrar vortekslenerek sonrasında tüpler santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda

hegzan fazı dikkatli bir şekilde ayrılarak cam tüpe alınmıştır. Örnek üzerine 250 µL n-hegzan ilave edilerek karıştırılıp santrifüj işleminden sonra n-hegzan fazı cam tüpteki hegzan fazı ile birleştirilmiştir. Ekstrakte edilen hegzan, kuru azot altında dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Kalıntı 100 µL metanolde çözülerek Shimadzu marka HPLC cihazında analiz edilmiştir. Örneklerdeki E vitamini 296 nm ve A vitamini 326 nm dalga boyunda inertsil 5µ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu ve asetonitril: metanol: diklorometan: kloroform: hegzan (60:10:15:10:5) hareketli fazında akış hızı 1mL/dk olacak şekilde UV-VIS dedektörü / fotodiyot dizi dedektörü ile üçer tekrar yapılarak analizlenmiştir (Catignani, 1983; Henning vd., 1997).

HPLC Metoduyla Vitamin B1 ve B2 Analizi

1mL propolis etanol ekstraktı (ExEP) üzerine 0.5 mL 0.5 M HClO₄ ilave edilerek vortekslenmiş ve daha sonra 2 ml saf su eklenmiştir. Karışım yaklaşık 10 dakika ultrasonik su banyosunda bekletildikten sonra 4500 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek örneklerin üzerindeki berrak kısımdan dikkatlice 20µL alınmış ve Shimadzu marka HPLC cihazında mobil faz 5 mM heptano sülfonik asitin sodyum tuzu metanolde çözülmüştür, ardından % 0.1 trietilamin içeren 750 ml' lik çözeltisi ile 25:75 hacim oranında karıştırılarak pH'ı 2.8 olacak şekilde fosforik asit yardımıyla ayarlanmıştır. Mobil fazın akış hızı 0.7 mL/dk'da C18-DB kolon (15 cm (uzunluk) x 4.6 mm (iç çapı) x 5 µm (partikül büyüklüğü)' un da UV-VIS dedektörü / fotodiyot dizi dedektörü ile üçer tekrar yapılarak B1 ve B2 vitamini 260 nm dalga boyunda tayin edilmiştir (Amidzic vd., 2005; Markopoulou vd., 2002).

HPLC Metoduyla MDA Analizi:

Propolis etanol ekstraktından (ExEP) 1mL alınarak 1 mL suyla 1:1 (v/v) oranında fraksiyonlanmış ve çözünen fraksiyon HPLC cihazı ile analiz edilmiştir. Propolis ekstraktından 1ml alınarak üzerine 0.5 mL 0.5 M HClO₄ ilave edilmiş ve bu karışım vortekslendikten sonra üzerine 4.5 mL saf su eklenmiştir. Karışım 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra örneklerin üzerindeki berrak kısımdan dikkatlice 20µL alınarak MDA (Karatas vd., 2002) HPLC

'de analiz edilmiştir. Analizler Shimadzu marka HPLC cihazı ile ortam sıcaklığında hareketli faz olarak KH₂PO₄ - metanol (% 82.5 – 17.5; pH: 4) karışımında (SPD-M20A, RID-20A) pompa yardımıyla UV- Flurosans absorbands dedektörü ile 250 nm'de inertsil 5µ C-18 (15 cm x 4.6 mm) kolonu kullanılarak ve üçer tekrar yapılarak akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde analiz edilmiştir.

Serbest Radikal Temizleme Etkinliği

DPPH serbest radikalının temizleme aktivitesine dayanarak ekstraktların serbest radikal temizleme aktivitesi analiz edilmiştir (Braca vd., 2001). Propolis özü (0.1 mL), 1 mL 250 µmol/L DPPH metanol çözeltisine ilave edilmiştir. 30 dakika inkübasyondan sonra serbest radikal DPPH'nin azalması, bir spektrofotometre (Lambda 25 UV / Görüntü Sistemleri-PerkinElmer, Washington-ABD) ile numune yerine etanol kullanılarak boş bir köre karşı 517 nm'de absorbands ve yüzde inhibisyon aktivitesi, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% I = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A_0 : Kontrol absorbandsı

A_1 : Ekstrakt/standart absorbandsı

DPPH süpürme aktivitesi, DPPH emilimini % 50 azaltmak için gerekli olan numunenin konsantrasyonu olarak ifade edilir (IC₅₀). Bu çalışmada ekstrenin antioksidan kapasitesi, bir IC₅₀ değeri olarak ifade edilmiştir. IC₅₀ değeri, DPPH radikallerinin oluşumunu % 50 önleyen ekstrelerin konsantrasyonu (mg/L) olarak tanımlanmıştır. Tüm testler üç kopya halinde yapılmış ve sonuçlar üç gözlemin ortalamasıyla verilmiştir. Düşük IC₅₀ değerleri daha yüksek radikal temizleme aktivitesine işaret eder.

İstatistiksel Analiz

İncelenen parametrelerin istatistik farklılıkları SPSS 15.0 istatistik programıyla ortalama ve standart sapma kullanılarak bulunmuştur. Bu çalışmada iki bağımsız (Haziran-Şubat) grubun dağılımlarının istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını saptayıp ikili (dichotomous) bağımsız karşılaştırma için Mann Whitney-U testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma

ve $P < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada üç farklı bölgeden toplanan kahverengi propolis numunelerinin hem serbest radikal temizleyici aktivitede hem de lipid peroksidasyonunu önleme kabiliyetinde farklı bileşimde farklı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Elde edilen *in vitro* verilerde B1 ve B2 suda eriyen vitaminler ve antioksidan belirteçler arasında olan vitamin A ve E düzeylerinde yükseltilere çıkıldıkça artan değerler tespit edilmiştir. Ayrıca DPPH (düşük IC₅₀) ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinin ise yüksek rakımlara çıkıldıkça azaldığı gözlemlenmiştir (Çizelge 2).

DPPH düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesi propolisinin Haziran ayında (95.42±1.22 mg/L) elde edilen analiz sonuçlarının en düşük IC₅₀ düzeylerinde olduğu ve Kâhta bölgesi Şubat ayında (368.22±4.31 mg/L) elde edilen analiz sonuçlarının ise en yüksek IC₅₀ değerinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında depolama başlangıcında (Haziran) DPPH düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 168.47±2.33, 130.88±2.28 ve 95.42±1.22 mg/L olarak tespit edilirken, depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla 368.22±4.31, 259.79±2.42 ve 140.11±2.29 mg/L seviyelerine yükseldiği belirlenmiştir (Çizelge 2). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.

MDA düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesinde, Haziran ayında (0.381±0.020 nmol/mL) elde edilen analiz sonuçlarının en düşük MDA düzeylerinde olduğu ve Kâhta bölgesi Şubat (1.419±0.023 nmol/mL) ayında elde edilen analiz sonuçlarının ise en yüksek MDA düzeylerinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında depolama başlangıcında (Haziran) MDA düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 1.181±0.095, 0.608±0.065, 0.381±0.020 nmol/mL olarak tespit edilirken, depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla

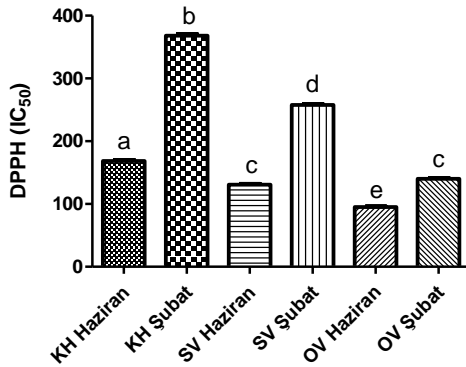
1.419±0.023, 0.927±0.054, 0.552±0.031 nmol/mL seviyelerine yükseldiği belirlenmiştir (*Çizelge 2*). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 2. Propolisin Oksidan- Antioksidan Analiz Verileri.
Table 2. Propolis Oxidant-Antioxidant Analysis Data.

Numuneler <i>Samples</i>	DPPH (IC ₅₀) (mg/L)	MDA (nmol/mL)	Vit.B1 (µg/g)	Vit.B2 (µg/g)	Vit.A (µg/g)	Vit.E. (µg/g)
KH Haziran <i>KH June</i>	168.47±2.33 ^a	1.181±0.095 ^a	44.24±5.04 ^a	88.23±4.46 ^a	6.65±0.29 ^a	18.45±1.25 ^a
KH Şubat <i>KH February</i>	368.22±4.31 ^b	1.419±0.023 ^b	36.56±4.03 ^b	66.13±2.44 ^b	3.58±0.09 ^b	15.88±1.38 ^b
SV Haziran <i>SV June</i>	130.88±2.28 ^c	0.608±0.065 ^c	61.12±6.14 ^c	101.04±3.82 ^c	10.51±0.11 ^c	26.44±1.21 ^c
SV Şubat <i>SV February</i>	259.79±2.42 ^d	0.927±0.054 ^d	52.48±5.52 ^d	87.48±5.17 ^a	7.12±0.18 ^a	23.18±1.22 ^d
OV Haziran <i>OV June</i>	95.42±1.22 ^e	0.381±0.020 ^e	64.48±5.12 ^c	104.42±3.85 ^c	17.44±0.25 ^d	38.64±2.75 ^e
OV Şubat <i>OV February</i>	140.11±2.29 ^e	0.552±0.031 ^c	53.15±3.89 ^d	101.46±3.37 ^c	13.48±0.31 ^e	33.24±2.25 ^f

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).*

KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık



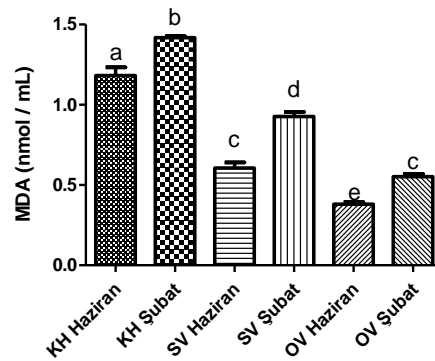
Şekil 1. DPPH analiz grafiği

Figure 1. DPPH analysis graph

Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).

Different letters are statistically significant represent differences (P < 0.05).

KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık



Şekil 2. MDA analiz grafiği

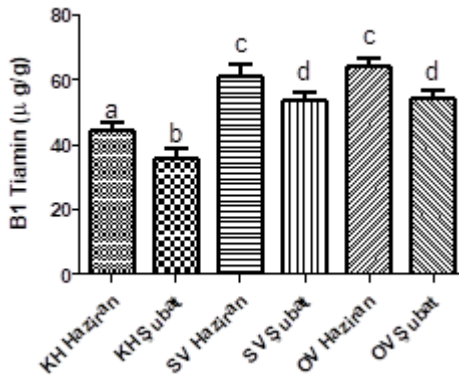
Figure 2. MDA analysis graph

Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).

Different letters are statistically significant represent differences (P < 0.05).

KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık

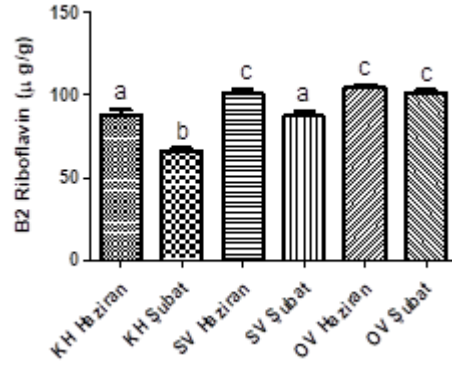
Vitamin B1 düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesinde, Haziran ayında elde edilen verilerin en yüksek vitamin B1 ($64.48 \pm 5.12 \mu\text{g/g}$) düzeylerinde olduğu ve Kâhta bölgesi Şubat ayında elde edilen verilerde ise en düşük vitamin B1 ($36.56 \pm 4.03 \mu\text{g/g}$) düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında, depolama başlangıcında (Haziran) vitamin B1 düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 44.24 ± 5.04 , 61.12 ± 6.14 , $64.48 \pm 5.12 \mu\text{g/g}$ olarak tespit edilirken, depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla 36.56 ± 4.03 , 52.48 ± 5.52 , $53.15 \pm 3.89 \mu\text{g/g}$ seviyelerine düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 2). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3. B1 vitamini analiz grafiği
Figure 3. Graph of analysis of vitamin B1
Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).
Different letters are statistically significant represent differences ($P < 0.05$).
KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık

Vitamin B2 düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesinde, Haziran ayında elde edilen verilerin en yüksek vitamin B2 ($104.42 \pm 3.85 \mu\text{g/g}$) düzeylerinde olduğu ve Kâhta bölgesi Şubat ayında elde edilen verilerde ise en düşük vitamin B2 ($66.13 \pm 2.44 \mu\text{g/g}$) düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında, depolama başlangıcında (Haziran) vitamin B2 düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 88.23 ± 4.46 , 101.04 ± 3.82 , $104.42 \pm 3.85 \mu\text{g/g}$ olarak tespit edilirken,

depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla 66.13 ± 2.44 , 87.48 ± 5.17 , $101.46 \pm 3.37 \mu\text{g/g}$ seviyelerine düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 2). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.

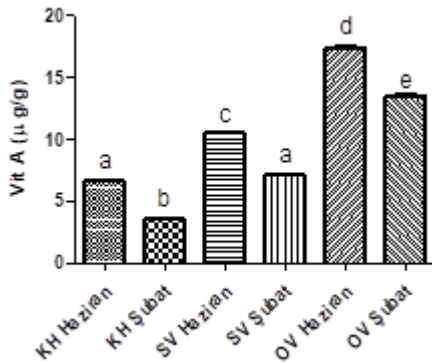


Şekil 4. B2 vitamini analiz grafiği
Figure 4. Graph of analysis of vitamin B2
Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).
Different letters are statistically significant represent differences ($P < 0.05$).
KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık

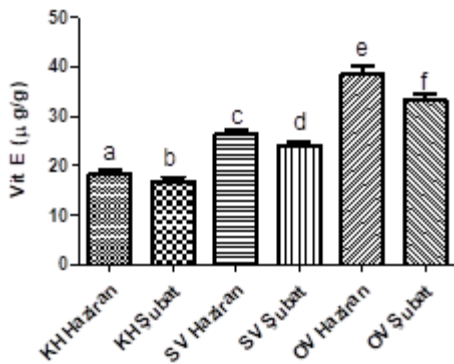
Vitamin A düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesinde vitamin A düzeylerinin, Haziran ayında yapılan analiz sonuçlarında depolama sonrasında (Şubat) yapılan analiz sonuçlarına kıyasla en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında, depolama başlangıcında (Haziran) vitamin A düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 6.65 ± 0.29 , 10.51 ± 0.11 , $17.44 \pm 0.25 \mu\text{g/g}$ olarak tespit edilirken, depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla 3.58 ± 0.09 , 7.12 ± 0.18 , $13.48 \pm 0.31 \mu\text{g/g}$ seviyelerine düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 2). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.

Vitamin E düzeylerine bakıldığında; Ovacık bölgesinde vitamin E düzeylerinin, Haziran ayında yapılan analiz sonuçlarında depolama sonrasında (Şubat) yapılan analiz sonuçlarına kıyasla en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6). Bölgesel olarak kıyaslama yapıldığında,

depolama başlangıcında (Haziran) vitamin E düzeyleri Kâhta, Sivrice ve Ovacık bölgeleri için sırasıyla 18.45 ± 1.25 , 26.44 ± 1.21 , 38.64 ± 2.75 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilirken, depolama sonrasında (Şubat) bu değerlerin sırasıyla 15.88 ± 1.38 , 23.18 ± 1.22 , 33.24 ± 2.25 $\mu\text{g/g}$ seviyelerine düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 2). Bölgesellik etkisine dayanan verilerin $P < 0.05$ anlamlılık düzeyinde farklı olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 5. A vitamini analiz grafiği
Figure 5. Graph of vitamin A analysis
Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).
Different letters are statistically significant represent differences ($P < 0.05$).
KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık



Şekil 6. E vitamini analiz grafiği
Figure 6. Graph of vitamin E analysis
Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları temsil etmektedir ($P < 0.05$).
Different letters are statistically significant represent differences ($P < 0.05$).
KH; Kâhta, SV; Sivrice, OV; Ovacık

Calegari ve arkadaşları sırasıyla, mart ve nisan aylarında üretilen propolis örneklerinin renklerinde ve toplam fenolik bileşiklerin yanı sıra antioksidan kapasitelerinin ve propolisin kimyasal bileşiminin farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir (Calegari vd., 2017). Bu çalışmada da antioksidan belirteç olan vitamin düzeylerinin Haziran ayında analiz edilen propolis örneklerinde, depolama sonrasında (Şubat) analiz edilen örneklere göre daha yüksek düzeylerde olması üretim ayındaki ve saklama sıcaklıklarındaki ortam değişiklikleri ile açıklanabilir.

Doğal olarak, vücutta üretilen serbest radikallerin miktarı ile onları gideren veya temizleyen ve vücudu zararlı etkilerine karşı koruyan antioksidan savunma sistemi arasında dinamik bir denge vardır. Antioksidan vitaminler, immün uyarılma, serbest radikalleri temizleme ve kanserojenlerin metabolik aktivasyonunda değişiklik yapma gibi biyolojik aktivitelere sahiptir (Geert ve Henk, 1997). Bu metabolitler biyopolimerleri koruyarak reaktif oksijen türlerini ve oksidatif DNA hasarını azaltabilir (Halliwell, 1996). Brezilya'dan toplanan beş farklı propolis örneğinin antioksidatif aktivitesi ksantin / ksantin oksidaz (XOD), DPPH ve süperoksit anyon radikali temizleme aktiviteleri karşılaştırıldığında, hem DPPH serbest radikali hem de süperoksit anyonlarına karşı güçlü antioksidan etkiler gösterdiği söylenmektedir (Arjun vd., 2001). Bu bileşiklerin, C vitamini, E vitamini ve kafeik asit gibi en sık kullanılan antioksidanlardan daha güçlü serbest radikal temizleme etkinliği gösterdiği bildirilmiştir (Arjun vd., 2001). Propolis DPPH, ABTS + , FRAP ve ORAC yöntemleri kullanılarak tam olarak araştırılmıştır ve antioksidan özellikleri bilinmektedir (Zhang vd., 2017; Betances-Salcedo vd., 2017). Bir *in vitro* çalışmada, propolis ekstraktının antioksidan kapasitesinin, sentetik antioksidan BHT veya askorbik asidin özelliklerine benzer olduğu tespit edilmiştir (Bonamigo vd., 2017b). Propolis özütlerinin toplam fenolik içeriği yaklaşık 30 ila 200 mg gallik asit eşdeğeri (GAE) / g kuru ağırlık ve flavonoid içeriği yaklaşık 30 ila 70 mg quercetin eşdeğeri arasındadır (QE) / g, DPPH serbest radikal giderme faaliyeti ise yaklaşık 20 ila 190 $\mu\text{gr} / \text{mL}$ arasında değişmektedir (Zhang vd., 2017). Başka

bir çalışmada 3,4,5-trikaffeoilkinik asit, 3,5-dikaffeoilkinik asit, 4,5-dikaffeoilkinik asit ve artepilin C'nin Brezilya yeşil propolisinin güçlü antioksidan aktivitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2017). Kavak ağacı kaynaklı propolis antioksidan aktivitesinin, hem toplam polifenol hem de toplam flavonoid içeriğinden büyük ölçüde farklı olduğu da söylenmektedir (Socha vd., 2014). Fabris ve arkadaşları Avrupa propolis örneklerinin benzer polifenolik bileşime ve dolayısıyla benzer antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, ancak güney Amerika propolisinin daha düşük polifenolik miktar ile daha düşük antioksidan özelliklere sahip olduğunu söylemişlerdir (Fabris vd., 2013). Genel olarak, propolis kompozisyonunun standardizasyonunda çeşitli tutarsızlıkların olduğu görülmektedir. Bu durum, arı türleri, bitki orijini, coğrafi konum, sıcaklık değişimi, saklama koşulları ve depolama süresi gibi pek çok faktöre bağlı olmasından kaynaklanmaktadır (Calegari vd., 2017). Yapılan bir çalışmada arı türlerine, *Scaptotrigona depilis*, *Melipona quadrifasciata anthidioides*, *Plebeidroryana* ve *Apis mellifera*'ya ait aynı bölgeden toplanan propolis örneklerinin etanol ekstraktının antioksidan aktivitesi incelenmiş ve *Apis mellifera* dan elde edilen propolis en yüksek etkinliğe sahip olduğu söylenmiştir (Bonamigo vd., 2017b). Ayrıca, yıl boyunca besin takviyesi alan arı kolonilerinin, bu takviyeden daha yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriği ve antioksidan kapasiteye sahip oldukları da bildirilmiştir (Calegari vd., 2017).

Propolis ekstrelerinin hem kimyasal bileşimi hem de biyolojik özellikleri, özütleme için kullanılan çözücülerin tipine büyük ölçüde bağlıdır (Narimane vd., 2017). Propolisin ekstraksiyonu için en yaygın kullanılan çözücü sulu etanoldür (özellikle % 70-80 konsantrasyonda), bunu etil eter, su, metanol, heksan ve kloroform gibi diğer çözücüler takip eder (Sun vd., 2015). % 75 etanol ekstraktı ayrıca DPPH, ABTS, FRAP, oksijen radikal emme kapasitesi (ORAC) ve hücre antioksidan aktivite (CAA) yöntemleriyle ölçülen en yüksek antioksidan kapasiteyi göstermiştir (Bittencourt vd., 2015). Bu çalışmada da en iyi antioksidan kapasiteyi tespit etmek için %80

etanol ekstresi kullanılmıştır. Diklorometan ile ayrılmanın, özellikle kahverengi propolis antioksidan bileşiklerinin ekstraksiyonunu arttırdığını, heksan ile ayrılmanın ise yeşil propolis ekstraktındaki miktarlarını önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Ferreira vd., 2013).

Bileşimindeki sayısız farklılıklara rağmen, propolis özü her zaman antioksidan özelliklere sahiptir. Propolis sulu ekstraktlarının bile hücre kültüründe ve hayvan çalışmalarında antioksidan kapasiteye sahip oldukları gösterilmiştir (Ferreira vd., 2013). Bu durum, belirli arı ürün numunelerinin farklı bileşimlere sahip olmasından kaynaklanabilir. Bu nedenle detaylı bir kimyasal analiz olmadan potansiyel terapötik uygulamaları ile ilgili genel bir sonuç çıkarmak zordur. Bununla birlikte, propolis kimyasal bileşimi botanik kökeni, sıcaklık değişimi ve depolama süresi gibi faktörlerin yanı sıra arılar tarafından propolise eklenmiş tükürük salgıları ve enzimler gibi faktörlere de bağlıdır (Bankova vd., 2014; Salatino vd., 2005).

Bu çalışmada da benzer şekilde üç farklı bölge propolisinin botanik kökeni, sıcaklık değişimi ve depolama süresi gibi faktörlerin etkisiyle farklı antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yüksek rakımda olan Ovacık bölgesi propolisi, yüksek vitamin düzeyleri, düşük DPPH ve MDA düzeyleri ile bu öngörüye desteklemektedir. Bu farklılığın propolisin terapötik özelliklerini değiştirerek, bileşikler kalitatif ve kantitatif olarak değiştirebileceği söylenmektedir (Huang vd., 2014). Böylece, aynı bölgede birlikte yaşayan farklı arı türleri tarafından üretilen propolis farklı biyolojik maddeler ve aktiviteler sunabilir. Türkiye'de propolis ile yapılan çalışmalarda, bölgesel karşılaştırmalara rastlanmasa bile dünyanın farklı bölgelerinden gelen propolis antioksidan (Kumazawa vd., 2004), antibiyofilm (Ong vd., 2017), antimikrobiyal (Campos vd., 2015), antienflamatuar (Funakoshi-Tago vd., 2015) ve antitümör (Lopez vd., 2015) aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir. Dolayısı ile farklı bölgelerde farklı iklim koşulları, bitki örtüsü, sıcaklık ve nem gibi etkenler aynı ırk arılarda bile farklı propolis kimyasal bileşimini gösterdiği tespit edilmiştir.

SONUÇ

Propolis çoğunlukla, antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen flavonoidler ve fenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Antioksidatif etki nedeniyle, propolis insanları zararlı oksidatif işlemlerden koruyabilir. Bu çalışmada Haziran ayında taze analiz edilen ve yaklaşık sekiz aylık bir depolama süresi sonrasında (Şubat) analiz edilen propolisin lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde artış tespit edilmiştir. Uzun süre raf ömrünün bozulmalara yol açarak radikal süpürme aktivitesini azalttığı ve bununla birlikte vitamin düzeylerinde azalma ile seyrettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, yükseklere çıkıldıkça nem, bitki örtüsü, sıcaklık gibi değişimler sonucunda içeriğindeki farklı flavonoidler ve fenolik bileşiklerden kaynaklanan antioksidatif kapasitesini koruduğu ve arttırdığı tespit edilmiştir. *Apis Mellifera Caucasicus* cinsi bal arıları kolonilerinden elde edilmiş kahverengi propolisin oksidatif strese bağlı bozuklukların veya insandaki hastalıkların tedavisinde umut verici takviye bir gıda olabileceğini söylemek mümkündür. Bu çalışmadan elde edilen veriler ile Türkiye propolisinin antioksidan özellikleri bakımından karşılaştırılmasının literatüre katkı sağlayacağı ve ileride yapılması düşünülen çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Alencar, S.M., Oldoni, T.L.C., Castro, M.L., Cabral, I.S.R., Costa-Neto, C.M., Cury, J.A. (2007). Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *J Ethnopharmacol*, 113: 278–283. doi: 10.1016/j.jep.2007.06.005

Amidzic, R., Brboric, J., Cudina, O., Vladimirov, S. (2005). RP-HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, folic acid and B12 in multivitamin tablets, *J Serb Chem Soc*,70(10), 1229–1235.

Arct, J., Pytkowska, K. (2008). Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. *Clin Dermatol*, 26(4):347–357. doi: 10.1016.01.004.

Baltas, N., Karaoglu, S. A., Tarakci, C., Kolayli, S. (2016). Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of helicobacter pylori and production of its urease. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 31(sup2):46-50. Epub 2016 May 27.

Arjun, H., Yasuhiro, T., Shigetoshi, K. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*, 15, 561–571

Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol*, 100: 114–117. doi: 10.1016/j.jep.2005.05.004

Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chem Cent J*, 8(28): 1–8. doi: 10.1186/1752-153X-8-28

Bazmandegan, G., Boroushaki, M. T., Shamsizadeh, A., Ayoobi, F., Hakimizadeh, E., Allahtavakoli, M. (2017). Brown propolis attenuates cerebral ischemia-induced oxidative damage via affecting antioxidant enzyme system in mice. *Biomed Pharmacother*, 85:503–510. doi: 10.1016/ 2016.11.057.

Betances-Salcedo, E., Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M., González-Martín, M. I. (2017). Flavonoid and antioxidant capacity of propolis prediction using near infrared spectroscopy. *Sensors (Basel)*, Jul 18;17(7). pii: E1647. doi: 10.3390/s17071647.

Bittencourt, M. L. F., Ribeiro, P. R., Franco, R. L. P., Hilhorst, H. W. M., Castro, R. D., Fernandez, L. G. (2015). Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. *Food Res Int*, Oct;76(Pt3): 449-457. doi: 10.1016/j.foodres.2015.07.008. Epub 2015 Jul 14.

Bonamigo, T., Campos, J. F., Alfredo. T. M. (2017a). Antioxidant, cytotoxic, and toxic activities of propolis from two native bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxid Med Cell Long*, 2017;2017:1038153. doi: 10.1155/2017/1038153. Epub 2017 Mar 9.

Bonamigo, T., Campos, J. F., Oliveira, A. S. (2017b). Antioxidant and cytotoxic activity of propolis of *Plebeia droryana* and *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) from the Brazilian cerrado biome. *J Pone*, 12(9, article e0183983) doi: 10.1371/.0183983.

- Braca, A., Nunziatina, D., Lorenzo, D. B., Cosimo, P., Mateo, P. (2001). Antioxidant principles from baubinia terapotensis. *J Nat Prod*, 64, 892–895.
- Calegari, M. A., Prasniewski, A., Silva, C. D. (2017). Propolis from Southwest of Parana produced by selected bees: influence of seasonality and food supplementation on antioxidant activity and phenolic profile. *An Acad Bras Cienc*, 2017 Jan-Mar;89(1):45-55. doi: 10.1590/0001-3765201620160499. Epub 2017 Feb 6.
- Campos, J.F., Santos, U.P., Rocha, P.S., Damião, M.J., Balestieri, J.B.P., Cardoso, C.A.L. (2015). Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of propolis from the stingless bee tetragonisca fiebrigi (jataí). *Evid-Based Comp Alternative Med*, 2015: 1–11. doi: 10.1155/2015/296186
- Catignani, G.L. (1983). Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in serum of plasma by liquid chromatography. *Clin Chem*, 29(14), 708-712.
- Denisow B., Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *J Sci Food Agric*, 96(13):4303–4309. doi: 10.1002.7729
- Ewnetu, Y., Lemma, N., Birhane, W. (2013). Antibacterial effects of Apis mellifera and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of escherichia coli, staphylococcus aureus and klebsiella pneumoniae in gondar, northwest ethiopia. *Comp Alternative Med*, 13(269): 2–7. doi: 10.1186/1472-6882-13-269
- Fabris, S., Bertelle, M., Astafyeva, O. (2013). Antioxidant properties and chemical composition relationship of European and Brazilian propolis. *Pharmacol Pharm*, 4(1):46–51. doi: 10.4236/pp.2013.41006.
- Ferreira, D., Rocha, H. C., Kreutz, L. C. (2013). Bee products prevent agrichemical-induced oxidative damage in fish. *J Pone*, 8(10, article e74499) doi: 10.1371/.0074499.
- Florio, Almeida J., Reis, A. S., Heldt, L. F. S. (2017). Lyophilized bee pollen extract: a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in refrigerated sausages. *LWT - Food Sci Technol*, 76:299–305. doi: 10.1016/ 2016.06.017.
- Funakoshi-Tago, M., Okamoto, K., Izumi, R., Tago, K., Yanagisawa, K., Narukawa, Y. (2015). Anti-inflammatory activity of flavonoids in nepalese propolis is attributed to inhibition of the IL-33 signaling pathway. *Int Immunopharmacol*, 25: 189–198. doi: 10.1016/j.intimp.2015.01.012
- Geert V. P., Henk V. B. (1997). Vitamins and cancer. *Cancer Letters*, 114, 195-202.
- Halliwell, B. (1996). Vitamin C: Antioxidant or pro-oxidant in vivo. *Free Radic Res*, Volume 25, Issue 5, Pages 439-454
- Henning, S.M., Swendseid, M.E., Ivandic, B.T., Liao, F. (1997). Vitamins C, E and A and hemre oxygenase in rats fed methyl/folate-deficient diets, *Free Radic. Biol Med*, 23(6):936-42.
- Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.L., Hu, F.L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Mol*, 19: 19610–19632. doi: 10.3390/molecules191219610
- Karatas, F., Karatepe, M., Baysar, A. (2002). Determination of free malondialdehyde in human serum by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem*, 311: 76-79.
- Kim, S. B., Jo, Y. H., Liu, Q. (2015). Optimization of extraction condition of bee pollen using response surface methodology: correlation between anti-melanogenesis, antioxidant activity, and phenolic content. *Mol*, 20(11):19764–19774. doi: 10.3390/201119656.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem*, 84: 329–339. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00216-4
- Kutlu, M.A. (2010). Organik Bal Üreticisinin El Kitabı, Genç ilçesi - Bingöl, 77-78s.
- Lopez, A.G.C, Lourenço, C.C., Alvesa, D.A., Machado, D., Lancellottia, M., Sawaya, C.H.F. (2015). Antimicrobial and cytotoxic activity of red propolis: an alert as to its safe use. *J Appl Microbiol* 119(3): 677–687. doi: 10.1111/jam.12874

- Markopoulou, C. K., Kagkadis, K. A., Koundourellis, J. E. (2002). An optimized method for the simultaneous determination of vitamins B1, B6, B12, in multivitamin tablets by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal*, 30, 1403- 1410.
- Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A., Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food Chem Toxicol*, 46: 3482–3485. doi: 10.1016/j.fct.2008.08.025
- Narimane, S., Demircan, E., Salah, A., Ozcelik, B. O., Salah, R. (2017). Correlation between antioxidant activity and phenolic acids profile and content of Algerian propolis: influence of solvent. *Pak J Pharm Sci*. 2017 Jul;30(4(Suppl.)):1417-1423.
- Ong, T.H., Chitra, E., Ramamurthy, S., Siddalingam, R.P., Yuen, K.H., Ambu, S.P. (2017). Chitosan-propolis nanoparticle formulation demonstrates anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Plos one*, 12(3): 1–22. doi: 10.1371/journal.pone.0174888
- Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*, 5:p. e47. doi: 10.1017.41.
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., Gan, S. H. (2017). Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid Med Cell Long*. 2017;2017:1259510. doi: 10.1155/2017/1259510. Epub 2017 Jul 26.
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A. (2015). Polyphenols from bee pollen: structure, absorption, metabolism and biological activity. *Mol*, 20(12):21732–21749. doi: 10.3390.
- Salatino, A, Teixeira, E.W., Negri, G., Message, D. (2005). origin and chemical variation of Brazilian propolis. *Evid-Based Comp Alternative Med*, 2(1): 33–38. doi: 10.1093/ecam/neh060
- Socha, R., Galkowska, D., Bugaj, M., Juszcak, L. (2014). Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat Prod Res*. 2015;29(5):416-22. doi: 10.1080/14786419.2014.949705.
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., Zhang, H. (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. *Evid-Based Comp Alternative Med*, 2015;2015:595393. doi: 10.1155/2015/595393.
- Valente, M.J., Baltazar, A.F., Henrique, R., Estevinho, L., Carvalho, M. (2011). Biological activities of Portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth *in vitro*. *Food Chem Toxicol*, 49: 86–92. doi: 10.1016/j.fct.2010.10.001
- Zhang, C., Shen, X., Chen, J., Jiang, X., Hu, F. (2017). Identification of free radical scavengers from Brazilian green propolis using off-line HPLC-DPPH assay and LC-MS. *J Food Sci*, Jul;82(7):1602-1607. doi: 10.1111/1750-3841.13730.

STORAGE STABILITY OF LOW AND HIGH HEAT TREATED HAZELNUT BEVERAGES

Ilyas Atalar¹, Osman Gul^{2*}, Latife Betül Gul³, Fehmi Yazıcı³

¹ Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Bolu Abant İzzet Baysal University, Bolu, Turkey

² Program of Food Technology, Yeşilyurt Demir-Celik Vocational School, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

³ Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Received / Geliş: 05.07.2019; Accepted / Kabul: 27.09.2019 Published online / Online baskı: 15.10.2019

Atalar, I., Gul, O., Gul, L.B., Yazıcı, F. (2019). Storage stability of low and high heat treated hazelnut beverages. GIDA (2019) 44 (6): 980-987 doi: 10.15237/gida.GD19099

Atalar, İ., Gül, O., Gül, L.B., Yazıcı, F. (2019). Düşük ve yüksek ısı işlem uygulanmış fındık içeceklerinin depolama stabiliteleri. GIDA (2019) 44 (6): 980-987 doi: 10.15237/gida.GD19099

ABSTRACT

In this study, the changes in the quality parameters of hazelnut beverages treated with low (LHT; 72°C for 20 min) and high temperature (HHT; 105°C for 1 min) after high pressure homogenization process were determined during short (10 days) and long term (120 days) storage periods, respectively. Microbial viability was not detected in any thermally treated samples. Although pH and titration acidity values of LHT samples did not show important change during the storage, the pH values of HHT samples decreased significantly. While protein solubility of LHT samples increased during storage, it slightly decreased in HHT samples. Rheological properties and also serum stability of LHT and HHT hazelnut samples changed during storage. Hydroperoxide index value slightly increased in LHT samples while it increased more than three times in HHT samples during storage. As a result, the LHT and HHT hazelnut beverages had different structural and physicochemical properties during storage.

Keywords: Hazelnut beverage, heat treatment, storage stability, hydroperoxide index

DÜŞÜK VE YÜKSEK ISIL İŞLEM UYGULANMIŞ FINDIK İÇECEKLERİNİN DEPOLAMA STABİLİTELERİ

ÖZ

Bu çalışmada, yüksek basınç homojenizasyonu işleminden sonra düşük (LHT; 72 °C'de 20 dak) ve yüksek (HHT; 105 °C'de 1 dak) ısı işlem uygulanan fındık içeceklerinin sırası ile kısa (10 gün) ve uzun süreli (120 gün) depolama süresince kalite parametrelerindeki değişimler belirlenmiştir. Isıl işlem görmüş içeceklerde canlı bakteri tespit edilmemiştir. Düşük sıcaklıkta ısı işlem görmüş örneklerin pH ve titrasyon asitliği değerleri depolama boyunca değişmezken yüksek sıcaklıkta ısı işlem görmüş örneklerin pH değerlerinde azalma gözlenmiştir. LHT örneklerinin protein çözünürlükleri depolama boyunca artarken HHT örneklerinde azalmıştır. LHT ve HHT fındık içeceklerinin reolojik özellikleri ve serum stabiliteleri depolama süresince değişiklik göstermiştir. Depolama boyunca LHT örneklerinde hidroperoksit indeks değeri hafifçe artarken HHT örneklerinde bu artış üç kat daha fazla olmuştur. Sonuç olarak, LHT ve HHT örneklerinde depolama boyunca farklı yapısal ve fizikokimyasal değişimler meydana geldiği gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fındık içeceği, ısı işlem, depolama stabilitesi, hidroperoksit indeks

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ osman.gul@omu.edu.tr

☎ (+90) 362 312 1919 / 7731

☎ (+90) 362 260 5169

INTRODUCTION

Vegetable-based beverages represent a leading growth trend in consumer packaged foods sector. People who are vegetarians, flexitarian, vegan or suffer from lactose intolerance and milk allergy want an alternative to animal milks. Due to the increased trend, different vegetable-based beverages especially soy, almond, cashew and coconut beverages commonly put on the markets and also hazelnut beverage from hazelnut (Bernat et al., 2015) or cold pressed hazelnut cakes which is a by-product from hazelnut oil production (Gul et al., 2017, Gul et al., 2018a, Gul et al., 2018b) has been spread to all over the world. According to the study reported by Şimşek and Aslantaş (1999) and Alasalvar et al. (2003), hazelnut plays an important role in human nutrition because of its special composition of fat, protein, carbohydrate, dietary fiber, vitamins, minerals, phytosterols, and antioxidant phenolics. Its major health benefits are help to reduce LDL cholesterol and increase HDL cholesterol. It is also filled with antioxidants that wipe out damaging free radicals (Oliveira et al., 2008). Hazelnut is evaluated in food industry as the main ingredient (roasted, whitened, sliced, etc.) or raw material for chocolate and oil production. As a higher protein source, hazelnut cake can be evaluated for human nutrition in the production of hazelnut beverage and products.

Vegetable-based beverages are emulsified products that product stability needs to be modified with homogenization and thermal treatment processes. These processes ensure high-quality food products which meaning as guaranty of good nutritional quality, long shelf life, and high colloidal stability. In our previous studies the optimum production conditions and heat treatment parameters were determined according to good stability, physical properties and microbiological safety (Gul et al., 2018b). According to stability and microbiological results, 100 MPa were selected as homogenization pressure, and 72 °C for 20 min (low heat treatment) and 105 °C 1 min (high heat treatment) were chosen as thermal treatment parameters. In the literature there are some studies about the effect of homogenization and heat treatment on

the vegetable beverages (Bernat et al., 2015, Briviba et al., 2016, Rosello-Soto et al., 2018). However, there is no study that has systematically evaluated the changes that occurring in homogenized hazelnut beverage during storage. The present study was conducted to investigate the variation of microbiological, physicochemical and rheological properties of low (at 72 °C for 20 min) and high (at 105 °C for 1 min) thermally treated hazelnut beverages during storage period.

MATERIAL AND METHODS

Material and preparation of hazelnut beverages

The cold press hazelnut cake (4.78% moisture, 95.22% dry matter, 48.23% protein in dry matter, 31.42% carbohydrate in dry matter, 9.78% lipid in dry matter, and 5.79% ash in dry matter), was obtained after cold press extraction of hazelnut oil from whitened hazelnut (Gursoy Hazelnut Production Factory, Ordu, Turkey) and used for hazelnut beverage production. Hazelnut cakes were grounded by using a blender (Waring laboratory blender, Conair Corporation, Stamford, CT, USA) for 10 min and the grounded hazelnuts were mixed with distilled water at 1:10 w/v ground nut-water ratio. The hazelnut-water mixture was homogenized with the homogenizer at 10000 rpm for 10 min (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany). After mixing, high pressure treatment was applied at 100 MPa with two-stage homogenizer (GEA Niro Soavi – Panda PLUS 2000 Homogenizer, GEA Niro Soavi S.P.A., Parma, Italy) and samples were collected in 250 mL glass bottles for thermal treatment.

To obtain thermally treated hazelnut beverage, samples were heated with a water bath (Nuve, Ankara, Turkey) at 72 °C for 20 min for low temperature long time and heated with autoclave (Nuve, Ankara, Turkey) at 105 °C for 1 min for high temperature short time. All samples were rapidly cooled in an ice bath to a temperature of ~4 °C. The low and high heat treated samples were stored at refrigeration temperature for 10 and 120 days, respectively.

Microbiological analysis

Microbiological quality of hazelnut beverage was assessed by enumerating the following microorganisms: mesophilic aerobic bacteria were grown on Plate Count Agar (PCA, Merck, Germany) at 30 °C for 48 h and yeast-mold were grown on yeast glucose chloramphenicol agar (YGC, Merck, Darmstadt, Germany) at 25 °C for 5 day.

Physicochemical analysis

Total solids were determined gravimetrically by using an oven at 105 °C until a constant weight was obtained. Total soluble solids (°Brix) of hazelnut beverage samples were measured at 20 °C using a refractometer. The pH values of the samples were measured with a calibrated pH meter at 25 °C (Eutech Cyberscan pH 2700, Ayer Rajah Crescent, Singapore).

To perform protein solubility, the sample (1 mL) was mixed with 1 mL of Biuret reagent and homogenized by vortex for 1 min. Samples were held 20 min at room conditions, and then, the absorbance of samples was measured at 550 nm by UV spectrometer (Helios Gama, England). Protein solubility of hazelnut beverage was calculated from a standard curve of Bovine Serum Albumin (BSA) (Robinson and Hogden, 1940).

Serum separation of LHT and HHT hazelnut beverage samples was determined by the centrifuge separation method described by Valencia-Flores et al. (2013) with slight modifications. Ten g of hazelnut beverage samples were weighted in 50 mL centrifugation tubes. The samples were centrifuged (Nuve, Ankara, Turkey) at 3400 x g for 15 min at 10 °C. The separated part was weighed, divided by the initial weight of samples and expressed as the percentage.

Hydroperoxide Index

Hazelnut beverage (2 mL) was mixed with methanol (2 mL) and chloroform (4mL) and shaken for 30 s. The mixture was centrifuged (8000 x g, 20 min, 20 °C) and 1 mL of the chloroform phase was transferred to a test tube and mixed with 1 mL of Fe (II)/thiocyanate in methanol/chloroform (1:1). After 10 min

reaction time, the absorbance was measured at 500 nm by UV spectrometer (Helios Gama, England). Data were expressed as meq peroxide L⁻¹ of sample (Valencia-Flores et al., 2013).

Rheological measurements

Rheological properties of hazelnut beverages were measured by using Haake Mars III rheometer (Thermo Scientific, Germany) with a cone and plate system (35 mm diameter, 0.105 mm gap, 2° cone angle) (Gul et al., 2017). Temperature control was achieved with a circulator water bath at 25 °C. Flow behavior properties of hazelnut beverages were determined by recording shear stress values when shearing the samples at linearly increasing shear rates from 1 to 100 s⁻¹ through 120 s. The relationship between shear stress and shear rate was described by Ostwald-de-Waele model (Eq.1).

$$\eta_{app} = K \times \dot{\gamma}^{n-1} \quad (\text{Eq.1})$$

Where η_{app} is the apparent viscosity (Pa.s); K is the consistency index (Pa.sⁿ); $\dot{\gamma}$ is the shear rate (s⁻¹) and n is the flow behavior index (dimensionless). Rheowin 4 Data Manager software (version 4.20, Haake Company, Darmstadt, Germany) was used for calculations. All the rheological parameters were the mean of two measurements per duplicates of hazelnut beverage samples.

Color Properties

Color measurements were performed to determine L^* (lightness), a^* (red-green) and b^* (yellow-blue) values of the hazelnut beverage samples using a colorimeter (Minolta Chroma Meter, CR-400, Osaka, Japan). The total color difference (ΔE) (Eq. 2) was calculated by following equations;

$$\text{Color difference} = \Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2} \quad (\text{Eq. 2})$$

where L_0 , a_0 , and b_0 are the initial color attributes for thermally treated hazelnut beverage samples.

Statistical analysis

Statistical analysis of the samples was performed by the SPSS statistics version 21.0 (SPSS, Chicago,

Illinois, USA). All the experiments were performed in triplicate and the results were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Differences between the samples were determined by using one-way analysis of variance (ANOVA) and multiple comparisons were performed by Duncan's test with a confidence level of 95% ($P < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological quality

The shelf life of foods determines by microbial activity and also biochemical changes occurred during storage period (Achouri et al., 2007). A fast microbial growth takes place in vegetable beverages like hazelnut and tiger nuts due to their chemical composition and neutral pH (Gul et al., 2018b, Rosello-Soto et al., 2018). So that, the preservation treatments like thermal treatment should be applied to extend of vegetable beverage quality over time (Codina-Torrella et al., 2018). The total aerobic bacteria and yeast and mould were not detected in any thermally treated hazelnut sample (below the limit of detection; < 10 organism/g of sample) and also any microbiological growth could not detected during storage period. Similarly, Achouri et al. (2007) stated that all thermal treated freshly soy beverage samples contained very low numbers of

microorganisms (< 10 organisms/g of sample). Ukwuru and Agbodo (2011) also found that there was no growth of microorganisms on the fresh tiger nut beverage samples heated at 75 °C for 15 min (pasteurized) and 145 °C for 15 sec (ultra high temperature) and samples were microbiologically stable during storage period (4 °C) as 2 weeks for pasteurized and 6 weeks for ultra high temperature tiger nut beverages.

Physicochemical properties

The physicochemical changes of low and high thermal treated samples are given in Table 1. The pH value of the LHT samples was stable during storage period, but in HHT samples pH values decreased approximately 0.1 units during storage period of 120 d. This decrease in pH may result from chemical interactions such as lipolysis and proteolysis occurring in hazelnut beverage, which may be an indicator of product acidity (Achouri et al., 2007). The total solid contents of hazelnut beverage samples were determined between 9.42% and 9.53% at the beginning of storage. Although there was a slight increase in total solid contents of low thermal treated samples ($P < 0.05$), no significant change was observed in high thermal treated samples during storage ($P > 0.05$).

Table 1. The physicochemical changes of LHT and HHT hazelnut beverages during short and long time storage periods, respectively

Sample	Storage (days)	pH	Total solid (%)	Water soluble matter ($^{\circ}$ Brix)	Protein Solubility (%)	Serum separation (%)
LHT	0	6.56 \pm 0.01 ^a	9.42 \pm 0.04 ^b	4.9 \pm 0.04 ^b	3.29 \pm 0.12 ^c	49.57 \pm 0.53 ^b
	2	6.55 \pm 0.01 ^a	9.43 \pm 0.06 ^b	4.9 \pm 0.32 ^b	3.33 \pm 0.13 ^c	50.7 \pm 0.27 ^b
	4	6.55 \pm 0.02 ^a	9.45 \pm 0.01 ^b	5.13 \pm 0.05 ^{ab}	3.57 \pm 0.11 ^b	50.08 \pm 0.17 ^b
	6	6.53 \pm 0.02 ^a	9.47 \pm 0.04 ^b	5.22 \pm 0.05 ^{ab}	3.81 \pm 0.12 ^a	52.09 \pm 0.62 ^{ab}
	8	6.54 \pm 0.01 ^a	9.52 \pm 0.02 ^a	5.28 \pm 0.06 ^{ab}	3.84 \pm 0.06 ^a	53.71 \pm 0.43 ^a
	10	6.54 \pm 0.02 ^a	9.53 \pm 0.01 ^a	5.63 \pm 0.05 ^a	3.78 \pm 0.15 ^a	54.72 \pm 0.81 ^a
HHT	0	6.58 \pm 0.02 ^a	9.51 \pm 0.06 ^a	4.39 \pm 0.18 ^a	3.21 \pm 0.08 ^a	46.09 \pm 2.38 ^a
	15	6.56 \pm 0.01 ^a	9.49 \pm 0.06 ^a	4.3 \pm 0.2 ^a	3.18 \pm 0.06 ^a	43.29 \pm 1.96 ^a
	30	6.55 \pm 0.02 ^a	9.48 \pm 0.04 ^a	4.22 \pm 0.06 ^a	3.16 \pm 0.05 ^a	43 \pm 1.3 ^{ab}
	45	6.51 \pm 0.02 ^b	9.48 \pm 0.05 ^a	4.28 \pm 0.25 ^a	3.15 \pm 0.25 ^a	45.31 \pm 1.15 ^a
	60	6.5 \pm 0.02 ^b	9.48 \pm 0.11 ^a	3.93 \pm 0.08 ^b	3.12 \pm 0.32 ^a	45.52 \pm 0.89 ^a
	120	6.45 \pm 0.02 ^b	9.48 \pm 0.1 ^a	3.85 \pm 0.01 ^b	3.09 \pm 0.22 ^a	44.86 \pm 0.94 ^a
		6.47 \pm 0.01 ^b	9.49 \pm 0.03 ^a	3.97 \pm 0.03 ^b	3.1 \pm 0.16 ^a	39.17 \pm 0.25 ^b

Values are means \pm Standard Deviation. ^{a-f} Means within the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

The °Brix value of LHT hazelnut beverage samples increased from 4.9° to 5.63° during storage, however, a slight decrease was determined in HHT hazelnut beverage samples. The increments of °Brix value of LHT samples may be due to an increase of soluble protein during storage period. The decrease of °Brix value of HHT samples can come forward with decreasing protein solubility during storage. The intensity of thermal treatment led to different aggregation behavior in the proteins during the storage period.

The serum separation value of LHT hazelnut beverage slightly increased from 49.57% to 54.72% during the storage period (Table 1). Similarly, Shimoyamada et al. (2008) reported that thermal treatments at 70 and 80 °C caused the increase in precipitation of soy beverage. The opposite situation was observed for HHT samples during the long time storage period. The serum separation value decreased from 46.09% to 39.16% in HHT samples. This could be attributed to aggregation of proteins caused to improvement on the water holding capacity of samples due to high heat treatment. Similar results found by Shimoyamada et al. (2008), who reported that soy beverage heated at higher than 90 °C showed

decrease in precipitation or increase in dispersion stability. Bernat et al. (2015) were found that submitted homogenized hazelnut beverage samples to thermal treatment contribute to stabilizing the emulsions by denaturation of proteins and mainly due to a thickening effect.

Hydroperoxide Index

Hazelnut beverages contain polyunsaturated fatty acids which are very susceptible to oxidation. Oxygen, light, enzymes, and temperature are the main factors that affect the lipid oxidation. In this study the oxidation was evaluated by measuring the hydroperoxides concentration. High heat treatment at 105 °C for 1 min caused to lowering the peroxide index value (0.058 meq peroxide L⁻¹) compared to low heat treatment at 72 °C for 20 min (0.089 meq peroxide L⁻¹) (Figure 1). Similarly, Polisel-Scopel et al. (2012) reported that the hydroperoxide value of soy beverage thermal treated at 95 °C for 30 s was higher than the other sample thermal treated at 142 °C for 6 s. However, Valencia-Flores et al. (2013) did not observe any differences between the treatments at the same homogenization pressure with different temperatures (at 55-75 °C) in the hydroperoxide index value of almonds beverages.

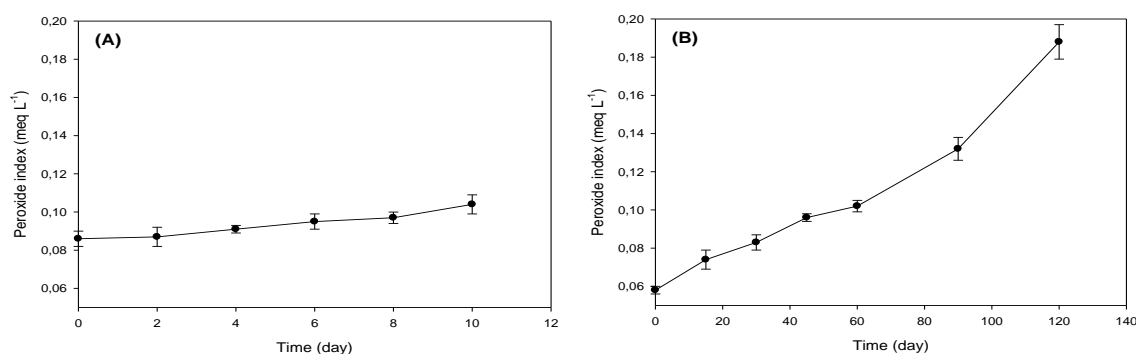


Figure 1. The peroxide index (meq L⁻¹) of LHT (a) and HHT (b) hazelnut beverages during short and long time storage periods, respectively

The hydroperoxide index of LHT samples did not significantly change during short time storage ($P > 0.05$). However, the hydroperoxide index of HHT samples significantly increased during long time storage period and reached 0.188 meq peroxide L⁻¹ at the end of storage period (120

days). The increment of hydroperoxide index demonstrated that autoxidation still continues to occur due to free radicals (peroxides, hydroperoxides) formed by reaction of free fatty acids with the oxygen present in air during storage period.

Rheological measurements

All homogenized hazelnut beverage samples exhibited a non-Newtonian flow behavior ($n < 1$) and viscosity values in the flow curves decreased as the shear rate increased, indicating their shear thinning behavior. Additionally, flow behavior of homogenized samples could be well described by the Ostwald de Waele model ($R^2 > 0.977$).

The heat treatment intensity caused the significant difference in the viscosity and consistency index

of samples at the initial of storage (Table 2). The apparent viscosity of LHT samples was found 0.061 Pa.s while it was found 0.156 Pa.s for HHT samples at the initial of storage. This difference may be due to the protein denaturation and also starch gelatinization during high heat treatment. The presence of aggregates in soy beverage has also been described by Cruz et al. (2007).

Table 2. The rheological changes of LHT and HHT hazelnut beverages during short and long time storage periods, respectively

Sample	Storage (days)	η (Pa.s)	K	n	R^2
LHT	0	0.061±0.005 ^a	0.681±0.02 ^a	0.443±0.028 ^b	0.991
	2	0.044±0.011 ^{bc}	0.410±0.029 ^c	0.481±0.005 ^b	0.997
	4	0.048±0.008 ^b	0.316±0.016 ^d	0.565±0.008 ^a	0.977
	6	0.046±0.003 ^{bc}	0.349±0.02 ^d	0.504±0.022 ^{ab}	0.984
	8	0.038±0.006 ^c	0.393±0.037 ^c	0.488±0.028 ^b	0.985
	10	0.039±0.001 ^c	0.468±0.027 ^b	0.476±0.024 ^b	0.989
HHT	0	0.156±0.013 ^c	7.238±0.18 ^c	0.299±0.017 ^b	0.997
	15	0.257±0.033 ^a	12.707±1.9 ^a	0.345±0.018 ^a	0.995
	30	0.228±0.032 ^{ab}	9.641±0.75 ^b	0.340±0.029 ^a	0.993
	45	0.235±0.002 ^a	8.73±1.72 ^c	0.330±0.013 ^a	0.994
	60	0.193±0.032 ^b	7.38±0.41 ^d	0.323±0.023 ^a	0.994
	90	0.192±0.021 ^b	8.36±2.69 ^c	0.329±0.036 ^a	0.992
120	0.207±0.015 ^b	8.37±2.74 ^c	0.335±0.017 ^a	0.989	

Values are means \pm standard deviation. ^{a-d} Means within the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$. η : apparent viscosity at 50 s⁻¹; K : consistency index; n : flow behavior index; R^2 : determination coefficient of Eq.1

The viscosity and consistency index of low thermal treated hazelnut beverages decreased during the storage. The increase of syneresis value and °Brix could be attributed to the change of rheological behavior during the storage. However, the viscosity and consistency index values of HHT samples increased during the storage. The apparent viscosity was found as 0.207 Pa.s at the end of long time storage. The main reason for the increase of viscosity is the decrease in serum separation values. The denaturation of proteins by heating could have increased the surface hydrophobicity and exposed more sites for hydrophobic interactions with other components, which in turn may have increased the viscosity (Achouri et al., 2007). The

flow behavior index of LHT samples did not change during the short time storage however, slight increase was determined for HHT samples after 15 days.

Color properties

Variations in the color values of hazelnut beverages during storage are given in Table 3. Heat treatment intensity did not make any difference for the lightness index of both treated samples on the first day of storage. The L^* value of the LHT samples showed a partial increase up to the 8th day and this increase became more prominent (82.17) in 10 days. However, no change was observed in the a^* and b^* values of the samples during storage. When the total color

difference of LHT hazelnut beverage during storage was examined, it was determined that more color changes occurred at 6th and 10th day of short time storage period, but this change was slightly noticeable to the eye according to the classification described by Cserhalmi et al. (2006). The L^* value of the HHT sample slightly

decreased from 81.33 to 80.71 however, the a^* value increased from 0.47 to 0.53. The color change of HHT hazelnut beverages compared to the first day became significantly important after 45 days' storage period. At the highest color change observed at the 120th days of storage.

Table 3. The color changes of LHT and HHT hazelnut beverages during short and long time storage periods, respectively

Sample	Storage (days)	L^*	a^*	b^*	ΔE
LHT	0	81.36±0.06 ^d	0.41±0.01 ^a	10.21±0.04 ^a	-
	2	81.66±0.11 ^c	0.32±0.05 ^b	9.92±0.11 ^c	0.37±0.09 ^b
	4	81.75±0.07 ^{bc}	0.38±0.03 ^{ab}	10.05±0.08 ^{bc}	0.39±0.05 ^b
	6	81.68±0.04 ^{bc}	0.36±0.01 ^{ab}	10.17±0.06 ^a	0.78±0.04 ^a
	8	81.84±0.07 ^b	0.35±0.03 ^{ab}	10.19±0.04 ^a	0.43±0.01 ^b
	10	82.17±0.11 ^a	0.36±0.02 ^{ab}	10.22±0.01 ^a	0.77±0.05 ^a
HHT	0	81.33±0.22 ^a	0.47±0.03 ^b	9.95±0.18 ^a	-
	15	81.08±0.12 ^b	0.45±0.02 ^b	10.1±0.09 ^a	0.29±0.03 ^c
	30	81.25±0.15 ^a	0.47±0.04 ^b	10.04±0.16 ^a	0.35±0.07 ^{bc}
	45	81.01±0.04 ^b	0.45±0.02 ^b	10.07±0.07 ^a	0.35±0.03 ^{bc}
	60	81.02±0.09 ^b	0.42±0.01 ^b	9.98±0.02 ^a	0.4±0.02 ^b
	90	80.96±0.05 ^b	0.5±0.02 ^a	10.04±0.08 ^a	0.45±0.03 ^b
	120	80.71±0.15 ^c	0.53±0.03 ^a	10.05±0.03 ^a	0.66±0.04 ^a

Values are means ± Standard Deviation. ^{a-d} Means within the same column with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

CONCLUSIONS

Physicochemical properties and oxidation stability of hazelnut beverages were affected by both thermal treatment intensity and storage time period. Thermal treatments provoked protein denaturation, thus enhancing the aggregation process. For HHT samples the level of aggregation is higher than LHT samples that caused to decrease in the levels of protein solubility and total soluble matter (Brix). High treatment led to an increase in viscosity and consistency index values of samples compared to low treatment. This could be attributed to increase of the surface hydrophobicity of denatured proteins and exposed more sites for hydrophobic interactions with other components. Syneresis degree was reduced with the increase of heat treatment intensity. Hydroperoxide index showed any difference during the short time

storage however, it increased threefold at the end of long time storage period.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the financial support provided by Turkish Scientific and Technical Research Council (TUBITAK) for the project (Project Number: TOVAG 1140174).

REFERENCES

- Achouri, A., Boye, J.I., Zamani, Y. (2007). Changes in soymilk quality as a function of composition and storage. *J Food Quality*. 30: 731-744.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Liyanapathirana, C. M., Ohshima, T. (2003). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional characteristics. *J Agric Food Chem*. 51: 3790-3796.

- Bernat, N., Cháfer, M., Rodríguez-García, J., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2015). Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. *LWT - Food Sci Technol.* 62(1): 488-496.
- Briviba, K., Graf, V., Walz, E., Guamis, B., Butz, P. (2016). Ultra high pressure homogenization of almond milk: Physico-chemical and physiological effects. *Food Chem.* 192: 82-89.
- Codina-Torrella, I., Guamis, B., Zamora, A., Quevedo, J. M., Trujillo, A. J. (2018). Microbiological stabilization of tiger nuts' milk beverage using ultra-high pressure homogenization. A preliminary study on microbial shelf-life extension. *Food Microbiol.* 69: 143-150.
- Cruz, N., Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., Ferragut, V. (2007). Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Res Int.* 40(6): 725-732.
- Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, Á., Tóth-Markus, M., Lechner, N. (2006). Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innov Food Sci Emer.* 7(1-2): 49-54.
- Gul, O., Atalar, I., Mortas, M., Saricaoglu, F.T., Yazıcı, F. (2018a). Application of TOPSIS methodology to determine optimum hazelnut cake concentration and high pressure homogenization condition for hazelnut milk production based on physicochemical, structural and sensory properties. *J Food Meas Charact.* 12: 2404-2415.
- Gul, O., Atalar, I., Saricaoglu, F.T., Yazıcı, F. (2018b). Effect of multi-pass high pressure homogenization on physicochemical properties of hazelnut milk from hazelnut cake: An investigation by response surface methodology. *J Food Process Pres.* 42(5): e13615.
- Gul, O., Saricaoglu, F.T., Mortas, M., Atalar, I., Yazıcı, F. (2017). Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. *Innov Food Sci Emer.* 41: 411-420.
- Oliveira, I., Sousa, A., Morais, J. S., Ferreira, I. C., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J. A. (2008). Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food Chem Toxicol.* 46(5): 1801-1807.
- Poliseli-Scopel, F.H., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V. (2012). Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. *LWT - Food Sci Technol.* 46(1): 42-48.
- Robinson, H.W., Hogden, C.G. (1940). The biuret reaction in the determination of serum proteins. 2. Measurements made by a Duboscq colorimeter compared with values obtained by the Kjeldahl procedure. *J Biol Chem.* 135: 727-731.
- Rosello-Soto, E., Poojary, M.M., Barba, F.J., Koubaa, M., Lorenzo, J.M., Manes, J., Molto, J.C. (2018). Thermal and non-thermal preservation techniques of tiger nuts' beverage "horchata de chufa". Implications for food safety, nutritional and quality properties. *Food Res Int.* 105: 945-951.
- Shimoyamada, M., Tsushima, N., Tsuzuki, K., Asao, H., Yamachi, R. (2008). Effect of heat treatment on dispersion stability of soymilk and heat denaturation of soymilk protein. *Food Sci Technol Res.* 14(1): 32-38.
- Şimşek, A., Aslantaş, R. (1999). Composition of hazelnut and role in human nutrition. *GIDA.* 24(3): 209-216.
- Ukwuru, M.U., Agbodo, A.C. (2011). Effect processing treatment on the quality of Tiger nut milk. *Pak J Nutr.* 10 (1): 95-100.
- Valencia-Flores, D.C., Hernandez-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V. (2013). Comparing the effects of ultra-high-pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical, and chemical quality of almond beverages. *J Food Sci.* 78(2): 199-205.

OPTİMUM BESLENMEDE SAĞLIKLI ATIŞTIRMALIKLARIN YERİ

Celalettin Değerli*, Sedef Nehir El

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

Geliş / Received: 26.03.2019; Kabul / Accepted: 22.08.2019; Online baskı / Published online: 16.10.2019

Değerli, C., El, S.N. (2019). Optimum beslenmede sağlıklı atıştırmalıkların yeri. *GIDA* (2019) 44 (6): 988-999 doi: 10.15237/gida.GD19071

Değerli, C., El, S.N. (2019). Importance of healthy snacks in optimal nutrition. GIDA (2019) 44 (6): 988-999 doi: 10.15237/gida.GD19071

ÖZ

Günümüzde beslenmenin genel sağlığın korunmasındaki önemi, medya araçları ile toplumun her kesimine ulaşacak şekilde popüler bir noktaya gelmiştir. Obezite, tip-2 diyabet, damar sertliği (ateroskleroz) gibi kronik rahatsızlıkların oluşumunun engellenmesi, kilo korunumunun sağlanması gibi gerekçeler ile sağlıklı beslenme arayışının bir yönünü de sağlıklı atıştırmalıklar oluşturmaktadır. Atıştırmalıklar her toplumun beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Fakat gıda endüstrisi tarafından üretilen atıştırmalık reçetelerinin büyük bir kısmı, yüksek enerji ve düşük besin ögesi içerikleri nedeniyle optimum beslenmeye katkıları olmadığı yönünde değerlendirilmektedir. Dolayısıyla üretilmekte olan bu atıştırmalıklarda, reçetelerin yeniden düzenlenmesi bir gereklilik olarak ortaya çıkmıştır. Bu derlemede öncelikle optimum beslenme yaklaşımı ve beslenme rehberleri, çocuk ve ergen beslenmesi, sporcu beslenmesi genel hatlarıyla anlatılmış ve atıştırmalık gıdaların ilgili beslenme şekillerinde yaratmakta olduğu olumsuz etki vurgulanmıştır. Daha sonra atıştırma eyleminin tarihi ve atıştırmalık kültürü anlatılmış, ülkemizde ve dünyada satışa sunulan atıştırmalıklar alanında yapılan düzenlemeler ile sağlıklı atıştırmalıklar alanında yapılan akademik çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Atıştırmalık, optimum beslenme, beslenme rehberleri, çocuk ve ergen beslenmesi, sporcu beslenmesi

IMPORTANCE OF HEALTHY SNACKS IN OPTIMAL NUTRITION

ABSTRACT

Snacks have an important place towards nutrition of every society. However, most recipes of the snacks in the food industry create excessive calorie amount and unbalanced nutrient composition. Recently, importance of nutrition for general protective effects on health such as reducing risk of obesity, type-2 diabetes, atherosclerosis and helping to keep ideal body weight is quite popular to reach every part of the society. Healthy snacks are just another point of healthy nutrition for consumers. In this review, optimum nutrition approach and dietary guidelines, children and adolescence nutrition and sports nutrition expressed in general and the negative effect of snacks on related nutrition types were emphasized, first. After that, the culture of snacking, regulations on snacks and studies on healthy snack development were investigated.

Keywords: Snack, optimum nutrition, dietary guidelines, children and adolescence nutrition, sports nutrition

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉ celal.degerli@yahoo.com

☎ (+90) 536 317 6308

☎ (+90) 232 311 4831

GİRİŞ

2000’li yıllardan itibaren yapılan bilimsel çalışmaların sonuçlarına göre, beslenme tercihleri ve fiziksel aktivite düzeyi, obezite, tip-2 diyabet, insülin direnci gibi bazı kronik hastalıkların oluşum riski üzerine önemli etkenlerdendir. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) 2014 yılı raporunda, Türkiye’deki ölümlerin %47’sinin kalp-damar hastalıkları ve %2’sinin diyabet nedeniyle olduğu belirtilmektedir (WHO, 2014). Sağlık Bakanlığı ve WHO’nun hazırladığı başka bir beslenme ve sağlık raporuna göre Türkiye’de yetişkinlerin %61.9’u fazla kilolu, %27.8’i ise obezdir (WHO, 2013). Obezitede yalnızca Türkiye’de değil, dünya genelinde de küresel boyutta bir artış söz konusudur. Tüm dünyadaki ölüm nedenlerinin ilk 10’unun en başında kalp-damar hastalıkları, altıncı sırada ise Tip 2 diyabet gelmektedir (WHO, 2017).

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından ve Birleşmiş Milletler Tarım Örgütü (FAO) ve WHO ortaklığı ile hazırlanan beslenme rehberine göre optimum beslenme modelinde gıdalar 6 temel gruba ayrılmıştır. Bunlar meyveler, sebzeler, tahıllar (hububatlar), protein grubu (et, tavuk, balık, yumurta, baklagiller ve yağlı yemişler), süt ve süt ürünleri ile yağlar olarak belirlenmiştir. Tüketicinin günlük diyetinde her gıda grubundan farklı gıdalara yer vermesi halinde sağlıklı bir beslenme modeli için ilk basamak tamamlanmış olacaktır. Bununla birlikte, gıdanın sağladığı besin ögesinin yanı sıra sağladığı enerji miktarına da dikkat edilerek gıda seçimlerinin yapılması, ilave şeker ve doymuş yağlardan gelen kalori miktarına dikkat edilmesi ve sodyum alımının azaltılmasının önemli yaklaşımlar olduğu belirtilmektedir. Böylelikle sağlıklı vücut ağırlığına erişilebilecek, zihinsel ve fizyolojik sağlık korunabilecek ve yukarıda sözü edilen kronik rahatsızlıklara yakalanma riski azaltılacaktır (USDA, 2015).

Türkiye’de, dünyadaki örnekleri de referans alınarak “Türkiye Beslenme Rehberi-TÜBER” hazırlanmıştır (TÜBER, 2016). Bu rehberde optimum beslenme yaklaşımı doğrultusundaki diyet önerileri dışında; besin ögesi yetersizliklerinin ve gıda alerjisine sahip bireylerin

yaş gruplarına göre dağılımı gibi özel veriler de bulunmaktadır. Bu rehberde, Türkiye’de toplam protein alımının %58’inin bitkisel gıdalardan sağlandığı görülmektedir. Bu oranın %40’lık bölümü lizin aminoasidi yönünden fakir olan tahıllardan; özellikle de rafine tahıl ürünlerinden gelmektedir. İstatistiklere göre yetişkin bireylerde kadınların %45.3’ü, erkeklerin %26.8’i önerilen protein alım miktarını sağlamayan bir diyetle beslenmektedir (TÜBER, 2016). Toplum genelinde çinko yönünden %44.9, potasyum yönünden ise %96.1 yetersiz beslenme söz konusudur. Toplam yağ alımı ise, Türkiye genelinde, Günlük Referans Değeri (GRD)’nin %48 daha fazlasıdır (Sağlık Bakanlığı, 2014).

TÜBER’de değinilen bir diğer önemli konu da okul çağı ve ergenlik dönemi (6-18 yaş) beslenmesidir. Bu dönemde Türkiye’de görülen sağlık sorunları şişmanlık, obezite, kalsiyum yetersizliği, D vitamini yetersizliği, iyot yetersizliği, anemi (kansızlık), yeme davranışı bozuklukları ve diş çürükleridir (Sağlık Bakanlığı, 2014). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı ve Milli Eğitim Bakanlığı, bu verilerin doğrultusunda bir düzenleme yaparak 2016 yılında “Okul Kantinlerinde Satılacak Gıdalar ve Eğitim Kurumlarındaki Gıda İşletmelerinin Hijyen Yönünden Denetlenmesi” konulu bir genelge yayınlamıştır. Bu genelgede ilköğretim kurumlarında satışı uygun olan ve uygun olmayan gıdalar belirtilmiştir (Milli Eğitim Bakanlığı, 2016). Okul kantinlerinde satışı yasak gıdaların belirlenmesi ile enerji, şeker veya yağ içerikleri oldukça fazla birçok gıda liste dışı kalmıştır. Bununla birlikte, çocukların severek ve ilgi göstererek tercih edebilecekleri, sağlıklı atıştırmalık gıda çeşitlerinin artırılmasıyla ilgili bir gereksinimi de ortaya çıkmıştır.

Atıştırmalıklar aynı zamanda, aktif yaşamın ve spor aktivitelerinin önerildiği bu rehberde, sporcu beslenmesi için de önemli bir noktadadır. Sporcu beslenmesi, yapılan sporun çeşidine, yoğunluğuna, süresine ve sporcunun fiziksel durumuna göre farklılık gösterebilen oldukça önemli bir alan olmakla birlikte, beslenmenin, genetik yapı ve fiziksel kondisyon ile birlikte performansı etkileyen temel faktörlerden biri

olduğu kanıtlanmıştır (Ersoy ve Hasbay, 2008). Dikkat edilmesi gereken en önemli konular, sporcunun enerji ve besin ögesi ihtiyacındaki değişimlere göre menü planlaması, egzersiz zamanına göre gıda alımının doğru zamanda yapılması ve bununla birlikte sporcunun damak zevkine uygun tercihlerin olmasıdır. Ancak, genellikle sporcular ve çalıştırıcılar, optimum performansı sağlayacak diyet uygulamalarından daha ziyade, doğrudan performansta artışa yol açabilecek gıdalar ve/veya bileşenler arayışındadırlar. Mevcut çalışmaların ışığında sporcu performansına doğrudan olumlu etki edecek, bilimsel olarak kanıtlanmış herhangi bir gıda veya bileşen yoktur. Yalnızca ergojenik yardımcı olarak nitelendirilen kafein, kreatin fosfat, β -alanin, nitrat ve sodyum bikarbonatın belirli dozlarda, yeterli bir diyet ile birlikte sporcu performansını artırmaya yardımcı olduğuna dair bulgular mevcuttur (Thomas vd., 2016). Sporcunun kalori ve besin öğelerine olan ihtiyacı, tükettiği gıda miktarının da artmasına yol açmaktadır. Gıda miktarındaki bu artış, sporcunun bir öğünde tüketebileceği yaklaşık miktar göz önüne alındığında çoğu zaman 3 ana öğün ile tamamlanamayan bir açık oluşturmaktadır. Bu açığın kapatılması, ana öğünlerin yanı sıra ara öğünler için duysal yönden çekici, besleyici ve sağlıklı atıştırılabilir (katı ve sıvı formlarda) tasarımları ile mümkün görülmektedir.

Atıştırılabilir tasarımları ile diyet ve/veya ara öğün uygulamalarında ihmal edilen konulardan biri de tüketicinin damak zevkine uygun seçimlerin yapılamamasıdır. Uluslararası bir anket şirketinin 2016 yılında gerçekleştirdiği tüketici anketlerinde Türk tüketicisine atıştırılabilirlerde öncelikli tercihleri sorulmuştur. Buna göre tüketicilerin %70'i meyve çeşitlerini, %58'i bisküvi ve %18'i barları atıştırılabilir kategorisinde tercih etmişlerdir. Yine, Türk tüketicisinin %51'i zaman bulamadığı için öğün atladığını ve atıştırılabilir tükettiğini bildirmiştir. Anket çalışmasının sonucunda, 'şeker ilavesiz', 'lif kaynağı', 'proteince zengin', 'kalorisi azaltılmış', 'düşük sodyumlu' gibi beslenme beyanlarına sahip atıştırılabilirleri tercih eden, bilinçli bir tüketici grubunun oluştuğu görülmüştür (New Nutrition Business, 2016).

Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından, Avrupa Birliği yönetmeliklerine uyum çalışmaları çerçevesinde beslenme ve sağlık beyanları üzerine yapılan düzenlemeler ile 200'den fazla beyanın yapılmasına olanak tanıyan bir 'Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği' yayınlanmıştır (Resmi Gazete, 2017).

OPTİMUM BESLENME YAKLAŞIMI VE BESLENME REHBERLERİ

Yaşamın ideal kalitede sürdürülmesi, büyümenin ve gelişmenin eksiksiz sağlanması, zihinsel, fiziksel ve duysal sağlığın korunması için, gerekli besin öğelerinin ve biyoaktif bileşenlerin tüketilmesi, optimum beslenme yaklaşımının temelidir. Buna göre, yaşamsal faaliyetlerin devamı için enerji, makro besin öğeleri (karbonhidratlar, proteinler ve yağlar) ve mikro besin öğeleri (vitaminler, mineraller) günlük gereksinimi karşılayacak düzeyde alınmalıdır. Buna ilave olarak, sağlık üzerine potansiyel olumlu etkileri bilinen biyoaktif bileşenlerin (peptitler, fitosteroller, antioksidanlar, karotenoidler, fenolik bileşikler, koenzim Q₁₀ gibi) alınması ile ileriki yaşlarda karşılaşılabilecek hastalıkların riskinin azaltılması amaçlanmaktadır (El ve Şimsek, 2012). Optimum beslenmenin toplum geneline yayılabilmesi için çoğu ülkede beslenme rehberleri yayınlanmaktadır. Bu rehberler genellikle 5 temel prensip üzerine hazırlanmaktadır:

-Toplumlar için diyet, gıdaların vücuda alınmasından daha fazlasını ifade etmekte; aynı zamanda sosyal ve kültürel değerler barındıran bir alışkanlığı da oluşturmaktadır. Bu nedenle diyet önerilerinde, toplum sağlığı öncelikle gözetilecek şekilde, gıdaların hangi kombinasyonlarla hazırlanabileceği ve tüketilebileceği; sosyal ve kültürel gıda tercihleriyle harmanlanmalıdır.

-Beslenme önerileri, ülkedeki gıda kaynakları ve genel toplum sağlığındaki değişimlere göre düzenlenmelidir. Örneğin, nüfusun önemli bir paydasında toplam yağ alımı yetersizliği görülmeye başlanmışsa, diyetteki toplam yağ miktarını artıracak beslenme önerileri yapılmalıdır.

-Sağlıklı beslenme önerileri aynı zamanda sosyal ve çevresel yönden sürdürülebilir nitelikte olmalıdır. Ülkenin beslenme alışkanlıklarına uygun olmasının yanında, ham madde kaynakları

ve ekonomik özellikleri de dikkate alınarak, rasyonel nitelikte olmalıdır.

-Yapılacak öneriler farklı kaynaklardan elde edilmiş ve bilimsel olarak kanıtlanmış bilgilerin ışığında olmalıdır.

-Beslenme önerileri toplum genelinde bir refleks yaratmalı; yeterli gıdaya ulaşabilmenin temel haklardan biri olduğu bilincini oluşturmali ve/veya bu bilinci desteklemelidir (Pérez-Escamilla, 2016; USDA, 2015; Ministry of Health of Brazil, 2014; Republic of South Africa Department of Health, 2013; TÜBER, 2016).

Beslenme rehberlerindeki beslenme önerileri, o ülkeye ait sağlık istatistiklerine ve besin ögesi yetersizliği verilerine göre yapılmaktadır. Türkiye’de diyet lifi yönünden yetersiz beslenenlerin oranı %68.2, proteince eksik beslenenlerin oranı %37.9’dur. Tüketimi artırılması gereken gıdalar günlük taze meyveler ve sebzeler, tam tahıllar, kuru baklagiller, süt ve süt ürünleri, balık ve deniz ürünleridir. Ayrıca D vitamininin Türkiye genelinde tüm yaş gruplarında yetersiz olması dikkat çekmektedir (TÜBER, 2016). Bu yetersizlikler için beslenme önerileri yapılırken alınan gıdanın günlük enerjiyi sağlama oranının, besin ögesini sağlama oranından düşük olmasına (besin ögesi yoğunluğunun yüksek olmasına) dikkat edilmelidir. Ayrıca çeşitliliğin artırılması, porsiyon miktarının azaltılması, ilave şeker ve doymuş yağlardan gelen kaloringin azaltılması, sodyum alımının azaltılması ve bu yaklaşımların ev, işyeri, okul, vb. her yerde uygulanması gerekmektedir (USDA, 2015; TÜBER, 2016).

Okul Çağı ve Ergenlik Döneminde Beslenme
Sağlıklı bir yaşam için beslenmenin her yaş grubunu kapsayacak şekilde önemi kanıtlanmış olmakla birlikte, okul çağı ve ergenlik döneminde duysal yönden oldukça çekici olan, toplam kaloringin ve yağ içeriği yüksek, besin ögesi dengesi sağlanmamış ana ve ara öğünlerin ileriki yaşlardaki hastalık risklerini artırıcı etkisi önemsenmelidir. Öncelikle tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de çocukların genellikle kahvaltılı öğününü atladıkları görülmektedir. Türkiye’de çocukların günlük protein alımı GRD’nin oldukça altındadır. Bu durum, lif, B₁₂ vitamini, magnezyum, iyot ve

potasyum için de geçerlidir. D vitamini 6-18 yaş grubunda %99.1 oranında yetersizdir, yine ülke genelinde çocukların %73’ü kalsiyum, %45.7’si çinko, %48’i demir, %29.8’i C vitamini ve %43’ü de E vitamini yönünden GRD’nin altında beslenmektedir. Ayrıca TÜBER’de çocuk ve ergen beslenmesi için örnek menü planlamaları da yapılmıştır (Sağlık Bakanlığı, 2014; TÜBER, 2016). Milli Eğitim Bakanlığı tarafından yayımlanan ‘Okul Kantinlerinde Satılacak Gıdalar’ genelgesi ile çocuk ve ergen beslenmesinin önemi vurgulanmıştır (Milli Eğitim Bakanlığı, 2016). Bu genelgede satışı yasaklanan ve izin verilen yiyecek ve içecekler listelenmiştir ve ambalajlı gıdalar için satışa uygunluk ölçütleri belirtilmiştir (Çizelge 1). Bir başka çalışma ise ‘Beslenme Dostu Okullar Projesi’ çerçevesinde Sağlık Bakanlığı tarafından yürütülen ‘Beslenme Dostu Okul Sertifikası’ programıdır. Bu projeye dâhil olacak kurumlarda sağlıklı beslenme ve fiziksel aktiviteye yönelik faaliyetler ve düzenlemeler yapılması istenmektedir. Proje ölçütlerini yerine getiren 2237 okul 2016 yılı itibariyle ‘Beslenme Dostu’ unvanı almaya hak kazanmıştır (Milli Eğitim Bakanlığı, 2016; Sağlık Bakanlığı, 2016).

Sporcu Beslenmesi

TÜBER’de sporcu beslenmesi bir başlık altında toplanmış ve makro/mikro besin ögeleri ile yeterli sıvı alımı önerilerinde bulunulmuştur. Sporcu gereksinimi olan karbonhidratların -çeşitlilik vurgusu yapılarak- tahıllardan, baklagillerden, meyve ve sebzelerden sağlanması gerektiği belirtilmiştir (TÜBER, 2016). Spor yapan bireyin enerji gereksinimini sağlamak, kas glikojeni depolarını dolu ve gerektiğinde harcayacak şekilde hazır tutabilmek için kompleks karbonhidrat alımını artırması gerekmektedir. Glikojen depoları, sporcunun performansını belirleyen önemli bir faktördür ve doğru bir diyetle ve egzersiz programıyla bu depoların kapasitesi de artırılabilir. Optimum beslenme yaklaşımında günlük diyetinde tüketilen karbonhidrat miktarının, alınan enerjinin toplam enerjinin %50-55’ini sağlaması önerilmektedir. Sporcu beslenmesinde ise bu oranın yoğun egzersiz döneminde veya dayanıklılık sporlarında (maraton, triatlon, bisiklet turları ve yüzme şampiyonaları gibi) %70’e kadar çıkabilmektedir.

Vücut geliştirme ve profesyonel düzeydeki dayanıklılık sporları haricinde sporcunun protein ihtiyacı genellikle değişmemektedir (günde 0.9-1 g protein/kg vücut ağırlığı). Alternatif bir yaklaşım olarak, yapılan spor sonrası GRD'ye ilave olarak kg vücut ağırlığı başına 0.3 g protein alımı önerilmektedir. Ancak bu yeni yaklaşımın genel kabul görebilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Carlsohn, 2016; Phillips, 2014; Thomas et al., 2016). Genel olarak sporcu için porsiyon miktarının artırılması, iştah duyulmadığı halde yemek zorunda kalınması ve yemek

yemenin çekici gelmemesine yol açmaktadır. Bu nedenle ana öğünlerde tüketilen gıda miktarını artırmak yerine, ara öğün sayısının veya ara öğünlerdeki porsiyon miktarının artırılması tercih edilmektedir (Kreider et al., 2010). Gıda endüstrisi tarafından gerçekleştirilen anket çalışmaları sonucunda, gıda üreticileri sporcu beslenmesine uygun reçetelere sahip, besin ögesi yoğunluğu yüksek atıştırmalıklar geliştirilmektedir. Bu atıştırmalıklar genellikle izotonik içecek, bar, kurabiye, jel ve kek formundadır (Isostar, 2019; Sante, 2019, Powerbar, 2019).

Çizelge 1: Ambalajlı gıdalar için kantinlerde satışa uygunluk ölçütleri (Milli Eğitim Bakanlığı, 2016)

Ürün Özelliği

- Ürünün toplam enerji içeriği 200 kkal değerini aşmamalıdır.
- Ürünün yağdan gelen enerjisi toplam enerjinin %35'ini aşmamalıdır.
- Ürünün doymuş yağdan gelen enerjisi toplam enerjinin %10'unu aşmamalıdır.
- Doğal ve eklenmiş şekerden gelen enerji toplam enerjinin %10'unu aşmamalıdır.
- Ürünün sodyum içeriği 200 mg değerini aşmamalıdır.
- Dondurma, sütlü buz, bitkisel yağlı sütlü buz, sütlü tatlılarda ürünün enerjisi ve doymuş yağ içeriği 150 kkal ve 3 g değerini aşmamalıdır.
- Yenilebilir buzlu ürünler %99'dan fazla meyve suyu içermeli, şeker eklenmemiş ve miktarlı 125 mL'den az olmalıdır.
- Ezilmiş/kırılmış buzlu içecekler %99'dan fazla meyve suyu içermeli, şeker eklenmemiş ve miktarlı 200 mL'den az olmalıdır.
- Üretiminde şeker kullanılan, çeşnili ve/veya aroma verici içeren içme sütlerinde; eklenmiş şeker 5 g/100 mL ve toplam şeker 9,5 g/100 mL değerlerini aşmamalıdır.
- Üretiminde şeker kullanılan çeşnili ve/veya aroma verici içeren yoğurtlarda; toplam şeker miktarı 12,5 g/100 g değerini aşmamalıdır
- Meyve ve sebze suları %100 meyve ve sebze suyu olmalı, ilave şeker içermemeli, 250 mL'den büyük olmamalıdır.
- Liselerde çay ve kahve tarzı içecekler en fazla 375 mL olmalıdır.

ATIŞTIRMALIK GIDALAR VE YASAL DÜZENLEMELER

Atıştırmalık gıdalar yüzyıllardır evlerde hazırlanmakta ve yaklaşık yüz yıldır gıda endüstrisi tarafından üretilmektedir. "Atıştırmak" (snacking), "atıştırmalık" (snack) ve "atıştırmalık gıda" (snack food) kelimeleri için kesin bir tanım yapılamamaktadır. Bunun nedenleri tüketici ve atıştırmalık kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Tüketicinin yaşı, cinsiyeti, vücut ağırlığı, başta gelenekler olmak üzere tüketicinin ait olduğu kültürel farklılıklar ve ekonomik durumundaki farklılıklar öne çıkmaktadır. Atıştırmalık gıdanın ise tüketildiği zamanın, porsiyon miktarının, tüketildiği yerin ve tüketim sıklığının kişiden kişiye

değişkenlik göstermesi, bu kavramlar için kesin bir tanım yapılabilmesine engel olmaktadır. Yine de çoğu beslenme rehberinde ana öğünler arasında tüketilen yiyecekler ve kalori içeren içeceklerin tamamına, kısaca atıştırmak eylemi yapılan her gıdaya "atıştırmalık" adı verilmektedir. "Atıştırmalık gıda" ise bazı rehberlerde yalnızca bir dizi işlem uygulanmış, besin ögesi yönünden zayıf ama enerji değeri yüksek; yani besin ögesi yoğunluğu düşük olan gıdaları kapsamaktadır (Bellisle, 2014; Grunert vd., 2016; Hess vd., 2016; Zizza, 2014). "Atıştırmak" ise kısa sürede tüketilen, kısa süreli tokluk hissi yaratan, sağlıklı bileşenler içeren/içermeyen gıdaları tüketme eylemi olarak tanımlanmaktadır. Çizelge 2'de bazı

ülkelerde en sık tüketilen atıştırma ürünlerinin genel tüketici atıştırma tercihlerindeki yüzdesi verilmiştir (Hess vd., 2016). Atıştırmanın zamanlaması da kültürden kültüre farklılık yaratmaktadır: Fransa’da *gouter* (öğle ve akşam yemeği arası), Filipinler’de *merienda* (öğle ve akşam yemeği arası) ve Güney Amerika’nın genelinde *almuerzo* (kahvaltı ve öğle arası) şeklinde adlandırılmaktadır. Günümüzde özellikle nüfusu

yüksek şehirlerde beslenme tercihleri değişkenlik göstermekte ve atıştırma ürünlerine fazla yönelim yaratmaktadır. Tüketiciler, yoğun iş tempolarında zaman kazanmak amacıyla öğün sürelerini kısaltmakta veya atlamaktadır. Ancak endüstriyel olarak üretilen kek, bisküvi, bar, kraker gibi atıştırma ürünlerinde tuz, ilave şeker içeriği ve enerji değeri yüksektir (United States Department of Agriculture, 2015).

Çizelge 2. Ülkelere göre en çok tüketilen atıştırma ürünleri (Hess vd., 2016).

Atıştırma Ürünü	Ülke	Tüm Atıştırma Ürünleri Grubundaki Tüketim Yüzdesi
Tuzlu Krakerler	ABD ve Kanada	%14,3
Tatlılar (kurabiye, kek, vs.)	ABD	%19,6
Sütlü Tatlılar (şekerli yoğurt, sütlaç, muhallebi, vs.)	Yunanistan	%50
Meyve	Meksika ve Brezilya	%50
Şekerlemeler	Çin, Umman, Fransa	%50

Atıştırma ürünleri ve tüketici tercihlerini farklı yönlerden inceleyen birçok anket çalışması yapılmıştır. Tüketicilerin beslenme ve atıştırma yönelimlerini belirleyebilmek için 1994 yılında John De Castro tarafından geliştirilen “The Weekly Food Diary” (Haftalık Gıda Günlüğü) sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemde çalışmaya katılan tüketicinin bir hafta boyunca gerçekleştirdiği tüm gıda tüketimini zaman, yer, neden, süre, porsiyon miktarı, lezzet ve duygusal durum gibi ölçütlerini de belirterek kaydetmesi istenmektedir (De Castro, 1994). Yirmi bir Avrupa ülkesini kapsayan ve 16486 kişiyle yapılan bir anket çalışmasında, tüketicilerin günde 2.8 öğün yemek yedikleri ve 1.6 kez atıştırma ürünü tükettikleri sonucu ortaya çıkmıştır (Bellisle, 2014). Başka bir çalışmada günde 1 ana öğünü atlayan ve bunun yerine atıştırma ürünleri tüketen bireylerin, günde 3 ana öğün sıklığında beslenen bireylere göre daha az B₆ vitamini, folik asit, kalsiyum, magnezyum, çinko, demir, sodyum, potasyum ve diyet lif aldıkları belirlenmiştir (Kerver vd., 2006). Başka bir çalışmada, birbiri ile aynı miktarda enerji sağlayan (izokalorik) atıştırma ürünü veya öğün tüketen bireylerin tokluk duygusu karşılaştırılmıştır. Aynı enerji değerine sahip olmalarına rağmen atıştırma ürünleri tüketen bireylerdeki tokluk duygusunun, öğün tüketenlere

göre daha kısa süreli olduğu görülmüştür (Capaldi vd., 2006; Hess vd., 2016). Tüketicinin atıştırma eylemine iten nedenlerin incelendiği anket çalışmaları da mevcuttur. Burada özellikle göze çarpan nedenlerden biri sosyal çevredir. Yemek yemekte olan kişiye eşlik eden ve daha fazla miktarda yiyen birinin, kişiyi de daha fazla yeme eğilimine yönelttiği görülmüştür. Yalnız yemek yiyen biri için de çevredeki uyaranlar; örneğin çevrede bulunan reklam panoları veya cep telefonlarına gelen mesaj reklamları, kişiyi tok hissederken bile yemek yemeye yönlendirebilmektedir. Öte yandan çeşitli kutlama, düğün, vb. etkinliklerde sunulan atıştırma ürünleri seçeneklerinin neredeyse tamamının kontrolsüz miktarlarda şeker, tuz ve/veya yağ içeren yüksek kalorili ürünler (çips, kraker, tatlılar, tuzlanmış ve kavrulmuş kuruyemişler, vb.) olması da sosyal çevrenin kişiyi, ihtiyacı olmadığı miktarlarda atıştırmaya yönelten önemli bir faktör olduğunu doğrulamaktadır. Bir diğer dikkat çekici detay da bilişsel faktörlerdir. Televizyon izleme ve bilgisayarda çalışma gibi eylemler, can sıkıntısı veya bekleyerek geçen zaman, kişiyi atıştırmaya iten faktörler olarak öne çıkmaktadır (Chapman vd., 2014; Oldham-Cooper vd., 2011).

Atıştırılabilir gıdaların üretim yöntemleri başlıca fırınlama, kızartma ve ekstrüzyondur. Özellikle kızartılmış ve ekstrüde ürünler yüksek kalori içermekte, besleyicilik yönünden oldukça zayıf kalmaktadır. Beslenme rehberlerinde atıştırılabilir gıdaların tüketiminin azaltılması ve gerekiyorsa porsiyon miktarının düzenlenmesi vurgulanmaktadır. Genel olarak atıştırılabilir önerileri, yemek kültürüne özgü atıştırılabilirler (baklagiller, tropik meyveler, kuru balık, özel peynirler, reçelli ve tereyağlı ekmekler gibi) haricinde, yoğurt ve benzeri süt ürünleri, kuruyemişler, kuru meyveler, taze meyve-sebzeler, tam tahıllı peksimetler ve bisküviler ile ilave şeker içermeyen içecekleri kapsamaktadır (Hess vd., 2016). TÜBER’de atıştırılabilir gıdaların tüketiminin azaltılması gerektiği kısaca belirtilmiştir. Ayrıca Türkiye’de besin ögesi

yetersizliği görülen ve dikkat çekilmesi gereken çocuk beslenmesi, işçi beslenmesi ve sporcu beslenmesi için hazırlanmış başlıkların altında, mutlaka ara öğünlere yer verilmesi gerektiği, bu ara öğünlerde küçük peynirli sandviçler, kuru yemişler, yoğurt veya meyve tüketimi önerilmiştir (TÜBER, 2016).

ABD Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından yayınlanan ve 2015-2020 yıllarını kapsayacak şekilde düzenlenen beslenme rehberinde, yeni başlatılan ‘*Smart Snack*’ (akıllı atıştırılabilir; SS) projesinde atıştırılabilir gıdalar özelinde okullarda sağlıklı beslenme ve beslenme eğitimi hedef alınmıştır. Yayınlanan SS standardında (Çizelge 3), bir atıştırılabilirin SS olarak kabul edilmesi için gerekli özellikleri şu şekilde belirtilmiştir:

Çizelge 3. ‘Smart snacks’(SS) atıştırılabilir standardı ölçütleri (USDA, 2016).

Toplam Enerji	Sodyum	Toplam Şeker	Toplam Yağ	Doymuş Yağ
Porsiyon (30 g) ≤ 200 kkal	≤200 mg	Kütlece %35’i veya daha azı	Toplam enerjinin %35’i veya daha azı	Toplam enerjinin %10’undan az

-Atıştırılabilirin temel bileşeni tam tahıl, meyve-sebze, süt ve süt ürünü veya protein içeren bir gıda olmalıdır veya %25’i meyve ve/veya sebzedden oluşan bir gıda karışımı olmalıdır.

-Atıştırılabilir aynı zamanda Çizelge 3’te belirtilen diğer ölçütleri de sağlamalıdır.

SS standartlarının kullanımının yaygınlaşması için iki uygulama planlanmıştır. Bunlardan birincisi ‘Smart Food Planner’ adında SS standartlarını sağlayan ürünlerin kabul edildiği ve listelendiği bir veri tabanıdır (Alliance for a Healthier Generations, 2019a). İkinci ise ‘Smart Snack Calculator’ adıyla geliştirilen SS besin ögesi miktarının hesaplanmasıdır. Bu programda, tüketicinin satın aldığı ürünün veya üreticinin geliştirdiği ürünün kategorisine (atıştırılabilir, içecek ve başlangıçlar) göre veri girmesi (porsiyondaki yağ miktarı, sodyum içeriği gibi) istenmektedir. Girilen verilerin hesaplanmasının ardından kişiye ürününün SS ölçütlerini sağladığı veya sağlamadığı gerekçeleri ile bildirilmektedir (Alliance for a Healthier Generations, 2019b). Eğitim kurumlarında SS içecekler kategorisine de standartlar getirilmiştir. Buna göre su ve soda

tüketimi sınırsızdır. %100 meyve ve sebze suları, süt ve tatlandırıcı içermeyen meyveli içeceklerin satışı ilkokullarda 250 mL/porsiyon, ortaokul ve liselerde 350 mL/porsiyon ile sınırlandırılmıştır (United States Department of Agriculture, 2016).

BESLEYİCİ VE SAĞLIKLI ATIŞTIRMALIK TASARIMLARI

Besin ögesi yetersizlikleri veya fazlalıkları konusunda yapılabilecekler katkıda bulunmak üzere, ara öğünlerde tüketilen atıştırılabilirlerin protein, yağ asitleri ve diyet lif yönünden zenginleştirilmesi önemli yaklaşımlar olarak uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra karotenoidler, resveratrol, koenzim Q₁₀ ve L-karnitin gibi biyoaktif bileşenlerce zenginleştirilmiş atıştırılabilirler üzerine de akademik ve endüstriyel çalışmalar mevcuttur. Bu konuda gıda endüstrisi tarafından yapılan önemli yaklaşımlardan biri, gıdaların enerjisini azaltırken besin öğelerinin korunması veya besin ögesi içeriğinin artırılmasıdır (El ve Simsek, 2012; Marques, vd., 2016). Yağ ve şeker ikamelerinin kullanılması, diyet liflerince zengin atıştırılabilirler tasarlanması veya mevcut atıştırılabilirlerin bu bileşenler ile

zenginleştirilmesi önem kazanmıştır. Danimarkalı bir grup araştırmacı “*İdeal atıştırmalık nasıl olmalı?*” sorusundan yola çıkarak, çok disiplinli (gıda teknolojisi, beslenme, psikoloji ve ekonomi) bir anlayışla ‘cool snacks’ projesini geliştirmiştir. Bu projede 10-16 yaş grubundaki bireylerin atıştırmalıklara yaklaşımları incelenmiştir. İlgili anket çalışmalarıyla, öncelikle bireylerin mevcut atıştırma alışkanlıkları incelenmiş, ideal atıştırmalıktan beklentileri (lezzet, görünüş, ambalaj, tüketim yeri ve şekli) sorulmuştur. Alınan cevaplara göre ülkedeki besin ögesi eksiklikleri de gözeticilerle, modern teknoloji ve dahası ülkenin lojistik şartlarına da uygun olacak şekilde örnek atıştırmalıklar hazırlanmış, bireylerin beğenisine sunulmuştur. Meyve grubundan üzüm (%23), ekmek grubundan krema-soğanlı (%39) olan örnekler en yüksek beğeniye sahip olmuştur. Soslar arasında ise en çok beğeniye karamel (%70) almıştır. Bu çalışmayla ilgili başka bir detay da örnek atıştırmalıkların karışıma hazır (*Do It Yourself; DIY*) ve karıştırılmış olarak iki seçenekle sunulmasıdır. Bu yönden bakıldığında da önceden karıştırılmış olarak paketlenen ürünlerin görsel çekiciliğinin azaldığı sonucuna ulaşılmıştır (Grunert vd., 2016).

Günümüzde atıştırmalıkların zenginleştirilmesi veya tasarımı ile ilgili yayınlar her geçen yıl artmaktadır. Bu makalenin yazarları tarafından 2018 yılında tamamlanan bir yüksek lisans tezi çalışmasında, proteince zengin sağlıklı ve besleyici atıştırmalık tasarımları yapılmıştır. Atıştırmalıklar hazırlanırken *Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları* (Resmi Gazete, 2017) dikkate alınarak hazırlanan bisküvi ve barlar, fonksiyonel bileşenler (keçi kefir tozu, nohut unu, peynir altı suyu tozu ve inülin) ile zenginleştirilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, bar örneklerinde *yüksek protein, yüksek lif, orta glisemik yük ve şeker ilavesiz* beyanları yapılabilirken; bisküvi örneğinde *şeker ilavesiz, düşük glisemik indeks, yüksek protein* beyanları yapılabilmektedir (Değerli, 2018). Bu alanda sık kullanılan ham maddelerden biri peynir altı suyu konsantresidir (PSK) (Aggarwal vd., 2016; Brown vd., 2004; Marques vd., 2016). Aggarwal vd. (2016) bisküvi üretiminde un karışımında %70’lik PSK ve reçetede tatlandırıcı (polidekstroz ve maltitol) kullanarak son ürünlerdeki yağ ve şeker

oranını azaltmayı amaçlamıştır. Çalışma sonunda duyuusal yönden başarılı ve enerjisi %15.98 oranında azaltılmış bisküviler üretilmiştir. Bir diğer çalışmada PSK’nın şekerli kurabiye üretiminde buğday unu ile yer değiştirmesi amaçlanmıştır. Üretimin ardından kütlece %30 protein içeriğine sahip kurabiyeler, duyuusal yönden de başarılı bulunmuş; şeker ilavesiz ve yüksek protein içeriği beyanlarına sahip bir ürün elde edilmiştir (Marques vd., 2016). Proteince zenginleştirmenin açlık/tokluk ilişkisine etkisinin incelendiği, 15 yetişkin kadın (yaş: 26±2) ile yapılan bir çalışmada 3 farklı protein yüzdesine sahip yoğurt atıştırmalık olarak deneklere sunulmuştur. Deneklerin yoğurdu öğle yemeği ile akşam yemeği arasında belirlenen bir saatte tüketmeleri sağlanmıştır. Ardından 5 saat boyunca 1’er saat arayla deneklere akşam yemeği sunulmuştur. %24 protein yüzdesine sahip yoğurt tüketen deneklerde, düşük protein içeren yoğurt tüketenlere göre açlık duygusunun belirgin bir şekilde azaldığı ve tokluk duygusunun uzadığı belirlenmiştir (p<0.05) (Douglas vd., 2013). Diğer bir çalışmada %2.6 oranında *Spirulina* sp. LEB 18 ile zenginleştirilmiş organik mısır ve organik pirinç unları karışımından ekstrüde atıştırmalıklar hazırlanmıştır. Analizlerin sonucunda toplam protein, yağ ve mineral miktarlarında kontrol atıştırmalıklarına göre sırasıyla %22.6, %28.1 ve %46.6 oranlarında artış kaydedilmiştir. Kalite yönünden incelendiğinde, sertlik değerlerinde belirgin bir fark kaydedilmeyen (p>0.05) örnekler aynı zamanda %82 düzeyinde duyuusal kabul almıştır (Lucas, Morais, Santos, Costa, 2018).

Proteince yapılan zenginleştirmelerin dışında diyet lifi ve bazı yağ asitleri ile yapılan ürün geliştirme çalışmaları da mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde inülinle zenginleştirilmiş, maltitol ilaveli ve şekerli azaltılmış yulaf bisküvi üretilmiştir. Yapılan analizler sonucu bisküvilerin yüksek lif içeriğine ve düşük glisemik indekse (32/100) sahip olduğu tespit edilmiştir (Stamatakis vd., 2016). Diyet lif yönünden zenginleştirme denemelerinden biri de çeşitli yöntemlerle ham maddelerin dirençli nişasta (DN) içeriğinin artırılması ya da dışarıdan DN ilavesidir. Dünya genelinde sıkça tüketilen sütlü tatlılardan biri olan pudinglerde yapılan bir çalışmada yüksek amilozlu

mısır nişastası (YAMN) kullanılarak dirençli nişasta zenginleştirilmesi yapılmıştır (Ares vd., 2009). DN ile yapılan başka bir zenginleştirme çalışmasında granola barlar ve kahvaltılık gevrekler üretilmiştir. Her iki ürün için de sırasıyla DN içermeyen kontrol ve iki farklı oranda (kütlice %10 ve %15 DN içeriği) zenginleştirme yapılmış örneklerin duyu ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Her iki örnek de duyu yönden tüketici kabulü sağlamayı başarmıştır (Aigster vd., 2011). Baklagil unları (mercimek, sarı bezelye, bezelye, nohut) ve hububat unları (buğday, pirinç, arpa, mısır) karışımları ile hazırlanan ekstrüde atıştırmalıkların nişasta hidrolizi hızına etkisi incelendiği bir çalışmada, zamana bağlı açığa çıkan glukoz miktarları eğrisinin altında kalan alanlar karşılaştırıldığında, baklagil unu ilave edilmiş karışımların daha küçük değerler aldığı belirlenmiştir. En büyük düşüşün ($p>0.05$) nohut ve buğday unu içeren karışımda hesaplandığı kaydedilmiştir (Patil, Brennan, Mason, Brennan, 2017).

Rogalski vd. (2016) tarafından yapılan keten tohumu yağı ile zenginleştirme çalışmasında mısır cipslerine %5 oranında eklenen keten tohumu, modifiye atmosferde paketlenmiş ambalajlarda 6 ay depolama sonunda, Avrupa Birliği Gıda Regülasyonlarında (EU, 2012) öngörülen 2g α -linolenik asit / 100g günlük alım miktarını karşılayacak düzeyde bulunmuştur. Bir başka yağ asitleri ile zenginleştirme çalışmasında, sprey kurutucu kullanılarak maltodekstrin ile mikroenkapsüle edilen balık yağı (omega-3 yağ asitlerince zengin) karışımları, kurabiye hamuruna eklenerek atıştırmalık gıdaya fonksiyonellik kazandırılması hedeflenmiştir. Çalışmanın sonucunda enkapsülasyonun ürünlerdeki lipid oksidasyonunu belirgin bir şekilde azalttığı görülmüştür ($P<0.05$) (Jeyakumari, Janarthanan, Chouksey, Venkateshwarlu, 2016).

Makro besin öğeleri ile zenginleştirme dışında kalan biyoaktif bileşenlerle zenginleştirilmiş atıştırmalıklar da popülerleşen bir alan olarak ortaya çıkmaktadır (Ciudad-Mulero, Barros, Cámara, Morales, Ferreira, 2018; Esteban-Fernández, Zorraquín-Peña, González de Llano, Bartolomé, Moreno-Arribas, 2017; Martin-Diana

vd., 2017). Nar kabuklarıyla zenginleştirilmiş kurabiyelerdeki gallik asit, elajik asit ve ellajitanenlerin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri incelendiğinde, kurabiyelerdeki gallik asit biyoerişilebilirliğinin, yalnızca nar kabuklarındaki gallik asit biyoerişilebilirliğine göre %52 oranında daha fazla olduğu bulunmuştur (Colantuono vd., 2016). Ekstrüde yulaf-mısır unu ile yapılan atıştırmalıklara eklenen kurkuminoidin (750 mg kurkuminoid / 100 g hamur) ekstrüzyon ve kurutma işlemleri sonrasında önemli düzeyde korunduğu belirlenmiştir (Sayanjali et al., 2019). Yulaf ve fasulye unu ile zenginleştirilmiş kurabiye içeren diyet ile iki ay süresince beslenen diyabetik sıçan deneklerin, kontrol grubuna göre serum glukoz seviyesi, serum trigliserit seviyesi ve serum LDL seviyesinde azalma gözlenmiştir. Araştırmacılar bu etkilerin yulaf ve fasulye ununda bulunan diyet lif, galakto-oligosakkaritler, klorojenik asit, rutin, protokateşik asit, β -sitosterol ve soyasaponin içeriği ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (Iza F Pérez-Ramírez, Laura J Becerril-Ocampo, Rosalía Reynoso-Camacho, Mayra D Herrera, 2017).

SONUÇ

Tüketicilerin beklemedikleri duyu özelliklerinden vazgeçmeden sağlıklı beslenme arayışının bir yansıması olan sağlıklı atıştırmalıkların önemi açıkça görülmektedir. Türkiye’de ve dünyadaki beslenme rehberleri incelendiğinde atıştırmalık tüketimi konusuna bazılarında (Meksika, Brezilya, Güney Afrika) detaylıca değinildiği, bazılarında ise henüz ciddi bir etmen olarak dikkate alınmadığı (Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri, Yunanistan) görülmektedir. Son yıllarda artan ürün geliştirme çalışmaları ile birlikte, yakın gelecekte beslenme rehberlerinde de bu konuya daha fazla yer verileceği tahmin edilmektedir. Özellikle gelecek nesillerde obezite ve diğer kronik rahatsızlıkların önlenmesi için çocuk beslenmesinde de önemli bir yeri olan atıştırmalık gıdaların gözden geçirilmesi ve anne-babaların da bu konuda doğru bilgi içeren kanallar (bakanlıklar, kar amacı gütmeyen kuruluşlar, dernekler ve vakıflar gibi) ile bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Bu alandaki ürün geliştirme çalışmalarının ise devlet ve/veya özel teşviklerle desteklenerek,

sayıca artırılması ve Türk toplumuna özgü sağlıklı atıştırmalıklar geliştirilmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

Aggarwal, D., Sabikhi, L., Sathish Kumar, M. H. (2016). Formulation of reduced-calorie biscuits using artificial sweeteners and fat replacer with dairy-multigrain approach. *NFS Journal*, 2, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2015.10.001>

Aggarwal, D., Sabikhi, L., Sathish Kumar, M. H., Marques, G. de A., São José, J. F. B. de, Silva, D. A., Sidhu, J. S. (2013). A snack enriched with oral branched-chain amino acids prevents a fall in albumin in patients with liver cirrhosis undergoing chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *LWT - Food Sci Technol*, 43 (2): 1321-1328. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.596148>

Aigster, A., Duncan, S. E., Conforti, F. D., Barbeau, W. E. (2011). Physicochemical properties and sensory attributes of resistant starch-supplemented granola bars and cereals. *LWT - Food Sci and Technol*, 44(10), 2159–2165. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.018>

Alliance for a Healthier Generation. 2019a. “*Smart Food Planner*” <https://foodplanner.healthiergeneration.org/products/> (Erişim tarihi: 28.02.2019).

Alliance for a Healthier Generation. 2019b. “*Smart Snacks Product Calculator*” <https://foodplanner.healthiergeneration.org/calculator/> (Erişim tarihi: 28.02.2019)

Ares, G., Baixauli, R., Sanz, T., Varela, P., Salvador, A. (2009). New functional fibre in milk puddings: Effect on sensory properties and consumers’ acceptability. *LWT - Food Sci Technol*, 42(3), 710–716. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.004>

Bellisle, F. (2014). Meals and snacking, diet quality and energy balance. *Physiol Behav*, 134, 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.03.010>

Brown, E. C., DiSilvestro, R. A., Babaknia, A., Devor, S. T. (2004). Soy versus whey protein bars: Effects on exercise training impact on lean body mass and antioxidant status. *Nutr J*, 3(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-3-22>

Capaldi, E. D., Owens, J. Q., Privitera, G. J. (2006). Isocaloric meal and snack foods differentially affect eating behavior. *Appetite*, 46(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2005.10.008>

Carlsohn, A. (2016). Recent Nutritional Guidelines for Endurance Athletes. *Dtsch Z Sportmed*, 67(1), 7–12. <https://doi.org/10.5960/dzsm.2015.193>

Chapman, C. D., Nilsson, V. C., Thune, H. Å., Cedernaes, J., Le Grevès, M., Hogenkamp, P. S., Benedict, C., Schiöth, H. B. (2014). Watching TV and food intake: The role of content. *PLoS ONE*, 9(7), 7–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100602>

Ciudad-mulero, M., Barros, L., Cámara, M., Morales, P., Ferreira, I. C. F. R. (2018). Bioactive compounds and antioxidant capacity of extruded snack-type products developed from novel formulations of lentil and nutritional yeast flours. *Food Func*, 9(2), 819–829. <https://doi.org/10.1039/c7fo01730h>

Colantuono, A., Ferracane, R., Vitaglione, P. (2016). In vitro bioaccessibility and functional properties of polyphenols from pomegranate peels and pomegranate peels-enriched cookies. *Food Func*, 7, 4247–4258. <https://doi.org/10.1039/c6fo00942e>

Değerli, C. (2018). Sporcular için protein bazlı atıştırmalık tasarımı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye. 95 s.

European Commission Regulation (EU) No. 432/2012 (2012). <http://data.europa.eu/eli/reg/2012/432/oj> (Erişim Tarihi: 05.03.2018)

Douglas, S. M., Ortinau, L. C., Hoertel, H. A., Leidy, H. J. (2013). Low, moderate, or high protein yogurt snacks on appetite control and subsequent eating in healthy women. *Appetite*, 60(1), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.09.012>

El, S. N., Simsek, S. (2012). Food technological applications for optimal nutrition: An overview of opportunities for the food industry. *Compr Rev in*

- Food Sci Food Saf*, 11(1), 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00167.x>
- Esteban-Fernández, A., Zorraquín-Peña, I., González de Llano, D., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M. V. (2017). The role of wine and food polyphenols in oral health. *Trends Food Sci Technol*, 69, 118–130. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.008>
- Grunert, K. G., Brock, S., Brunsø, K., Christiansen, T., Edelenbos, M., Kastberg, H., Gunder, S., Krogager, S., Mielby, L. H., Povlsen, K. K. (2016). Cool snacks: A cross-disciplinary approach to healthier snacks for adolescents. *Trends Food Sci Technol*, 47, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.009>
- Hasbay, A., Ersoy, G. (2008). *Sporcu besenmesi*. Sağlık Bakanlığı. Klasmat Matbaacılık, Ankara, Türkiye. 28 s. ISBN: 978-975-590-242-5
- Hess, J. M., Jonnalagadda, S. S., Slavin, J. L. (2016). What Is a Snack, Why Do We Snack, and How Can We Choose Better Snacks? A Review of the Definitions of Snacking, Motivations to Snack, Contributions to Dietary Intake, and Recommendations for Improvement. *Adv Nutr Int Rev J*, 7(3), 466–475. <https://doi.org/10.3945/an.115.009571>
- Isostar. (2019). <https://www.isostar.com/ww-en/ww-ranges-bars.html> (Erişim Tarihi: 01.01.2019)
- Iza F Pérez-Ramírez, Laura J Becerril-Ocampo, Rosalía Reynoso-Camacho, Mayra D Herrera, S. H. G.-M. (2017). Cookies elaborated with oat and common bean flours improved serum markers in diabetic rats. *J Sci Food Agric*, 98(3), 998–1007. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8548>
- Jeyakumari, A., Janarthanan, G., Chouksey, M. K., Venkateshwarlu, G. (2016). Effect of fish oil encapsulates incorporation on the physico-chemical and sensory properties of cookies. *J Food Sci Technol*, 53(1), 856–863. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1981-2>
- Kerver, J. M., Yang, E. J., Obayashi, S., Bianchi, L., Song, W. O. (2006). Meal and snack patterns are associated with dietary intake of energy and nutrients in US adults. *J Am Diet Assoc*, 106(1), 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2005.09.045>
- Kreider, R. B., Wilborn, C. D., Taylor, L., Campbell, B., Almada, A. L., Collins, R., Cooke, M., Earnest, C.P., Greenwood, M., Kalman, D., Kerksick, C., Klenier, S., Leutholtz, B., Lopez, H., Lowery, L., Mendel, R., Smith, A., Spano, M., Wildman, R., Willoughby, D., Ziegenfuss, T., Antonio, J. (2010). ISSN exercise and sport nutrition review : research and recommendations, 1–43.
- Lucas, B. F., Morais, M. G. de, Santos, T. D., Costa, J. A. V. (2018). Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *LWT - Food Sci and Technol*, 90. (2017), 270–276. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.032>
- Marques, G. de A., São José, J. F. B. de, Silva, D. A., Silva, E. M. M. da. (2016). Whey protein as a substitute for wheat in the development of no added sugar cookies. *LWT - Food Sci Technol*, 67, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.044>
- Martin-diana, A. N. A. B., Izquierdo, N., Albertos, I., Sanchez, M. S., Herrero, A. N. A., Sanz, M. A., Rico, D. (2017). Valorization of Carob's Germ and Seed Peel as Natural Antioxidant Ingredients in Gluten-Free Crackers. *J Food Process Preservation*, 41(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12770>
- Milli Eğitim Bakanlığı. (2016). *Okul Kantinlerinde Satılacak Gıdalar ve Eğitim Kurumlarındaki Gıda İşletmelerinin Hijyen Yönünden Denetlenmesi*. Sayı: 90757378-10.06-E.2852893
- Ministry of Health of Brazil. (2014). *Dietary Guidelines for the Brazilian Population*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- New Nutrition Business. (2017). *10 key trends in food, nutrition and health 2017*. FMCG Gurus consumer surveys 2016.
- Oldham-Cooper, R. E., Hardman, C. A., Nicoll, C. E., Rogers, P. J., Brunstrom, J. M. (2011). Playing a computer game during lunch affects fullness, memory for lunch, and later snack intake. *Am J Clin Nutr*, 93(2), 308–313. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.004580>

- Patil, S., Brennan, M. A., Mason, S., Brennan, C. S. (2017). Investigation of the combination of legumes and cereals in the development of extrudate snacks and its effect on physico-chemical properties and in vitro starch digestion. *J Food and Nutr Res*, 56(1), 32–41.
- Pérez-Escamilla, R. (2016). The Mexican Dietary and Physical Activity Guidelines: Moving Public Nutrition Forward in a Globalized World. *J Nutr*, 146(9), 1924S–1927S. <https://doi.org/10.3945/jn.115.218784>
- Phillips, S. M. (2014). A Brief Review of Critical Processes in Exercise-Induced Muscular Hypertrophy, *Sport Med*, 44, 71–77. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0152-3>
- Powerbar. (2019). https://www.powerbar.eu/en_GB/products/sport-drink (Erişim Tarihi: 01.01.2019)
- Republic of South Africa Department of Health. (2013). *Food-Based Dietary Guidelines for South Africa* (Vol. 26).
- Resmi Gazete. (2017). *Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği* (Vol. 29960).
- Rogalski, M., Nowak, K., Fiedor, P., Szterk, A. (2016). Corn Crisps Enriched in Omega-3 Fatty Acids Sensory Characteristic and its Changes During Storage. *JAOCs, J J Am Oil Chem Soc*, 93(9), 1275–1287. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2873-y>
- Sağlık Bakanlığı. (2014). *Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010: Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu*.
- Sağlık Bakanlığı. (2019). Beslenme Dostu Okullar Programı. <https://okulsagligi.meb.gov.tr/www/beslenme-dostu-okul-programi-projesi/icerik/16> (Erişim Tarihi: 01.01.2019)
- Sante.(2019). <https://www.sante.com.pl/products/c/bars/cereal-bars/> (Erişim Tarihi: 01.01.2019)
- Sayanjali, S., Buckow, R., Gras, S., Ying, D., Sanguansri, L., Augustin, M. A. (2019). Extrusion of a Curcuminoid-Enriched Oat Fiber-Corn-Based Snack Product. *J Food Sci*, 84(2), 284–291. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14432>
- Stamataki, N. S., Nikolidaki, E. K., Yanni, A. E., Stoupaki, M., Konstantopoulos, P., Tsigkas, A., Perrea, D., Tentolouris, N., Karathanos, V. T. (2016). Function Evaluation of a high nutritional quality snack based on oat flakes and inulin: effects on postprandial glucose, insulin and ghrelin responses of healthy subjects, 3295–3303. <https://doi.org/10.1039/c6fo00559d>
- Thomas, D. T., Erdman, K. A., Burke, L. M. (2016). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J Acad Nutr Diet*, 116(3), 501–528. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2015.12.006>
- TÜBER. (2016). *Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi*. Sağlık Bakanlığı. http://beslenme.gov.tr/content/files/arastirmalar/tbsa/1_haziran_t_ber_rehber_y_ksek_kalite.pdf (Erişim tarihi: 01.01.2019)
- United States Department of Agriculture. (2015). *2015 – 2020 Dietary Guidelines for Americans (8th edition)*. <https://doi.org/10.1097/NT.0b013e31826c50af>
- United States Department of Agriculture. (2016). *A Guide to Smart Snacks in School*. https://www.fns.usda.gov/sites/default/files/tn/USDA_SmartSnacks.pdf (Erişim Tarihi: 02.03.2018)
- World Health Organization. (2017). *Ten years in public health. Ten years in public health, 2007–2017*. Lisans: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- World Health Organization. (2013). Nutrition, Physical Activity and Obesity-Turkey. <http://www.euro.who.int/en/nutrition-country-profiles>. (Erişim Tarihi: 03.07.2018)
- World Health Organization (WHO). (2014). Non communicable Diseases Country Profiles. *Genève : WHO Press, 2014.*, 1–210. <https://doi.org/10.1111/jgs.12171>
- Zizza, C. A. (2014). Healthy snacking recommendations: one size does not fit all. *Physiol Behav*, 134, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.01.034>

KIRMIZI PUL BİBER ÖRNEKLERİNDE ELEMENT İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

Serpil Kılıç*, Murat Kılıç

Akdeniz Üniversitesi, Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi, Antalya, Türkiye

Geliş / *Received*: 08.07.2019; Kabul / *Accepted*: 16.09.2019; Online baskı / *Published online*: 17.10.2019

Kılıç, S., Kılıç, M. (2019). Kırmızı pul biber örneklerinde element içeriğinin belirlenmesi. *GIDA* (2019) 44 44 (6): 1000-1007 doi: 10.15237/gida.GD19101

Kılıç, S., Kılıç, M. (2019). Determination of element contents in red pepper samples. GIDA (2019) 44 44 (6): 1000-1007 doi: 10.15237/gida.GD19101

ÖZ

Çevresel kirlilikler, tarım ürünlerini tehdit etmekte ve dolayısıyla insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Bu tarım ürünleri içerisinde yer alan, kırmızıbiber, üretiminde kimyasal ilaçların kullanımı ise sağlık için tehlike oluşturan bazı elementlerin kontamine olmasına sebep olabilmektedir. Gıda sanayinde yaygın olarak kullanılan bir baharat çeşidi olan ve özellikle gıdaları çeşnilendirmek için en çok kullanılan baharatlar arasında yer alan kırmızıbiber tüketiminde, bu kontaminasyon insan sağlığını tehdit edici unsur oluşturmaktadır. Bu çalışmada, kırmızıbibere kontamine olabilen bazı metal kirleticiler (krom (Cr), kobalt (Co), bakır (Cu), demir (Fe), nikel (Ni), selenyum (Se), çinko (Zn)) indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi kullanılarak (ICP-MS) tespit edildi. Analitik performansları; doğruluk, tespit sınırı, ölçüm sınırı ve geri kazanım olarak değerlendirildi. Metot validasyonu için sertifikalı referans madde olarak Tomato Leaves 1573a kullanıldı. Çalışılan elementler için geri kazanım, %98 ile %103 arasında değişmektedir. Örneklerde tüm metallerin konsantrasyonları uluslararası ve Türk Gıda Kodeksinde belirtilen sınırları aşmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kırmızı pul biber, ICP-MS, metal analizi

DETERMINATION OF ELEMENT CONTENTS IN RED PEPPER SAMPLES

ABSTRACT

Environmental pollution threatens the agricultural products and therefore poses a risk for human health. In the production of red pepper which is one of these agricultural products, the use of chemical drugs, may cause some elements with health hazards to be contaminated. The contamination threatens human health in consumption of red pepper, which is used in the food industry and is one of the most widely used spices for seasoning foods. In this study, was determined of some metallic contaminants (chromium (Cr), cobalt (Co), copper (Cu), iron (Fe), nickel (Ni), selenium (Se), zinc (Zn)) in red pepper using inductive coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The validation procedure was applied for the evaluation of linearity, repeatability, recovery, limit of detection, and quantification. Tomato Leaves 1573a was used as certified reference material for method validation. The recovery ranged from 98% to 103% for studied elements. It is observed that the concentrations of all metals in samples did not exceed the international and Turkish codex values.

Keywords: Red pepper, ICP-MS, metal analysis

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ serpillkic@akdeniz.edu.tr,

☎ (+90) 242 310 2585,

☎ (+90) 242 227 2058

GİRİŞ

Yirminci yüzyılın başından itibaren dünyada hızla artan nüfusun etkisiyle modern tarıma geçilmesi, hızlı sanayileşme, kentleşme sonucunda çevre kirliliği ortaya çıkmıştır (Stresty ve Madhava, 1999). Endüstrileşme ve kentleşmeye bağlı olarak artan çevre kirliliği ile birlikte toprak kirliliği de ortaya çıkmış ve canlılar üzerinde tehlikeli olabilecek duruma gelmiştir. Doğrudan ve dolaylı yollardan oluşabilen çevre ve toprak kirliliğine paralel olarak, besin kaynakları da besin zinciri yoluyla kirlenmeye başlamış ve insanlar için önemli sağlık sorunları oluşturmuştur (Vural, 1993). Kodeks Alimentarius Komisyonu (KAK) gıda kontaminantlarını; gıdalara istenilerek katılmadığı halde üretim, işleme, hazırlama, depolama, ambalajlama, taşıma veya çevre kirlenmesi sonucunda bulaşan kimyasal maddeler olarak tanımlanmaktadır (Anonymous,1997).

İnsan sağlığı riski değerlendirmesi, çevresel tehlikelere maruz kalmanın bir sonucu olarak insanların potansiyel olumsuz sağlık etkilerinin karakterize edilmesi olarak kabul edilir (USEPA, 2012). Risk oluşturacak kirliliğin meydana geldiği gıdalar arasında tarım ürünleri gelmektedir. Bu tarım ürünleri içerisinde, kırmızıbiber (*Capsicum annuum*) Türkiye’de yetiştirilip, sanayi hammaddesi olarak başta konserve, salça, turşu, acı sos, işlenmiş et ürünlerinde (pastırma, sucuk, salam, sosis vb.) kullanılmakta olup, çeşitli yemeklerde lezzeti, aroması, acısı ve renkleri ile çeşni olarak gıdalarda kullanılmaktadır (Mubeen vd., 2009). Türkiye, Dünyada Çin ve Meksika’dan sonra üçüncü büyük biber yetiştiricisi olarak bilinmektedir (Anonymous, 2013). Ancak, baharatlık kırmızıbiber üretiminde ise aynı sıralarda değildir (Anonymous, 2014). Ülkemizde kırmızıbiber, yaygın olarak baharat şeklinde tüketilmektedir. Türkiye’de 2014 yılında yaklaşık 200 bin ton baharatlık taze kırmızıbiber üretilmiş ve bu miktarın da yaklaşık yarısı Şanlıurfa ilinde yetiştirilmiştir (Anonim, 2015). Kırmızı biber, hem yurt içindeki tüketimi hem de yurt dışına ihraç edilmesinden dolayı önemli tarımsal bir üründür. Ülkemiz için böylesine önem taşıyan kırmızı biberde, üretimde karşılaşılan kayıpların, bozulmaların ve üretim kalitesinin artırılması için çeşitli önlemlerin alınması gereklidir. Kırmızıbiber

üretim aşamalarının hemen hepsinde mikrobiyolojik ve kimyasal tehlikelerde ortaya çıkabilir (Yentür vd., 2012). Bugün artık metabolik rahatsızlıkların pek çoğunun bir veya daha fazla eser elementin miktarının değişiminden kaynaklandığı bilinmektedir (Bruce ve Bergstrom, 1983).

Toprak, gıdalardaki esansiyel ve toksik minerallerin başlıca kaynağıdır. Verimli topraklar bitkinin yetişmesi için gerekli olan elementlerle birlikte büyük oranda ve farklı konsantrasyonlarda metal içermektedir (Basta vd., 2005). Çeşitli yollarla kirlenen toprakta yetiştirilen ürünler toksik metal içerikleri ile artış göstermektedir. Tarımda kullanılan kimyasal maddeler ve gübreler, tarım toprağının ıslah edilmesi, toprak ve ürünlerinin bileşiminde önemli değişikliklere sebep olmaktadır. Bu durum gıdalarda kirliliğe yol açmaktadır (Notten vd., 2005). Yapılan bir çalışmada; üzümler üzerinde kullanılan bakır içerikli mantar ilacının şarapta kirliliğe neden olduğu bildirilmiştir (Melgar vd., 2009). Polonya, Bulgaristan ve İtalya’da belirli bölgelerde yetiştirilen ve pestisit ve gübre kullanılan meyvelerden elde edilen şarap ve alkollerde toksik metal seviyesi Avrupa Birliği’nin yasal olarak izin verdiği sınırlardan daha yüksek bulunmuştur (Formicki vd., 2012).

Hava Kirliliği, toksik metal kirliliğinin %60’ını oluşturan maddelerden; yakıttan ve motor yağlarından kirletici olarak açığa çıkmaktadır. Bu toksik metaller, canlılar üzerinde son derece zararlı etkiye sahiptir (Bingöl vd., 2010). Nijerya’da yapılan bir çalışmada, trafik yoğunluğu fazla olan bölgelerin topraklarında emisyonun etkisiyle toprakta daha yüksek oranda Fe, Cu, Cd, Pb, Mn ve Zn birikiminin olduğu bildirilmiştir (Abechi vd., 2010).

Atık sular, gıdalardaki metalik kirlilikte önemli etkenlerden biridir. Çeşitli endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanan atık suların içinde bazen eser miktarda bazen de yüksek derişimlerde toksik metaller bulunur (Kumbur vd., 2008). Atık suların karıştığı Musi Nehri çevresinde yetişen yeşil yapraklı sebzeler başta olmak üzere çeşitli sebzelerde yüksek seviyede kurşun, çinko, krom

ve nikel birikimi olduğu bildirilmiştir (Chary vd., 2008).

Paketleme işlemi ise, çeşitli gelişmiş tekniklerin kullanımıyla kontaminasyon sorunu büyük ölçüde çözüme ulaşmış olsa da risk az da olsa hala devam etmektedir (Alvarez vd., 2011). Özellikle paketlenmiş gıdalarda toksik metal kontaminasyonu en fazla asidik besinlerde görülmekte ve bu durum depolama sıcaklığına ve süresiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ramonaityte, 2001).

Bu çalışmada Kırmızı pul/toz biber üretim aşamalarının hemen hepsinde kimyasal ve fiziksel tehlikeler ortaya çıkabilir düşüncesiyle ülkemiz pazarlarında açık ve pakette satılan ürünler tercih edilmiştir. Bu amaçla dış etkenlerden gelebilecek toksik elementleri bünyesine alabilirliği düşünülerek metal içerikleri (Ni, Co, Cu, Zn, Se, Cr, Fe) ICP-MS cihazı ile tayin edilmiştir. ICP-MS cihazı, katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, hassas ve doğru biçimde ölçülmesine imkân sağlayan bir analiz yöntemi olmasından dolayı tercih edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada materyal olarak; pazarlarda, marketlerde; kapalı ve açık paketlerde satılan 32 adet kırmızı pul biber örnekleri halk pazarlarından ve marketlerden 2017 yılı içerisinde satın alınmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Numunelerin elementel bileşimi ICP-MS (Perkin Elmer Elan DRC-e) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Analizlerde homojen hale getirilmiş olan toz örneklerden yaklaşık 0.2 g tartularak mikrodalga (Berghof Speedwave® Four) ünitesinin teflon kapları içine konulmuş ve üzerine 6 mL HNO₃ ve 2 mL H₂O₂ eklenmiştir. Mikrodalga ünitesinin sıcaklık koşulları oda sıcaklığından 170°C'ye 5 dakika ve ardından 190°C'ye 15 dakikada artış şeklinde programlanarak numunelerin tamamen çözünür hale getirilmesi sağlanmıştır (Kilic ve Kilic, 2018). Yakma işlemi sonucunda örnekler oda sıcaklığına soğutularak hacimleri 15 mL'ye ultra saf su kullanılarak tamamlanmıştır. Tamamlanan numuneler, Çizelge 1'de çalışma şartları verilen ICP-MS cihazında analiz edilmiştir.

Çizelge 1. ICP-MS çalışma şartları
Table 1. ICP-MS operating conditions

Spektrometre <i>Spectrometer</i>	Elan DRC-e (Perkin Elmer SCIEX, Norwalk, ABD)
Örnek girişi <i>Sample Introduction</i>	Quartz CYCLONIC DRC Spray Chamber
RF gücü <i>RF Power</i>	1100
Skimmer cone <i>Skimmer Cone</i>	Nikel <i>Nickel</i>
Sampler cone <i>Sampler Cone</i>	Nikel <i>Nickel</i>
Nebulizer/ <i>Nebulizer</i>	Micromist Nebulizer 0.4 mL/dk.
Plazma gaz akış oranı (L/dk.) <i>Plasma gas flow rates (L/min)</i>	17
Auxiliary akış oranı (L/dk.) <i>Auxiliary flow rates (L/min)</i>	1.20
Nebulizer gaz akış oranı (L/dk.) <i>Nebulizer gas flow rates (L/min)</i>	0.81
Tarama modu <i>Scannig mode</i>	Pik sekmesi <i>Peak hopping</i>
Bekleme süresi (Dwell time) (ms) <i>Dwell time per</i>	50
Oto örnekleme <i>Auto sampler</i>	CETAX ASX-520
Internal standart <i>Internal standard</i>	Tb
Analitik kütleler (amu) <i>Analytical masses</i>	Standart mod <i>Standard mode</i> ⁶⁰ Ni, ⁵⁹ Co, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁵² Cr, ⁸² Se, ⁵⁷ Fe

Metot Validasyon Çalışmaları

Metot validasyonu için sertifikalı referans madde olarak Tomato Leaves 1573a kullanılmıştır. Bu kapsamda elementel analizleri için yöntemlerin tespit sınırları, tayin sınırları, tekrarlanabilirlik değerleri ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Yöntem doğrulama çalışmalarında kullanılan parametrelerden tespit ve tayin sınırı, kalibrasyon doğrusunda kullanılan en düşük konsantrasyondaki standart kullanılarak en az 6 kez analizi gerçekleştirilmiş ve cihazın ürettiği sinyale karşılık gelen konsantrasyon değerinin standart sapma değerinin 3 katı tespit sınırı (LOD) ve 10 katı ise ölçüm sınırı (LOQ) olarak ifade edilmiştir. Tekrarlanabilirlik geri kazanım çalışmasından elde edilen sonuçların bağlı standart sapma değeri (%RSD) tekrarlanabilirlik değeri olarak ifade edilmiştir. Geri kazanım ise bu kapsamda analitleri içeren standart çözelti geri kazanım çalışma örneklerine eklenerek en az 6 paralel örnek hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler ise ilgili cihazda üç tekrarlı olarak okutulmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ**Metot Validasyon Çalışma Sonuçları**

Ülkemizin farklı pazarlarından temin edilen kırmızı pul biber numunelerinin elementel bileşimlerin belirlenmesinde ICP-MS yöntemi kullanılmıştır. Belirtilen analizlerin numune çalışmaları öncesinde yöntem doğrulama çalışmalarına tabi tutulmuştur. Bu çerçevede elementel bileşim analizleri (nikel (Ni), kobalt (Co), bakır (Cu), çinko (Zn), vanadyum (V), selenyum (Se), krom (Cr), baryum (Ba) ve demir (Fe)), için tespit sınırı, tayin sınırı, tekrar edilebilirlik ve geri kazanım değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar, Çizelge 2'de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre; bu yöntemin numunelerde beklenen konsantrasyon düzeyleri dikkate alındığında doğrusal aralıklarının, tespit sınırı, tayin sınırı, geri kazanım değerlerinin ve aynı numunenin uygulanan yöntemle tekrarlı analizleri sonucu, tekrar edilebilirlik değerlerinin kabul edilebilir düzeylerde oldukları belirlenmiş, numunelerde ise element analizlerinin doğru sonuç elde etmede uygulanabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 2. Metot validasyon sonuçları

Table 2. Method validation results

Elementler <i>Elements</i>	Geri Kazanım <i>Recovery</i>	R ²	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%RSD
Ni	99±0.03	0.9973	0.10	0.33	2.1
Co	99±0.01	0.9998	0.04	0.13	2.2
Cu	98±0.18	0.9995	0.55	1.83	4.0
Zn	100±1.00	0.9997	3.00	10.00	3.2
Se	103±0.01	0.9998	0.003	0.01	2.1
Cr	99±0.01	0.9997	0.04	0.13	0.7
Fe	99±1.12	0.9989	3.14	10.20	3.5

Kırmızı Pul biber Numune Sonuçları

Metaller, insan hayatında önemli yere sahiptir. Bu yirmi üç element, insanlarda ve diğer memelilerde birçok fizyolojik aktivitelere sahiptir. Demir, çinko ve bakır dahil olmak üzere bu elementlerin bazıları vücut için önemlidir. Kadmiyum, kurşun ve arsenik gibi diğer metaller vücudumuzdaki biyokimyasal reaksiyonlarda toksik rollere sahiptir. Metaller vanadyum, krom, mangan, demir, kobalt, bakır, çinko ve molibden; metal olmayanlar ise selenyum, flor ve iyot insan vücudu

tarafından çok az miktarlarda (genellikle günde 100 mg'dan az) gerekli mikro besin sınıfına ait eser elementlerdir. Makro besin maddelerinden olan sodyum, kalsiyum, magnezyum, potasyum, klor gibi bazı elementler biyolojik yapıların temel bileşenleri olmasına rağmen biyolojik fonksiyonları için gerekli miktarlardan fazla olursa toksik etki yapabilirler. Bu metallere örnek olarak ise arsenik, kobalt, bakır, krom ve nikel verilebilir (Fraga 2005).

Hindistan'da Batı Wengel Bölgesinden alınan su ve gıda örneklerinde arsenik, bakır, nikel, mangan, çinko ve selenyum konsantrasyonları araştırılmıştır. Çalışmada Jalangi ve Domkal'da gıda kategorilerindeki arsenik düzeyleri sebzelerde 20.9-21.2 mg kg⁻¹, tahıllar ve fırın ürünlerinde 130-179 mg kg⁻¹ ve baharatlarda ise 133-202 mg kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Roychowdhury vd., 2003). Bir başka çalışmada ise Mısır pazarında satılan baharatlar ve şifalı bitkilerdeki metallerin tayini ve potansiyel sağlık riskinin değerlendirilmesi yapılmıştır (Naglaa Soliman, 2015).

Türkiye'nin farklı illerinde pazarlanan 44 adet pul kırmızı biber, 26 adet kırmızı toz biber ve 20 adet isot biberi olmak üzere toplam 90 farklı kırmızı biber örneğinin aflatoksin içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada, 8 adet pul kırmızı biber, 3 adet kırmızı toz biberler ve 1 adet isot biberi baharatlarında aflatoksin tespit edilmiş ve bu örneklerin aflatoksin içerikleri de 1.1-97.5 µg kg⁻¹ aralığında olduğu belirlenmiştir (Erdogan, 2004).

Bu çalışmada, 32 adet kırmızı pul biber örneklerinde çinko 2.51-21.70; bakır 1.50-13.59; nikel 0.64-13.40; krom 0.60-4.01; kobalt 0.16-0.89; selenyum 0.01-0.08; demir ise 34.83-130.65 µg g⁻¹ aralığında tespit edilmiş, sonuçlar, ise Çizelge 3'de verilmiştir. Bulunan bu değerler toksik oluşturacak sınırlarda olmadığı

belirlenmiştir. Bu izlenen elementler, yaşam için gerekli süreçlerin işlevi, serbest radikal hasarının önlenmesinde önemli faktör olarak işlev görürler. Bu elementlerden Zn, vücudun sistemlerinin sağlıklı çalışması için hayati önem taşır. Birçok enzimin bileşeni olarak, proteinlerin metabolizmasında rol oynar (Al-Fartusie ve Mohssan, 2017). Cu, esansiyel mikro besin ve nörolojik sistemler için gereklidir. Büyüme ve kemik oluşumu için önemli rolü vardır. Ayrıca hemoglobin içindeki Fe'nin emilimine yardımcı olur (Jeremias vd., 2006). Fe, hemoglobin de kırmızı renginden sorumludur. Büyüme, gelişme, hücresel işleyiş ve bazı hormonların sentezi için gereklidir (Wessling-Resnick, 2014). Ni, canlılarda esansiyel besin maddesi olduğu kabul edilmektedir. Biyolojik olmasına rağmen insanda nikelin fonksiyonu belli değildir. Bunu söyleyebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Sydor ve Zamble, 2013). Cr, vücudun dokularını işlediği, insüline daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (William ve Frank, 2004). Co eksikliğinin B12 vitamini sentezindeki bozukluklarla ilişkilidir. Kansere, hipotiroidizme neden olabilir (Battaglia vd., 2009). Se, insan vücudunun sağlığı için hayati öneme sahip eser elementtir. Bazı kanser türlerine karşı koruyucu etki olduğu tespit edilmiştir (Brown ve Arthur, 2001).

Çizelge 3. Numune sonuçları (µg g⁻¹)
Table 3. Sample results (µg g⁻¹)

Numune	Zn	Cu	Ni	Cr	Co	Se	Fe
1	6.84	3.40	5.08	1.73	0.45	0.04	66.65
2	5.58	1.58	9.36	1.47	0.68	0.04	58.25
3	6.24	1.68	12.25	1.72	0.82	0.04	80.08
4	7.78	3.96	5.56	1.52	0.38	0.02	70.26
5	9.61	3.05	12.80	2.75	0.89	0.03	77.36
6	8.21	4.78	3.31	1.51	0.30	0.03	75.52
7	3.82	2.90	0.64	1.09	0.19	0.04	34.83
8	9.10	5.15	2.09	1.44	0.57	0.07	79.23
9	8.48	4.66	2.81	1.46	0.27	0.03	73.99
10	11.6	5.73	2.24	1.41	0.25	0.02	48.75
11	7.16	13.59	13.40	2.42	0.66	0.02	80.44
12	2.51	1.50	9.56	1.70	0.69	0.02	52.68

Çizelge 3. devam
Table 3. continuing

Numune	Zn	Cu	Ni	Cr	Co	Se	Fe
13	8.76	4.82	2.73	1.40	0.56	0.02	74.01
14	7.80	5.87	3.08	1.42	0.48	0.02	77.75
15	6.10	2.29	8.47	1.49	0.50	0.03	85.34
16	7.86	4.70	3.86	4.01	0.55	0.06	84.80
17	8.48	4.90	6.11	1.55	0.47	0.01	81.10
18	3.04	1.61	2.77	0.60	0.22	0.02	82.39
19	7.21	3.61	11.60	2.45	0.56	0.03	81.10
20	8.74	4.57	1.50	1.90	0.16	0.04	83.14
21	7.71	4.57	6.06	1.63	0.41	0.03	78.37
22	9.87	6.02	3.42	1.91	0.25	0.04	77.97
23	9.15	6.06	1.32	2.00	0.21	0.05	79.10
24	5.03	3.14	2.09	1.64	0.45	0.05	68.70
25	11.4	6.49	1.94	1.58	0.19	0.04	68.72
26	8.49	6.02	2.02	1.17	0.30	0.03	82.36
27	7.00	4.58	1.86	1.51	0.19	0.08	79.98
28	7.19	5.28	2.73	1.47	0.27	0.04	88.08
29	8.40	5.40	3.97	1.86	0.36	0.03	78.60
30	21.70	5.08	12.20	2.98	0.78	0.04	130.65
31	5.23	2.90	2.96	1.47	0.23	0.02	64.39
32	9.77	5.25	10.90	3.36	0.61	0.05	78.90
Ort.	7.99	4.53	5.33	1.80	0.43	0.03	75.73
Std.sapma	3.27	2.20	4.00	0.68	0.20	0.01	15.28
Min	2.51	1.50	0.64	0.60	0.16	0.01	34.83
Max	21.70	13.59	13.40	4.01	0.89	0.08	130.65

Bu amaçla, kırmızıbiberlerin ticari değerini düşürmemek, tüketicilere sağlıklı ürün ulaştırmak, taşış ve taklidi önlemek için ambalajlı kırmızıbiber satışı yaygınlaştırılmalı, ürün etiket bilgileri olmayan açıkta kırmızıbiber satışı sıkı denetlenmeli ve tüketiciler açıkta satılan ve markasız olan ürünleri almama ve tüketmeme konusunda bilinçlendirilmelidir. İnsan sağlığı açısından taşıdığı önem konusunda tüketicileri bilinçlendirici reklam ve eğitici programların daha sık yapılması ülkemizde modern kırmızıbiber sektörünün büyümesi ve tüketicilerin daha sağlıklı beslenmesi açısından önemlidir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamızı FBA-2017-2494 proje numarası ile maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne çok teşekkür ediyoruz.

KAYNAKLAR

Abechi, E.S., Okunola O.J., Zubairul, S.M.J., Usman, A.A., Apene, E. (2010). Evaluation of heavy metals in roadside soils of major streets in jos mtropolis, Nigeria. *J Environ Chem Ecotoxicol*, 2(6): 98-102.

- Al-Fartusie, F.S., Mohssan, S.N. (2017). Essential trace elements and their vital roles in human body. *Indian J Adv Chem Sci*, 5(3): 127-136.
- Alvarez, V.B., Pascall, M.A. (2011). *Packaging*. Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition) Academic Press, 16–23.
- Anonim (2015). <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zu>. Erişim tarihi: 10.09.2015.
- Anonymous (1997). Codex Alimentarius Commission (CAC), Procedural Manual, 10th ed., Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome.
- Anonymous (2013). <http://faostat3.fao.org/wds/rest/exporter/streamexcel>, Erişim Tarihi: 29.11.2015.
- Anonymous (2014). <http://faostat3.fao.org/wds/rest/exporter/streamexcel>. Erişim Tarihi: 15.08.2016.
- Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L. (2005). Trace element chemistry in residual-treated soil. *J Environ Qual*, 34(1): 49-63.
- Battaglia, V., Compagnone, A., Bandino, A., Bragadin, M., Rossi, C.A., Zanetti, F., Colombatto, S., Grillo, M.A., Toninello, A. (2009). Cobalt induces oxidative stress in isolated liver mitochondria responsible for permeability transition and intrinsic apoptosis in hepatocyte primary cultures. *Int J Biochem Cell Biol*, 41: 586-594.
- Bingöl, M.E., Geven, F., Güney, K., Ketenoğlu, O., Erdoğan, N. (2010). Egzoz gazlarının bitkilere etkileri ve koruma önerileri. *Biyo Bil Arş Derg*, 3(2): 63-67.
- Brown, K.M., Arthur, J.R. (2001). Selenium, selenoproteins and human health a review. *Public Health Nutr*, 4(2B): 593-599.
- Bruce, A., Bergstrom, L. (1983). User requirements for data bases and applications in nutrition research. *Food Nutr Bull*, 5: 24-29.
- Chary, N.S., Kamala, C.T., Samuel Suman Raj, D. (2008). Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotox Environ Safe*, 69(3). 513-524.
- Erdogan, A. (2004). The aflatoxin contamination of some pepper types sold in Turkey. *Chemosphere*, 56: 321–325.
- Formicki, G., Stawarz, R., Gren, A., Muchacka, R. (2012). Cadmium, copper, lead and zinc concentrations in low quality wines and alcohol containing drinks from Italy, Bulgaria and Poland. *J Microbiol, Biotechnol Food Sci 1* (February Special issue), 753-757.
- Fraga, C.G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med*, 26: 235–244.
- Jeremias, C.T.L. David, B. Royden, J. (2006). Severe ataxia, myelopathy, and peripheral neuropathy due to acquired copper deficiency in a patient with history of gastrectomy. *JPen-Parenter Enter*, 30: 446-450.
- Kilic, S., Kilic, M. (2018). Laboratuvar yeterlilik testi biber tozu örneğinde ICP-MS ile element analizi. *AKU Fen Müb Bil Derg*, 18 (011202): 112-117.
- Kumbur, H., Özsoy, HD., Özer, Z. (2008). Mersin ilinde tarımsal alanlarda kullanılan kimyasalların su kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ekoloji*, 17(68): 54-58.
- Mubeen, H., Naeem, I., Taskeen, A. Saddiqe, Z. (2009). Investigations of heavy metals in commercial spices brands. *New York Sci J*, 2: 20–26.
- Naglaa, F. Soliman (2015).. Metals contents in spices and herbs available on the Egyptian market: assessment of potential human health risk. *Open Conference Proceedings J*, 6: 24-29.
- Notten, M.J.M., Oosthoek, A.J.P., Rozema, J., Aerts, R. (2005). Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environ Pollut*, 138(1): 178–190.
- Ramonaityte, D.T. (2001). Copper, zinc, tin and lead in canned evaporated milk, produced in Lithuania: the initial content and change in storage. *Food Addit Contam*, 18(1): 31-37.

- Roychowdhury, T., Tokunaga, H., Ando, M. (2003). Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India. *Sci Total Environ*, 308: 15-35.
- Stresty, T.V.S., Madhava, R.K.V. (1999). Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea. *Environ Exp Bot*, 41:3-13.
- Sydor, M. Zamble, D.B. (2013). Nickel metallomics: General themes guiding nickel homeostasis. In: B. Lucia, (Ed.), *Metallomics Cell. Metal Ions in Life Sciences*, Vol. 12. Ch. 11. Dordrecht: Springer.
- USEPA (2012). Waste and cleanup risk assessment. <http://www2.epa.gov/risk/waste-and-cleanup-risk-assessment>.
- Vural, H. (1993). Toksik metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler. *Çevre Derg*, 8: 3-8.
- Wessling-Resnick, M. (2014). Iron. In: A. C. Ross, B. Caballero, R. J. Cousins, K. L. Tucker, R. G. Ziegler, (Ed.), *Modern Nutrition in Health and Disease*, 11th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 176-188p.
- William, T.C., Frank, B.H. (2004). Role of chromium in human health and in diabetes, *Diabetes Care*, 27(11): 2741-2751.
- Yentür, G., Er, B. (2012). Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 69(1):41-52.



GIDA ATIKLARINDAN ÇEVRE DOSTU BİYOBOZUNUR AMBALAJ MALZEMESİ ÜRETİMİ

Eylem Karakuş, Zehra Ayhan*

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş / Received: 10.07.2019; Kabul / Accepted: 23.09.2019; Online baskı / Published online: 22.10.2019

Karakuş, E., Ayhan, Z. (2019). Gıda atıklarından çevre dostu biyobozunur ambalaj malzemesi üretimi. *GIDA* (2019) 44 (6): 1008-1019 doi: 10.15237/gida.GD19102

Karakuş, E., Ayhan, Z. (2019). Production of environmentally friendly biodegradable packaging materials from food waste. GIDA (2019) 44 (6): 1008-1019 doi: 10.15237/gida.GD19102

ÖZ

Gıda ambalaj malzemesi olarak petrol bazlı polimerlerin kullanımı hem geri çevrilemez çevre problemlerine yol açmaktadır hem de sürdürülebilir değildir. Bu nedenle son yıllarda petrol bazlı ambalaj malzemelerine alternatif olarak doğada bozunabilen ve kullanımdan sonra tekrar işlenebilen biyobozunur ambalajlar geliştirilmektedir. Diğer yandan gıda sanayisi tonlarca atık üretmektedir. Bu atıklar kimya, tıp, kozmetik ya da hayvancılık gibi farklı alanlarda değerlendirilmektedir. Sanayi atıklarının yüksek kalitede polisakkarit, esansiyel yağ ve protein içerdiği düşünüldüğünde biyobozunur ambalaj üretiminde kullanılması hem çevresel sorunları azaltacak, hem de atıkların tekrar işlenmesi ile katma değeri daha yüksek ürünlere dönüştürülerek ekonomik kazanç sağlayacaktır. Bu derleme makale ile potansiyel gıda atıklarından gıda ambalaj malzemesi üretilmesi ve bu malzemelerin mekanik, yapısal, termal ve bariyer özelliklerinin değerlendirilmesi ve gıdalarda kullanım potansiyeli irdelenecektir.

Anahtar kelimeler: Biyobozunur malzemeler, bionanokompozit, gıda ambalajlama, gıda atıkları

PRODUCTION OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY BIODEGRADABLE PACKAGING MATERIALS FROM FOOD WASTE

ABSTRACT

The use of petroleum based plastics as food packaging materials has led not only to irreversible ecological problems but also they are not sustainable. Thus, recently biodegradable packaging materials that dissolved in soil and reprocessable have been developed as an alternative to the petroleum based plastics. On the other hand, food industry has generated tons of food waste which has been recycled in different areas such as chemistry, medicine, cosmetics or animal husbandry. Considering that these waste contains high quality polysaccharides, essential oils and proteins, conversion of food waste into biodegradable packaging materials not only solves environmental problems but also creates value added products with economic benefit. This paper reviews development of biodegradable packaging materials from potential food wastes and characterization of mechanical, morphological, thermal and barrier properties of developed biodegradable films and potential use for food.

Keywords: Biodegradable materials, bionanocomposite, food packaging, food waste

*Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ zehraayhan@sakarya.edu.tr

☎ (+90) 264 295 3858

☎ (+90) 264 295 5601

GİRİŞ

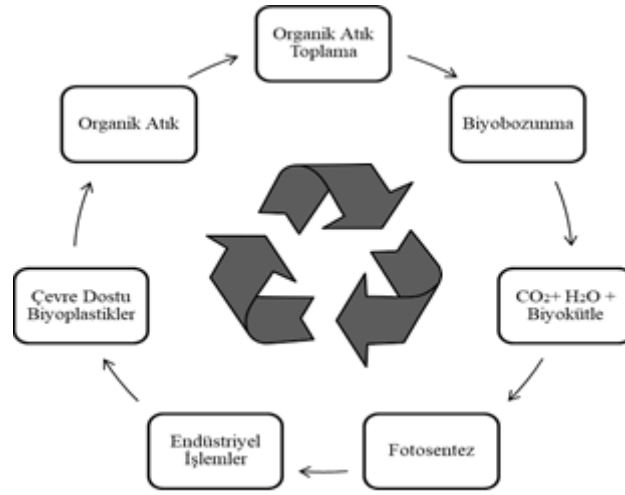
Gıda endüstrisinde ambalaj malzemesi günümüz mühendislik ve teknolojileri kullanılarak ürünü dışardan ve içerden gelebilecek etkilerden koruyan bir bariyer olmakla birlikte ürünü tüketiciye tanıtan, ürünün taşınmasını, depolanmasını, satılmasını ve gerekli durumlarda geri toplanmasını sağlayan bir sistemin ilk basamağıdır. Ambalaj sektörü de diğer tüm sektörler gibi küresel gelişme ve beklentilerden etkilenmektedir. Günümüzde yaşanmaya devam eden küresel ısınma, sürdürülebilir çevre, teknolojik gelişmeler, değişen üretim yönetmelikleri, müşteri istek ve beklentileri, firmaların üretim prosesini geliştirme ve birim maliyeti düşürme üzerine girişimleri malzeme seçimini belirlemektedir. Malzeme özelliklerinin belirlenmesi, ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre yapılırken; günümüzdeki biyo-çözünürlük, geri dönüşüm, tekrar kullanılabilirlik, sürdürülebilirlik, sıfır atık yaklaşımı, karbon ayak izini azaltmaya dair küresel bakış açıları ambalajın özelliklerini değiştiren nedenler haline gelmektedir (Keskin vd., 2018).

Geleneksel, petrol türevi ve sentetik polimer esaslı ambalaj malzemeleri gaz bariyer özelliği (oksijen, su buharı, aroma), UV, transparanlık, ısıl yapışabilirlik, kimyasallara karşı inert olması, mekanik kuvvet ve kolay işlenebilirlik gibi spesifik özelliklerinden dolayı 1950'li yıllardan günümüze kadar hâlâ gıda ambalajlama sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Tawakkal vd., 2014). Sentetik polimerler kullanıldıktan sonra bakteriler tarafından bozunmadıkları ve doğada yok edilemedikleri için atık problemine sebep olurlar (Atarés ve Chiralt 2016; Muller vd., 2016). Doğada bozunamamaları sebebiyle UV ışınlarına uzun süre maruz kalırlar ve zehirleyici gazların açığa çıkmasına, hava, toprak ve su kirliliğine neden olurlar (Pitak ve Rakshit 2011; Koshy vd., 2015; Günkaya vd., 2016). PAGEV (2018)'e göre dünyada yıllık plastik kullanımının neredeyse %56'sını gıda ambalajı oluşturmaktadır. 2011 yılında Avrupa ülkelerinde resmi olarak bilinen katı atığın %31'inin, Birleşmiş Milletler, Avusturya ve Kanada gibi ülkelerde ise benzer şekilde katı atığın %30-35'inin ambalaj atıklarından oluştuğu belirtilmiştir (Tencati vd., 2016). PAGEV (2017)

yılı verilerine göre piyasaya sürülen 920 ton plastiğin %46'sı bertaraf edilmemiştir. TÜDAM (2017) verilerine göre ise Türkiye'nin bertaraf edilemeyen plastik atık miktarı 2011 yılında 20 bin ton olup, bu miktar 2018 yılında 72 bin tona ulaşmıştır.

Biyobozunurluk, bir maddenin/malzemenin mikroorganizmaların enzimatik mekanizmalarıyla karbondioksite, metana, suya, inorganik bileşiklere ve biyokütleyle parçalanabilirliği anlamına gelmektedir (Bağış 2015). Sentetik polimerler mikrobiyal bozunmaya uğratılmadıkları için katı atık problemine sebep oldukları gibi petrol bazlı oldukları için sürdürülebilirlikleri ve yenilenebilirlikleri de yoktur. Gıda ambalajlama uygulamaları için uygun olan polimerler nişasta ve türevleri, polilaktik asit (PLA), poli (bütilen süksinat) (PBS), polihidroksibütiren (PHB) gibi alifatik polyesterlerdir (Sorrentino vd., 2007). Biyobazlı (biyobozunur) ambalaj malzemeleri petrol bazlı (sentetik) polimerlerin yerini almada potansiyel bir alternatiftir. Bu durumun sebeplerinden biri petrol bazlı ürünlere olan talebin azalması ve plastik üretmek için yenilenebilir kaynaklara yönelen hareketlenme ile atmosfere salınan gazların miktarının azaltılmasıdır. Diğer bir sebep ise biyobozunur materyallerin kullanım sonrası kompostlanabilir organik kalıntılara dönüşerek katı atık probleminin azaltılmasıdır (Väisänen vd., 2016; Berthet vd., 2016). Biyobozunurluk ve atık problemini azaltmaya yönelik geri dönüşüm mekanizması Şekil 1'de verilmiştir.

Biyobozunur plastikler, bitkisel polisakkarit, protein, lipit ve polyester gibi pek çok yenilenebilir zirai kaynaktan elde edilebilir. Polisakkaritler, selüloz ve nişasta olarak doğada bol miktarda bulunurlar ve biyoplastik üretiminde önemli rolleri vardır (Harini vd., 2018). Proteinlerin üç boyutlu ağ yapıları polimer zincirleri arasındaki etkileşimi arttırarak stabil bir yapı sağlar fakat bu materyalin elastikiyeti için yeterli değildir. Bu nedenle polimer zincirlerinin hareket edebilmesi için plastikleştirici kullanılır.



Şekil 1. Biyobozunur Polimerlerin Geri Dönüşüm Mekanizması (Hazer 2011; Thakur vd., 2018)

Gıda endüstrisinde gıdanın üretimi, hazırlanması ve tüketiminden kaynaklı olarak fazla miktarda hem katı hem sıvı atık meydana gelir. Bu atıklar imha edilirken sorun oluşturur fakat biyokütle ve besin bileşeni olarak değerli ürünlerdir (Deniz vd., 2015; Kanmaz ve Saral 2017). Türkiye’de meyve ve sebze endüstrisi fazlasıyla atık veren bir alandır. Meyve ve sebzeler taze olarak tüketildiği gibi meyve suyuna ve reçele, sebzeler de konserve ürünlere işlenir. Tüm bu işlemler sonucunda polisakkarit, protein ve lipid içeriği yüksek olan kabuk, çekirdek ve posa gibi atıklar oluşur. Bu atıkların farklı prosesler için tekrar kullanılabilirliği vardır. Bu nedenle “Sıfır Atık Yaklaşımı” benimsenmeye çalışılmaktadır. Sıfır atık yaklaşımı işleme sonrasında oluşan organik atığın çeşitli işlemlere tabii tutularak kimya, ilaç, kozmetik gibi farklı bir alanda ya da yine gıda üretiminde tekrar ham madde olarak kullanılmasını temel almaktadır. Özellikle meyve ve sebze endüstrisi atıklarının yapılarında bol miktarda pektin ve farklı esansiyel yağlar mevcuttur. Atıkların yapısındaki bu organik maddeler ambalaj malzemelerinin yalnızca mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirmek için değil aynı zamanda biyobozunur film üretimi için de kullanılmaktadır. Ayrıca portakal kabukları, elma posası ile kabuğu, nar ve muz kabukları ticari pektin üretiminde en yaygın olarak kullanılan hammaddelerdir (Yılmaz vd., 2017; Wikiera vd., 2016; Pereira vd., 2016; Oliveira vd., 2016). Meyve ve sebze atıklarından biyobozunur ambalaj malzemesi üretimi son

yıllarda önem kazanmaya başlamıştır. Atıklardan elde edilen biyobozunur filmler mekanik ve bariyer özellikleri açısından ticari polimerlerle rekabet edebilecek düzeyde değildir. Ancak bu özelliklerin nanoteknoloji uygulamalarıyla geliştirilmesi mümkündür (Da Silva vd., 2017).

Ticari polimerlerin mekanik ve bariyer özellikleri dikkate alındığında ambalaj malzemesi olarak kullanıma uygun olmasına rağmen sürdürülebilir ve biyobozunur olmaması sebebiyle doğal polimerlere ilgi artmaktadır. Fakat doğal polimerlerden elde edilen filmler zayıf bariyer ve mekanik özellikler göstermektedir. Bu açıdan biyobozunur polimerler ticari polimerlerle henüz rekabet edebilecek düzeyde değildir. Bu sebeple pek çok biyopolimer organik ya da inorganik katkılarla desteklenerek geliştirilmiş biyopolimerler elde edilmektedir (Romero-Bastida vd., 2016; Grigoriadi vd., 2015). Biyobozunur ambalaj malzemelerinin zayıf bariyer ve mekanik özelliklerini geliştirebilmek için nanoteknoloji uygulamaları kullanılarak biyonanokompozit ambalaj malzemeleri üretilmektedir. Nanoparçacıklı sistemler (nanokompozitler) saf polimerlerle ya da geleneksel polimerlerle karşılaştırıldığında molekül zincirleri arasında daha fazla ara yüzey şansı verdiğinden, istikrarlı termal, mekanik ve bariyer özellik göstermektedirler. Ayrıca nanoteknoloji uygulamaları düşük fiyat etkinliği için de yeni imkanlar yaratmaktadır (Sorrentino

vd., 2007). Nanoparçacıkların biyopolimerlere entegre edilmesiyle elde edilen biyobozunur filmlerin hem mekanik ve bariyer açısından olumsuz özellikleri giderilebilir hem de tamamen farklı özelliklerde yeni malzemeler geliştirilebilir (Saklar 2008). Polimer/kil kompozitleri ince filmlerin bariyer özelliklerini geliştirmektedir (Grigoriadi vd., 2015; Trifol vd., 2016; Staroszczyk vd., 2017). Bariyer özelliğın gelişebilmesi için genellikle iyi dispers olmuş ve hacim/alan oranı yüksek nanopartiküller kullanılır. Organik kilin polimere eklenmesiyle oluşan nanokompozitler biyolojik olarak parçalanabilir yapıdadır (Attaran vd., 2017). Aynı zamanda biyanokompozitlerin ve nanopartiküllerin bazı bakterilerin gelişimini engelleyici etkisi olduğu (Ahmed vd., 2017), antimikrobiyal maddelerin taşıyıcısı gibi davrandığı (Siripatrawan ve Vitchayakitti 2016) ve direkt olarak antimikrobiyal film oluşturduğu (Reesha vd., 2015) literatürde belirtilmektedir. Kitosan (Al-Naamani vd., 2016), nano-gümüş (Li vd., 2017), çinko oksit (Sanuja vd., 2015) ve titanyum dioksit (Long vd., 2014) gibi dolguların kullanılmasıyla antimikrobiyal biyanokompozit filmler oluşturulmaktadır.

Türkiye iklim koşulları ve toprak yapısı olarak düşünüldüğünde farklı türde tarım ürünlerinin yetişmesine elverişli olan bir coğrafyadadır. Bu nedenle toplam gıda endüstrisinin büyük bir kısmını meyve ve sebze işleme endüstrisi oluşturmaktadır. Meyve ve sebze işleme endüstrisinde işlenen meyvelerin yüzde dağılımı; %49,50 elma, %12,13 şeftali, %10,10 vişne, %8,8 nar, %7,7 portakal, %5,5 kayısı, %4,4 havuç ve %3,3 üzüm şeklindedir (Aygören vd., 2013). Ayrıca TÜİK (2016) verilerine göre Türkiye’de 2015 yılında 1800 bin ton portakal üretilmiş olup portakal suyu üretim tesislerinde yaklaşık 760 bin ton portakal kabuğunun atık olarak çıktığı tahmin edilmektedir (Günkaya vd., 2016).

Gıda endüstrisi atıklarının biyobozunur film üretiminde kullanımı çevreci yaklaşım açısından son zamanlarda oldukça ilgi çeken konulardan biri olmuştur. Atıkların içerdikleri bileşenler ambalaj malzemesine elastikiyet, mukavemet, biyobozunurluk, transparanlık ve antimikrobiyal aktivite gibi farklı özellikler katabilmektedir.

GIDA ATIKLARINDAN BİYOBOZUNUR FİLM ÜRETİMİ VE GIDALARDA KULLANIM POTANSİYELİ

Bu derlemenin amacı gıda endüstrisinden kaynaklanan atıkların biyobozunur ambalaj malzemesi olarak değerlendirildiği çalışmaları incelemek; biyobozunur plastiklerin atıklardan üretim yöntemlerini, kullanılan katkı/dolgu maddelerini, elde edilen filmlerin karakterizasyonunu (yapısal, mekanik, bariyer, termal ve fiziksel özelliklerini) ve gıdalarda kullanım potansiyelini göstermektir. İncelenen çalışmalarda kullanılan atık, malzeme üretim yöntemi ve elde edilen malzemelerin özellikleri Çizelge 1.’de özetlenmiştir.

Portakal kabukları pektin içeriği bakımından zengin bir atıktır. Bu atığın toz halinin kullanılmasıyla elde edilen filmler fırında ve inkübatörde olmak üzere iki farklı şekilde kurutulmuştur. Fırında sıcak hava akımı filmler üzerinden geçerken inkübatörde ek olarak kurutma boyunca çalkalama yapılmaktadır. Çalışmada inkübatörde kurutulan filmin fırında kurutulan filme göre daha homojen bir yüzey oluşturduğu belirtilmiştir. Portakal kabuğu tozundan elde edilen filmlerde düşük yoğunluklu polietilen, yüksek yoğunluklu polietilen, politetrafloretillen, polipropilen ve polistiren gibi ticari polimerlerin çekme direncine yakın (16-32 MPa) değerler elde edilmiştir. Polimerler için bir diğer önemli özellik olan kopma anındaki uzama miktarı ise polipropilen dışındaki polimerlere göre daha iyi sonuç vermiştir (Bátori vd., 2017). Portakal kabuğu atıklarının pektin ve selüloz içeriğinin yüksek olması filmin anaerobik şartlar altında 15. günde %85-95 biyobozunmasını sağlamıştır. Turunçgil atıklarında bulunan başlıca bileşenlerden D-limonene esansiyel yağından beklenen antimikrobiyal etki görülmemiş, turunçgil atıklarına uygulanan ön işlemler sırasında esansiyel yağın da uzaklaşmış olabileceği rapor edilmiştir (Bátori vd., 2017; Ferhat vd., 2007).

Çizelge 1. Gıda Atıklarından Ambalaj Malzemesi Üretim Yöntemleri ve Karakterizasyonuna Dair Bilimsel Çalışmalar Listesi

Film/ Malzeme Elde Edilen Atık Kaynağı	Dolgu Malzemesi/ Aktif Bileşen	Film/Malzeme Üretim Yöntemi	Malzeme Özellikleri	Kaynak
Portakal Kabuğu	-	%1 sitrik asit, %7 (w/w) gliserol ve %2 (w/w) portakal kabuğu, 70°C'de karıştırma, çözelti dökme yöntemi ile film üretimi, 40°C'de kurutma	Çekme direnci değeri 28-36 MPa, anaerobik koşullarda 15 günde %85-95 biyobozunur özellik, antimikrobiyal etki yok	Bátori vd., 2017
Soya Proteini	Valeks Taneni	Saf su, %3 (w/v) gliserol ve %3 soya proteini, 30°C'de karıştırma, farklı oranlarda valeks taneni ilavesi, NaOH ile pH ayarlanması, 80°C'de karıştırma, sıcak su banyosunda bekletme, çözelti dökme yöntemi ile film üretimi, 50°C'de 12 saat kurutma, %43 bağıl nemde şartlandırma	Tanen oranının artmasıyla UV ışınlarına karşı daha iyi bariyer özellik, oksijen geçirgenliğinde düşüş, çekme direncinde ve su buharı geçirgenliğinde artış, pH'nın artmasıyla artan transparan özellik	Wang ve Wang 2017
Polivinil Alkol/ Karboksümetil Selüloz	Şeker pancarı küspesinden elde edilen kristal nanoselüloz	Şeker pancarından asit hidrolizi ile nanoselüloz elde edilmesi, %3.75 (w/v) PVA, 90°C'de karıştırma, %1 karboksümetil selüloz, oda sıcaklığında karıştırma, çözeltilerin 1:1 oranında karıştırılması, farklı oranlarda kristal nanoselüloz ilavesi, çözelti dökme yöntemi ile film üretimi, 80°C'de kurutma	Kristal nanoselüloz eklenmesiyle kontrol filme göre elastik modül ve çekme direnci değerlerinde artış, su buharı geçirgenliğinde düşüş	El Achaby vd., 2017
Mısır Nişastası	Kristal nanokitin	Saf su, %7(w/v) mısırdan edilen nişasta, %3 (w/v) gliserol, 50°C'de sıcak su banyosunda karıştırma, farklı oranlarda kristal nanokitin ilavesi, ultrasonik su banyosunda karıştırma, çözelti dökme yöntemi ile film üretimi, 45°C'de kurutma, %53 bağıl nemde şartlandırma	%2 kitin nanokristali ilavesiyle su buharı geçirgenliğinde %58 düşüş çekme direncinde %93 artış, Gram negatif bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etki	Oin vd., 2016
Nar Kabuğu	Montmorillonit (MM)	Nar kabuklarından pektinin elde edilmesi, farklı oranlarda montmorillonit ilavesi, %0,75(w/v) gliserol, oda sıcaklığında karıştırma, pektin ilavesi, çözelti dökme yöntemiyle film üretimi, 40°C'de kurutma, %50 bağıl nemde şartlandırma	%6 MM ilavesiyle çekme direncinde artış, %8 MM ilavesiyle su buharı geçirgenliğinde %40 düşüş	Oliveria vd., 2016
Kaju Kabuğu Nişastası	Cevizden elde edilen kristal selüloz	Farklı oranlarda kaju kabuğu nişastası, 90°C'de karıştırma, ceviz kabuğundan elde edilen farklı oranlarda kristal selüloz, %1.2 sitrik asit ve %1.25 (w/w) gliserol ilavesi, oda sıcaklığında karıştırma, çözelti dökme yöntemine göre film üretimi, 40°C'de kurutma	%2 ceviz kabuğu selülozu ilavesiyle oksijen geçirgenliğinde % 34 düşüş, çekme direnci değerinde %384 artış ve uzama miktarında %5,5 düşüş	Harini vd., 2018
Limon Kabuğu Patates Kabuğu	Karanfil esansiyel yağı	%5 (w/v) limon ve portakal kabuğu, oda sıcaklığında karıştırma, farklı sürelerde ultrasonik su banyosunda karıştırma, 90°C'de homojenize etme, %4 (v/v) gliserol ve %2 (v/v) yumurta sarısı ilavesi, çözelti dökme yöntemine göre film üretimi, 50°C'de kurutma, %2'lik CaCl ₂ çözeltisine daldırma, %55 bağıl nemde şartlandırma (Optimum olarak seçilen filmin yapısına karanfil esansiyel yağı ekleme)	Ultrason süresinin artmasıyla su buharı geçirgenliğinde, nem kaybı ve suda çözünürlükte düşüş, çekme direnci ve uzama miktarında artış, <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı antimikrobiyal etki	Borah vd., 2017

Biyoplastik üretiminde kullanılmak üzere değerlendirilen bir diğer sanayi çıktısı soya fasülyesi atığıdır. Soya sanayide fazla miktarda işlenen ve fazla atık veren bir hammaddedir. Bu nedenle diğer biyoplastik üretilen malzemelere göre ekonomik olarak daha düşük bir maliyetle elde edilir (Kowalczyk ve Piorkowska 2012). Soya protein izolatına meşe palamudunun meyvesinde bulunan valeks taneni katkı maddesi olarak ilave edilerek elde edilen filmlerde pH'nın etkisi de araştırılmıştır. Katkılı filmler UV dalga boyundaki ışığa karşı koruma gösterirken, transparanlığın azalmasına sebep olmuştur. Yapılan çalışmada valeks taneni katkılı soya proteini izolatından elde edilen filmler için potansiyel bir antioksidan etki beklenmiştir. %15 oranında tanen eklenmesiyle filmlerin oksijen geçirgenliğinde %19 düşüş, su buharı geçirgenliğinde ise %41 artış gözlemlenmiştir. Soya atığına valeks tanenin ilavesiyle elde edilen filmlerde, solüsyonun pH değeri filmlerin bariyer ve mekanik özelliklerinde arzu edilen değişikliklerin gerçekleşmesini sağlamıştır. Bu durumda farklı işleme teknikleri ile biyobozunur film özelliklerinin geliştirilebileceği görülmüştür. Valeks taneni çekme direncini arttırmış fakat kopma anındaki uzama oranını azaltmıştır. Bu durum tanenlerin soya protein izolatı ile hidrofobik etkileşimi ve hidrojen bağlarının etkisiyle filmin kırılabilirliğinin artmasından kaynaklanmıştır (Wang ve Wang 2017).

Gıda sanayi atıklarının değerlendirilmesi ile ilgili bir diğer çalışmada limon kabukları ve patates posası farklı oranlarda karıştırılarak film elde edilmiştir. Film formülasyonunda kullanılan bileşenlerin oranları film özelliklerini değiştiren önemli bir etkidir. Patates cipsi üretimi sırasında açığa çıkan patates posası miktarı, toplam üretimin %12-20'si arasındadır. Patates posası nişasta, selüloz, hemiselüloz ve fermente edilebilir seker içeriği bakımından zengin ve biyopolimer film üretimi için potansiyel bir atıktır (Rogols vd., 2003). Limon ise genellikle taze olarak ya da meyve suyuna işlenerek tüketilen bir üründür ve kabuğu flavanoid, pektin ve esansiyel yağlar açısından oldukça zengindir. Bunun yanında limon posasının antioksidan ve antimikrobiyal özelliği de literatürde belirtilmiştir (Chutia vd.,

2009). Bu çalışmada atıkların değerlendirilmesinin yanı sıra kullanılan atıkların partikül boyutunun filmin özelliklerine etkisi de araştırılmıştır. Bu amaçla atıkların partikül boyutunu azaltmak ve partiküllerin topaklanmasını engellemek için film çözeltilerine ultrason işlemi uygulanmıştır. %100 limon kabuğundan oluşan filmin su buharı geçiş hızında %100 patates posasından oluşan filme göre %73 düşüş gözlemlenmiştir. Limon kabuğu ilavesiyle filmlerin su buharını geçirme oranı önemli derecede azalmıştır. Patates posası ve limon kabuklarından elde edilen filmler patates:limon oranı 0,5:1 olduğunda en düşük su buharı geçirgenliği değerini ve kabul edilebilir mekanik özellikleri göstermiştir. Partikül dağılımı, partikül boyutu ve şeklindeki değişim filmlerin mekanik özelliklerine yansımıştır. Formülasyondaki limon kabuğu miktarı arttıkça kopma anındaki uzama oranı da artmıştır. Patates posasının azalması ve limon kabuğu tozu miktarının artmasıyla filmlerdeki kırmızimsı ve sarımsı renk azalmıştır (Borah vd., 2017). Patates:limon oranı 0,5:1 olan film ekmek ambalajlamak için kullanılmıştır. Ekmek dilimleri ambalajsız, polietilen ambalaj ve çalışmada optimum olarak seçilen ambalaj olmak üzere 3 farklı uygulamada 5 günlük raf ömrü boyunca takip edilmiştir. 5 günlük raf ömrü sonunda biyobozunur film ile ambalajlanmış ekmek dilimleri polietilen ambalajdaki ekmek dilimlerine göre daha fazla ağırlık kaybı gösterirken, ambalajsız dilimlere göre daha az kayıp gözlemlenmiştir.

Nar endüstride genellikle nar suyu ya da reçel gibi ürünlere işlenen bir ham maddedir. Nar işlendikten sonra %55 kadar posa açığa çıkar. Posa antioksidan ve antibakteriyel maddeler, pektin, tanen ve nem açısından zengindir (Canbolat vd., 2014). Nar kabukları ekstraktına farklı oranlarda montmorillonit (MM) eklenen bir çalışmada filmin fiziksel ve bariyer özellikleri incelenmiştir. Film formülasyonunda MM oranının artması bariyer özellikleri geliştirmiş, fakat kopma anındaki uzama gibi bazı mekanik özellikleri olumsuz etkilemiştir. %8'lik MM oranı su buharı geçirgenliğinde %40'lık bir azalmaya yol açarken, kopma anındaki uzama miktarında ve çekme direncinde istenmeyen sonuçlar elde

edilmiştir. Bu çalışmada %6 oranında eklenen MM optimum seçenек olup, çekme direncini %75, elastik modülü %68 arttırırken kopma anındaki uzama oranını %14 azaltmıştır. Bununla birlikte su buharı geçirgenliğinde de önemli ölçüde azalma gözlemlenmiştir (Oliveria vd., 2016). Bu çalışmada biyobozunurluk testi yapılmamıştır.

Biyobozunur film üretmek için sıklıkla kullanılan pektinler, zayıf fiziksel ve bariyer özellikler gösterdiği için nano yapıli dolgularla desteklenerek ticari polimerlerle rekabet edecek düzeye getirilebilir. Doğal bir bileşen olan selülozdan elde edilen nanokristaller filmlere sertlik ve mukavemet kazandırır. Selüloz nanokristalleri (CNC) selüloz içeriği yüksek olan hammaddelerden elde edilebilir.

Muz işleme prosesinden sonra meyvenin %30' u kadar muz kabuğu açığa çıkar. Muz kabuğu yalnızca nem, protein, pektin ve potasyum açısından değil aynı zamanda besinsel lif (selüloz), antioksidan ve fenolik bileşenler açısından da zengin bir atıktır (González-Montelongo vd., 2010). Muz kabuklarından elde edilen pektinin ve selüloz nanokristallerinin film formülasyonuna eklenmesiyle yapılan bir çalışmada fiziksel ve bariyer özellikler geliştirilmek istenmiştir. Film formülasyonunda selüloz nanokristali oranı arttıkça çekme direncinde, elastik modül, opaklık değerleri ve suda çözünmeyen madde miktarında artış; uzama anındaki kopma oranı ve su buharı geçirgenliğinde düşüş gözlemlenmiştir. Selüloz nanokristalinin %5 oranında eklenmesi optimum sonucu vermiştir. Daha fazla eklendiğinde filmde pektin ve selüloz nanokristali etkileşimi arttığından çekme direnci değerinde azalmaya sebep olmuştur. Muz kabuklarından kaynaklanabilecek antioksidan etki ve malzemenin biyobozunurluğu bu çalışmada incelenmemiştir. Bu çalışma nano dolguların biyobozunur filmlerin mekanik ve bariyer özelliklerini geliştirebileceğini göstermektedir (Oliveira vd., 2017).

Biyobozunur film üretiminde yalnızca meyve ve sebze atıkları değil aynı zamanda kabuklu kuruyemişlerin kabukları da kullanılmaktadır.

FAO verilerine göre kaju 2012 yılında 4,2 tonluk üretim kapasitesine ulaşmıştır. Yüksek oranda nişasta içeren kabukların, biyotermoplastik üretimi için uygun bir malzeme olduğu literatürde belirtilmiştir (Yuliana vd., 2012). Aynı durum ceviz kabukları için de geçerlidir. Biyobozunur filmlerde ceviz kabukları absorblayıcı (Ding vd., 2012) ve güçlendirici materyal olarak rol oynar (Sarsari vd., 2016).

Kaju kabuklarından elde edilen nişastanın film matriksi olarak kullanıldığı bir çalışmada ceviz kabuklarından elde edilen selüloz da dolgu olarak kullanılmıştır. Elde edilen filmlerin TGA (termogravimetrik analiz) grafiğinde; ceviz kabuğu (selüloz) katkılı filmlerin 253°C'ye kadar dayanabildiği, katkısız filmlerde bu sıcaklığın 220°C'ye düştüğü görülmüştür. Bu durum katkılı filmleri işlerken 220°C'nin üzerinde ısı işlem uygulanabileceğini fakat katkısız filmlerde bu değerin aşılması gerektiğini açıklamaktadır. Kristallenme indeksi kaju kabuğunda %29, ceviz kabuğunda %72 olarak ifade edilmiştir. Bu durum ceviz kabuğundaki selüloz molekülünün kaju kabuğundaki nişasta molekülünden daha kristal bir yapıya sahip olduğunu gösterir. %7,5 kaju kabuğu nişastası ve %2 ceviz kabuğu selülozu içeren filmde oksijen geçiş hızı katkılı filmlerde %34 azalmış, çekme direnci değeri %384 artmış ve kopma anındaki uzama oranı %5,5 azalmıştır. Bu çalışma ceviz kabuğundan elde edilen selülozun oksijene karşı çok iyi bariyer özellik gösterdiğini kanıtlamıştır (Harini vd., 2018).

Gıda endüstrisi atıklarından hem ambalaj materyalinin temel yapısını oluşturacak matriks hem de matriksin yapısını geliştirecek katkı/dolgu maddeleri elde edilebilir. Polivinil alkol (PVA) ve karboksimetil selüloz kristalleri (CMC) birbirleri ile uyumlu ve karışabilen iki biyopolimerdir (Villarruel vd., 2015). Bu iki polimer kullanılarak hazırlanan film formülasyonuna, şeker pancarı küspesinden elde edilen selüloz nanokristalleri dolgu maddesi olarak eklenmiştir. Katkısız PVA/CMC kompozit filmi içerdiği hidroksil grupları sebebiyle su buharına karşı çok hassastır (Muppalla vd., 2014). %5 oranında selüloz nanokristali katkılı kompozit filmin su buharı geçirgenliği katkısız filme göre %83,3 azalmıştır.

Ayrıca %5 katkı filmde çekme direnci katkısız filme göre %83 artarken, kopma anındaki uzama %55 azalmıştır. PVA/CMC kompozitinin %90 transparan özellik gösterdiği literatürde yer almaktadır. Selüloz nanokristalinin maksimum oranda eklenmesiyle transparanlığın bozulmaması, selüloz nanokristallerinin PVA/CMC matriksine iyi karışabildiğini ve uyum sağladığını göstermektedir (Fortunati vd., 2015). Yapılan çalışmanın SEM görüntülerinden PVA/CMC kompozitine eklenebilecek maksimum selüloz nanokristali oranının %10'u geçmemesi gerektiği anlaşılmaktadır. %10 katkı filmlerde selüloz nanokristallerinin arasındaki etkileşim matriksle olan etkileşimden daha fazla olduğu için film morfolojisinde topaklanmaya sebep olduğu gözlemlenmiştir (El Achaby vd., 2017).

Nişasta, gıda ambalajlama uygulamalarında hem yenilebilir film olarak hem de biyobozunur film olarak en yaygın kullanılan, genellikle film matriksini oluşturan polisakkarittir. Kitin nano kristalleri ise biyobozunurluk, biyo-uyumluluk ve antibakteriyel özellik göstermeleri sebebiyle ambalaj malzemelerine katkı olarak eklenmektedir. Biyonomkompozit elde etmek için mısır nişastası ve farklı oranlarda (%0, %0,5, %1, %2 ve %5) kitin nano kristalinin kullanıldığı bir çalışmada filmlerin mekanik, bariyer ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Filmlerin mekanik özelliklerinde önemli derecede gelişme gözlemlenmiştir. %5 katkı filmin çekme direnci değeri katkısız filme göre %44 oranında artarken, uzama oranı %36 azalmıştır. Bu durum kitin nano kristallerinin kendi aralarında ve matriks materyaliyle (mısır nişastası) yaptığı kuvvetli hidrojen bağlarından kaynaklanmaktadır (Maciel vd., 2015). Filmlerin bariyer özelliklerine bakıldığında %1 kitin nano kristal oranından itibaren su buharı geçirgenliği önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca su buharı geçirgenliği %2 katkı filmde kontrole göre %58 düşüş sağlarken, %5 katkı filmde %52 düşüş olduğu belirtilmiştir. Mısır nişastası filmine kitin nano kristalinin eklenmesiyle *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel özellik gösterdiği rapor edilmiştir (Qin vd., 2016).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde film üretiminin daha çok laboratuvar ölçeğinde olduğu ve gıda uygulamalarının çok sınırlı sayıda olduğu dikkat çekmektedir. Endüstriyel üretime uygunluk açısından yapılan çalışmaların pilot ölçek ve/veya endüstriyel ölçekte gerçekleştirilmesi ve gıdalarda test edilmesi de gerekmektedir.

SONUÇ

Gıda atıkları kullanılarak elde edilen ve biyobozunur özellik taşıyan filmlerin ticari plastiklerle kıyaslandığında gıda ambalajlama açısından önemli olan bariyer ve mekanik özellikler açısından daha zayıf özellikler taşıdıkları ortaya konulmuştur. Filmlerin bariyer ve mekanik özelliklerini güçlendirebilmek için montmorillonit, selüloz nanokristalleri, nanokil ve benzeri nanodolgular kullanıldığı gibi biyokompozit uygulaması da yapılabilmektedir. Birden fazla atığın birlikte değerlendirilmesi ile mekanik ve bariyer özellikleri daha güçlü ve yüksek performanslı ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi sağlanabilir. Sanayi atıklarının çeşitliliği ve içerdikleri bileşenlerin fonksiyonel özellikleri düşünüldüğünde bu alandaki çalışmaların devamı her geçen gün daha farklı ve daha iyileştirilmiş özellikteki filmlerin elde edilmesini sağlayacaktır. Biyobozunur ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi ve ticari polimerlerin yerini alması yapılan bu çalışmalarla hızlanacaktır. Biyobozunur ambalaj malzemeleri geliştikçe biyobozunur bardak, çatal ve tabak gibi tek kullanımlık malzemelerin üretiminin ve kullanımının yaygınlaşması da beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, J., Hiremath, N., Jacob, H. (2017). Antimicrobial efficacies of essential oils/nanoparticles incorporated polylactide films against *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* on contaminated cheese. *Int J Food Prop*, 20(1), 53-67, doi: 10.1080/10942912.2015.1131165.
- Al-Naamani, L., Dobretsov, S., Dutta, J. (2016). Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 38, 231-237, doi: 10.1016/j.ifset.2016.10.010.

- Atarés, L., Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends Food Sci Technol*, 48, 51-62, doi: 10.1016/j.tifs.2015.12.001.
- Attaran, S. A., Hassan, A., & Wahit, M. U. (2017). Materials for food packaging applications based on bio-based polymer nanocomposites: A review. *J Thermoplas Compos Mater*, 30(2), 143-173, doi: 10.1177/0892705715588801.
- Aygören, E., Sancak, A.Z., Akdağ, E., Demirtaş, M., Dönmez, D., Sancak, K. (2013). Türkiye'de Meyve Suyu Üretim Sektörü. 11. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi, 03-05 Eylül 2013, Samsun, Türkiye, 1540-1548.
- Bağış C. (2015). TiO₂ kullanımının pva esaslı biyobozunur kompozitlerin mekanik özellikleri üzerine etkisi. *Seçuk-Tek Derg*, 14(2), 997-1004.
- Bátori, V., Jabbari, M., Åkesson, D., Lennartsson, P.R., Taherzadeh, M.J., Zamani, A. (2017). Production of pectin-cellulose biofilms: A new approach for citrus waste recycling. *Int J Pol Sci*, 2017:1-9, doi: 10.1155/2017/9732329.
- Berthet, M.A., Angellier-Coussy, H., Guillard, V., Gontard, N. (2016). Vegetal fiber-based biocomposites: Which stakes for food packaging applications. *J Appl Pol Sci*, 133: 42528-42546, doi: 10.1002/app.42528.
- Borah, P.P., Das, P., Badwaik, L.S. (2017). Ultrasound treated potato peel and sweet lime pomace based biopolymer film development. *Ultra sonochem*, 36: 11-19, doi: 10.1016/j.ulsonch.2016.11.010.
- Canbolat, Ö., Kamalak, A., Kara, H. (2014). Nar posası silajına (*Punica granatum L.*) katılan ürenin silaj fermentasyonu, aerobik stabilite ve in vitro gaz üretimi üzerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 61: 217-223.
- Chutia, M., Bhuyan, P.D., Pathak, M.G., Sarma, T.C., Boruah, P. (2009). Antifungal activity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. *LWT-Food Sci Technol*, 42(3): 777-780, doi: 10.1016/j.lwt.2008.09.015.
- Çankaya, N., Sökmen, Ö. (2016). Kitosan-Kil Biyonompozitleri. *Politek*, 19(3), 283-295.
- Da Silva, I.S.V., Neto, W.P.F., Silvério, H.A., Pasquini, D., Zeni Andrade, M., Otaguro, H. (2017). Mechanical, thermal and barrier properties of pectin/cellulose nanocrystal nanocomposite films and their effect on the storability of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Pol Adv Technol*, 28(8): 1005-1012, doi: 10.1002/pat.3734.
- Deniz, E., Yeşilören, G., İşçi, N.Ö. (2015). Türkiye'de Gıda Endüstrisi Kaynaklı Biyokütle ve Biyoyakıt Potansiyeli. *Gıda*, 40(1), 47-54, doi: 10.15237/gida.GD14037.
- Ding, D., Zhao, Y., Yang, S., Shi, W., Zhang, Z., Lei, Z., Yang, Y. (2013). Adsorption of cesium from aqueous solution using agricultural residue-walnut shell: equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling studies. *Water research*, 47(7), 2563-2571, doi: 10.1016/j.watres.2013.02.014.
- El Achaby, M., El Miri, N., Aboulkas, A., Zahouily, M., Bilal, E., Barakat, A., Solhy, A. (2017). Processing and properties of eco-friendly bio-nanocomposite films filled with cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse. *Int J Biol Macromol*, 96, 340-352, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.12.040.
- Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Fragr J*, 22(6): 494-504, doi: 10.1002/ffj.1829.
- Fortunati, E., Luzi, F., Puglia, D., Petrucci, R., Kenny, J.M., Torre, L. (2015). Processing of PLA nanocomposites with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia oceanica* waste: innovative reuse of coastal plant. *Ind Crops Prod*, 67, 439-447, doi: 10.1016/j.indcrop.2015.01.075.
- González-Montelongo, R., Lobo, M.G., González, M. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chem*, 119(3): 1030-1039, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.012.
- Grigoriadi, K., Giannakas, A., Ladavos, A.K., Barkoula, N.M. (2015). Interplay between

- processing and performance in chitosan-based clay nanocomposite films. *Polym Bull*, 72(5), 1145-116, doi: 10.1007/s00289-015-1329-0.
- Günkaya, Z., Demirel, R., Banar, M. (2016). Portakal kabuğu atıklarından üretilen biyokompozit ambalaj filminin aflatoksinlere karşı etkisinin incelenmesi. *Pamukkale Univ Mub Bilim Derg*, 22(6), 513-519, doi: 10.5505/pajes.2016.92653.
- Harini, K., Mohan, C.C., Ramya, K., Karthikeyan, S., Sukumar, M. (2018). Effect of Punica granatum peel extracts on antimicrobial properties in Walnut shell cellulose reinforced Bio-thermoplastic starch films from cashew nut shells. *Carbohydr Polym*, 184(2018): 231-242, doi: 10.1016/j.carbpol.2017.12.072.
- Hazer, B. (2011). Biyobozunur Plastik Ambalaj Malzemeleri Çerçeve Çalışması. <http://www.bioplasttr.net/BIOPLASTICS.pdf> (05.01.2011).
- Kanmaz, E.Ö., Saral, Ö. (2017). Portakal kabuğundan elde edilen kritik altı su ekstraksiyonlarında antioksidan aktivite değerleri ile fenolik bileşikler arasındaki ilişki. *J Food*, 42(5), 485-493, doi: 10.15237/gida.GD17029.
- Keskin, B., Altay B., Akyol, M., Meral, G., Uyar, O. (2018). Global Packaging Trends. 6. Uluslararası Matbaa Teknolojileri Sempozyumu 01-03 Kasım, İstanbul Türkiye, 483-503.
- Koshy, R.R., Mary, S.K., Thomas, S., Pothan, L.A. (2015). Environment friendly green composites based on soy protein isolate-A review. *Food Hydrocoll*, 50, 174-192, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.04.023.
- Kowalczyk, M., Piorkowska, E. (2012). Mechanisms of plastic deformation in biodegradable polylactide/poly (1, 4-cis-isoprene) blends. *J Appl Pol Sci*, 124(6): 4579-4589, doi: 10.1002/app.35489.
- Li, L., Zhao, C., Zhang, Y., Yao, J., Yang, W., Hu, Q., Cao, C. (2017). Effect of stable antimicrobial nano-silver packaging on inhibiting mildew and in storage of rice. *Food Chem*, 215, 477-482, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.08.013.
- Long, M., Wang, J., Zhuang, H., Zhang, Y., Wu, H., Zhang, J. (2014). Performance and mechanism of standard nano-TiO₂ (P-25) in photocatalytic disinfection of foodborne microorganisms-Salmonella typhimurium and Listeria monocytogenes. *Food Control*, 39:68-74, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.10.033.
- Maciel, V.B.V., Yoshida, C.M., Franco, T. (2015). Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. *Carbohydr Polym*, 132, 537-545, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.06.047.
- Muller, J., González-Martínez, C., Chiralt, A. (2017). Combination of poly (lactic) acid and starch for biodegradable food packaging. *Mater*, 10(8), 952, doi: 10.3390/ma10080952.
- Muppalla, S.R., Kanatt, S.R., Chawla, S.P., Sharma, A. (2014). Carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. *Food Pack Shelf Life*, 2(2), 51-58, doi: 10.1016/j.fpsl.2014.07.002.
- Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Pereira, P.H.F., Moates, G.K., Wellner, N., Azeredo, M. (2016). Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. *Food Chem*, 198, 113-118, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.080.
- Oliveira, T.Í.S., Rosa, M.F., Ridout, M.J., Cross, K., Brito, E.S., Silva, L.M., Azeredo, H.M. (2017). Bionanocomposite films based on polysaccharides from banana peels. *Int J Biol Macromol*, 101: 1-8, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.068.
- Oliveira, T.Í.S., Zea-Redondo, L., Moates, G.K., Wellner, N., Cross, K., Waldron, K.W., Azeredo, H.M. (2016). Pomegranate peel pectin films as affected by montmorillonite. *Food Chem*, 198: 107-112, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.109.
- PAGÇEV (2017). Atık İstatistikleri. <http://www.pagev.org/atik-istatistikleri>
- PAGEV (2018). Türkiye Plastik Ambalaj Malzemeleri Sektör İzleme Raporu 3 Aylık, <https://www.pagev.org/upload/files/Hammadd e%20Yeni%20Tebli%C4%9F%20Bilg.%203/Pla>

- stik%20Ambalaj%20Malzemeleri%20Sekt%C3%B6r%20Raporu%202018%20Ocak%20-%20Mart.pdf (27.06.2018).
- Pereira, P.H.F., Oliveirai T.Í.S., Rosa, M.F., Cavalcante, F.L., Moates, G.K., Wellner, N., Azeredo, H.M. (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *Int J Biol Macromol*, 88, 373-379, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.03.074.
- Pitak, N., Rakshit, S.K. (2011). Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self sealing films used for preserving fresh-cut vegetables. *Food Sci Technol (LWT)*, 44(10): 2310-2315, doi: 10.1016/j.lwt.2011.05.024.
- Qin, Y., Zhang, S., Yu, J., Yang, J., Xiong, L., Sun, Q. (2016). Effects of chitin nano-whiskers on the antibacterial and physicochemical properties of maize starch films. *Carbohydr Polym*, 147, 372-378, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.03.095.
- Reesha, K.V., Panda, S.K., Bindu, J., Varghese, T.O. (2015). Development and characterization of an LDPE/chitosan composite antimicrobial film for chilled fish storage. *Int J Bio Macromol*, 79, 934-942, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.06.016.
- Rogols, S., Sirovatka, D.M., Widmaier, R.G. (2003). Composite food product comprising potato peel product. U.S. Patent No 6,524,639.
- Romero-Bastida, C.A., Tapia-Blácido, D.R., Méndez-Montecalvo, G., Bello-Pérez, L.A., Velázquez, G., Alvarez-Ramirez, J. (2016). Effect of amylose content and nanoclay incorporation order in physicochemical properties of starch/montmorillonite composites. *Carbohydr Polym*, 152, 351-360, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.07.009.
- Saklar Ayyıldız, S. (2008). Ambalaj ve Nanoteknoloji. <http://www.gidabilimi.com/tr/makaleler-1/1553-ambalaj-ve-nanoteknoloji> (06.01.2008).
- Sanuja, S., Agalya, A., Umopathy, M.J. (2015). Synthesis and characterization of zinc oxide-neem oil-chitosan bionanocomposite for food packaging application. *Int J Biol Macromol*, 74, 76-84, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.11.036.
- Sarsari, N.A., Pourmousa, S., Tajdini, A. (2016). Physical and Mechanical Properties of Walnut Shell Flour-Filled Thermoplastic Starch. *Compos BioResour*, 11(3), 6968-6983.
- Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W. (2016). Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocoll*, 61, 695-702, doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.001.
- Sorrentino, A., Gorrasi, G., Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends Food Sci Technol*, 18(2): 84-95, doi: 10.1016/j.tifs.2006.09.004
- Staroszczyk, H., Malinowska-Pańczyk, E., Gottfried, K., Kolodziejska, I. (2017). Fish gelatin-nanoclay films. Part I: Effect of a kind of nanoclays and glycerol concentration on mechanical and water barrier properties of nanocomposites. *J Food Process Preser*, 41(5), e13211, doi: 10.1111/jfpp.13211.
- Tawakkal, I.S., Cran, M.J., Miltz, J., Bigger, S.W. (2014). A review of poly (lactic acid)-based materials for antimicrobial packaging. *Int J Food Sci Technol*, 79(8): R1477-R1490, doi: 10.1111/1750-3841.12534.
- Tencati, A., Pogutz, S., Moda, B., Brambilla, M., Cacia, C. (2016). Prevention policies addressing packaging and packaging waste: Some emerging trends. *Waste Manag*, 56: 35-45, doi: 10.1016/j.wasman.2016.06.025.
- Thakur, S., Chaudhary, J., Sharma, B., Verma, A., Tamulevicius, S., Thakur, V. K. (2018). Sustainability of bioplastics: Opportunities and challenges. *Curr Opin Green Sustain Chem*, 13, 68-75, doi: 10.1016/j.cogsc.2018.04.013.
- Trifol, J., Plackett, D., Sillard, C., Szabo, P., Bras, J., Daugaard, A.E. (2016). Hybrid poly (lactic acid)/nanocellulose/nanoclay composites with synergistically enhanced barrier properties and improved thermomechanical resistance. *Polym Int*, 65(8), 988-995, doi: 10.1002/pi.5154.
- TÜDAM (2018). Dünya Çevre Günü Türkiye Raporu,

http://www.cmo.org.tr/resimler/ekler/0d4a5b926c005a6_ek.pdf (05.06.2018).

TÜİK (2016). Meyveler, İçecek ve Baharat Bitkilerinin Üretim Miktarları, http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=1564 (16.03.2016).

Väisänen, T., Haapala, A., Lappalainen, R., Tomppo, L. (2016). Utilization of agricultural and forest industry waste and residues in natural fiber-polymer composites: A review. *Waste Manag*, 54: 62-73, doi: 10.1016/j.wasman.2016.04.037.

Villarruel, S., Giannuzzi, L., Rivero, S., Pinotti, A. (2015). Changes induced by UV radiation in the presence of sodium benzoate in films formulated with polyvinyl alcohol and carboxymethyl cellulose. *Mater Sci Eng: C*, 56, 545-554, doi: 10.1016/j.msec.2015.07.003

Wang, H., Wang, L. (2017). Developing a bio-based packaging film from soya by-products

incorporated with valonea tannin. *J Clean Product*, 143, 624-633, doi: 10.1016/j.jclepro.2016.12.064.

Wikiera, A., Mika, M., Starzyńska-Janiszewska, A., Stodolak, B. (2016). Endo-xylanase and endo-cellulase-assisted extraction of pectin from apple pomace. *Carbohydr Polym*, 142, 199-205, doi : 10.1016/j.carbpol.2016.01.063.

Yılmaz, M.T., Muslu, A., Karasu, S., Bozkurt, F., Dertli, E. (2017). Portakal Posasından Modifiye Pektin Eldesi ve Optimizasyonu, Kompozisyonel ve Yatışkan Faz Özelliklerinin Karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fak Derg*, 14(2), 71-80.

Yuliana, M., Huynh, L.K., Hob, Q.P., Truong, C.T., Ju, Y.H. (2012). Defatted cashew nut shell starch as renewable polymeric material: isolation and characterization. *Carbohydr Polym*, 87: 2576–2581, doi: 10.1016/j.carbpol.2011.11.044.



**THE RELATIONSHIPS BETWEEN SERVING TEMPERATURES AND
MICROBIOLOGICAL QUALITY OF NORMAL AND DIETARY MEALS
PRODUCED IN A UNIVERSITY HOSPITAL KITCHEN***

Mevhibe Terkuran^{1}, Zerrin Erginkaya²**

¹Department of Gastronomy and Culinary Arts, Kadirli School of Applied Sciences, Osmaniye Korkut Ata University, Osmaniye, Turkey.

²Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, Cukurova University, Adana, Turkey

Received /Geliş: 13.04.2019; Accepted /Kabul: 17.08.2019; Published online /Online baskı: 25.10.2019

Terkuran, M., Erginkaya, Z.. (2019). *The relationships between serving temperatures and microbiological quality of normal and dietary meals produced in a university hospital kitchen. GIDA (2019) 44 (6): 1020-1029 doi: 10.15237/gida.GD19070*

Terkuran, M., Erginkaya, Z.. (2019). Üniversite hastane mutfağında üretilen normal ve diyet öğünlerinin servis sıcaklıkları ile mikrobiyolojik kalitesi arasındaki ilişkiler. GIDA (2019) 44 (6): 1020-1029 doi: 10.15237/gida.GD19070

ABSTRACT

In this research, temperature levels and microbiological quality of served meals produced in Balcalı Hospital Kitchen from 2015 to 2017 years were evaluated. The temperatures of 7316 dishes (1812 normal and 5504 diet menus) were analyzed statistical. The recorded temperatures of hot served-normal menu dishes showed riskier holding temperatures (<55 °C) than dietary dishes ($P < 0.001$). However, cold served dishes showed more safety holding temperatures (≤ 8 °C) than hot-served meals except for salads which were served immediately after preparation ($P < 0.001$). Sauced and one-pot dishes were served at safer temperatures (≥ 63 °C) than pastries and pasta dishes due to their production methods ($P < 0.001$). Microbiological analyses of the meals were found suitable for the legislation. *E. coli*, *S. aureus* and *Salmonella* spp. were not found in any samples. Finally, the temperature evaluation of prepared meals was considered a significant part of the HACCP system and a mandatory factor for guaranteeing food safety.

Keywords: HACCP, microbiological quality, temperature, evaluation

**ÜNİVERSİTE HASTANE MUTFAĞINDA ÜRETİLEN NORMAL VE DİYET
ÖĞÜNLERİNİN SERVİS SICAKLIKLARI İLE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ
ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

ÖZ

Bu araştırmada, Balcalı Hastane Mutfağında 2015-2017 yılları arasında üretilen ve sunulan yemeklerin sıcaklık dereceleri ve mikrobiyolojik kaliteleri değerlendirildi. 7316 çeşit yemeğin (1812 normal ve 5504 diyet menüleri) sıcaklıkları istatistiksel olarak analiz edildi. Sıcak servis edilen-normal menü yemeklerinin kaydedilen sıcaklıklarının, diyet yemeklerinden daha riskli servis sıcaklığında (<55 °C) sunulduğubelirlendi ($P < 0.001$). Bununla birlikte, soğuk servis edilen yemeklerin, hazırlandıktan hemen sonra servis edilen salatalar hariç, sıcak servis edilen öğünlerden daha güvenli servis sıcaklığında (≤ 8 °C) sunulduğusaptandı ($P < 0.001$). Soslu ve tencere yemeklerinin, üretim yöntemlerinden dolayı, hamur işleri ve makarna yemeklerinden daha güvenli sıcaklıklarda (≥ 63 °C) servis edildiği belirlendi ($P < 0.001$). Yemeklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları mevzuata uygun bulundu. Örneklerin hiçbirinde *E. coli*, *S. aureus* ve *Salmonella* spp. tespit edilmedi. Sonuç olarak, hazırlanan yemeklerin sıcaklık değerlendirmesi, HACCP sisteminin önemli bir parçası ve gıda güvenliğini garanti altına almak için zorunlu bir faktör olarak değerlendirildi.

Anahtar kelimeler: HACCP, mikrobiyolojik kalite, sıcaklık, değerlendirme

* Some part of this study has been presented as a poster at IMSEC Congress, Adana, October 24-26, 2018/ Bu çalışmanın bir bölümü 24-26 Ekim 2018 tarihinde Adanada gerçekleştirilen IMSEC kongresinde poster poster bildiri olarak sunulmuştur.

**Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar/

✉ mevhabeterkuran@osmaniye.edu.tr,

☎ (+90) 328 888 0090

☎ (+90) 328 888 0091

INTRODUCTION

Hospital catering should be guarantee foods that are suitable and covering the nutritional needs of the patients, recipients and hospital staff. Additionally, different types of foods served in healthcare settings should be prepared to reduce the risk of foodborne disease in patients and other hospitalized consumers including the most susceptible and specific advice should be given to vulnerable people such as immunocompromised, organ-transplant and cancer patients (go through chemotherapy or radiotherapy) (Wall et al., 2008).

Some epidemiological studies reported that improper practices in food processing plants, food service establishments, as well as home play an important role in the causal chain of foodborne diseases. In some nosocomial foodborne outbreaks have also been proved by this issue (Maguire et al., 2000; Spearing et al., 2000; Hassan and ElBagoury, 2018). So, the main purpose of the hospital is to supply safe food to patients who frequently are at higher risk of acquiring infections and their complications (Lund, 2018).

In hospitals catering services, the meals are prepared and cooked in the hospital kitchen and distributed directly to the clinics. This procedure is based on a daily preparation of meals that are distributed and served with a minimum holding period in order to maintain suitable holding temperatures of them (Petruzzelli et al., 2018). In order to provide microbial food safety in the hospital kitchen; food processing by heat requires the center of the product to reach 70 °C or higher for at least 2 minutes, or equivalent heat treatment, in order to destroy vegetative microorganisms (UK, 1989; FSA, 2004; FAO/WHO, 2006). Cooked foods should be consumed immediately, or kept for a short time at a temperature higher than 63 °C, or they should be cooled fastly and kept below 7-8 °C (ideally below 4°C) to control Clostridia and other bacteria. Besides, reheating should be made at least 72 °C before consumption (EFSA, 2005). International legislations recommended that keeping procedures for cooked prepared meals: ≥ 63 °C (thermal retention, for meals consumed within a few hours). In addition, ≤ 8 °C

(refrigerated storage for meals consumed within 24 hours); ≤ 4 °C (refrigerated storage for meals with a shelf life more than 24 hours) and ≤ -18 °C (frozen storage for longer shelf life) (EC 2004; EFSAandECDC, 2013; EFSA and ECDC, 2015).

Catering services have to apply a food safety management system depend on the principles of Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) for providing safe food (CAC, 2003). However, in small and medium catering establishments have some difficulties in implementing this system are reported before (Garayoa et al., 2011; Chaoniruthisai et al., 2018). So, the necessity of a flexible application of HACCP has been suggested by some authors previously (Al Yousuf et al., 2015; Garayoa et al., 2016).

The HACCP system required some important procedures. Those are briefly; applying the Good Manufacturing Practices (GMP), established in prerequisite programs such as cleaning and disinfection procedures for surfaces and equipment, and controlling decisive critical limits such as temperature/time during and after food processing. Implementation of an effective HACCP system and regarding food safety, training of all food workers is an essential part of self-control systems in order to improve food handlers' knowledge (Garayoa et al., 2016; Salazar et al., 2006). Therefore, European and Turkish Legislations have been recognized for training catering personnel (CAC, 2003; Anonymous, 2011).

The objectives of the present study were to determine relationships between holding temperatures and types of the dishes produced in a university hospital kitchen during three years in terms of microbiological quality of normal and dietary meals.

MATERIALS and METHODS

Characterization of the hospital kitchen catering service

The hospital catering service which was established in Adana, Southern part of Turkey. This business did not apply the HACCP system

and was supplying an average of 6500 to 8000 meals (including normal and dietary dishes which were produced in a separate room of the kitchen) per day, and served to different clinics in the same hospital. All kinds of meals were prepared, distributed and consumed on the same day in lunch and dinner time and they were prepared twice in a day in the morning and afternoon period. Isothermal containers and special vehicles were used for transporting the prepared-meals to maintain suitable temperatures. The time that passed between preparation, deploy and consumption ranged between 1 and 3 hours. Prepared meals stayed in airtight sealed containers during distribution time.

Training of hospital food workers about HACCP system

A total of 150 food workers were trained about HACCP system. For these purposes, some critical information was given to all staff members (cooks, waitresses, chef cooks, cleaning personnel etc.) These pieces of information were included number/various of meals and workers, application of prerequisites necessities (i.e. maintenance of facilities and equipment, cleaning and disinfection, pest control, proper selection of suppliers, requirements of staff training, traceability, water control and waste management), food hygiene practices (standard staff uniforms, hand washing practices, chilling, defrosting, reheating of the foods including disinfection of vegetables and fruits, cleaning and disinfection of equipments and kitchen parts (normal and dietary meals preparation rooms, storage rooms, raw foods preparation and cooking areas..etc), the details of temperature control, appropriate maintenance of raw materials and warm and cold dishes, etc.) and documentation (HACCP manual, control recording system, etc.). Therefore, at least four hours of training in a year were presented by Food Engineer of the catering service and Hospital Infection Control Team (handwashing practices and general hospital infection controls training), including slides presentations and practical examples to understand the main notions. Some of the topics of these training were: Supplying Safe Foods in Hospitals, Foodborne Disease and

Hospital Kitchen, Perishable Food Products, Heating, Cooling and Cleaning procedures of the foods, Safe Work Practices, Good Hygiene Practices, and The Main Principles of HACCP System.

Sample collection

Ready-to-eat normal and dietary meals

Prepared meals (with hot or cold served) were taken every day from each of the meals (normal and diet menu dishes) ($n = 604$ normal menu, $n = 1835$ dietary dishes; a total of $n = 2439$ meals in each year). In lunch and dinner time before serving; a total of 30 samples (including 250 Gram of each meal) were collected under aseptic conditions using jars (sterilized in hospital sterilization unit) and utensils according to Turkish legislation (EC, 2004; Anonymous, 2011).

Food temperatures were measured at the time of filling into isothermal containers which were used for transporting dishes to the eight small kitchens and three restaurants which were on different floors in the hospital. The temperatures of the meals were measured in the center of the dishes, using a calibrated thermometer (Figures 1 and 2) with a certainty of 0.1 °C (TESTO Instruments). Then all measurements were recorded on daily food temperature report forms. Samples were obtained by aseptic conditions to the sterilized jars and transported to the laboratory under refrigerated conditions. Food samples were kept in refrigeration ($3\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$) until the send to the microbiological analyses (about 72 hours) according to Turkish Legislation (Anonymous, 2011).

Microbiological analysis of the meals

Microbiological tests were carried out on food samples according to the legislation in each year. Conforming to Turkish and international legislation, following pathogenic microorganisms were investigated; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. (EC, 2004; Anonymous, 2011). All samples were analyzed according to standard official methods (ISO) following the standard ISO/IEC 17025:2005 in the Turkish

Ministry of Food and Agriculture Laboratories in Adana routinely (According to HACCP plan).

Statistical analyses were performed using SPSS 17 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) version. The chi-square test was used to compare differences for proportions between groups. The significance level was set at $P < 0.001$ (Özdamar, 1999).

Statistical analysis



Figure 1. The measuring of cold served salad with a calibrated-food thermometer before serving.



Figure 2. The measuring of a hot-served meal with a calibrated-food thermometer before serving.

RESULTS AND DISCUSSION

According to an investigation of that training program certification of the personnel in the catering service was found very high because 98% of the checked workers had undergone specialized training given by the company (Anonymous 2011; Anonymous 2013). Considering of HACCP system, temperature control and temperature recording was found lacking during the first year including the storage of raw food materials, food processing, and preservation of the prepared foods, primarily due to temperatures not being recorded routinely. This situation has been reported by some authors before (Garayoa et al., 2016; Zanin et al., 2017). If this is ignored, it may cause a crucial problem in providing food safety in hospital catering. Moreover, implementing cleaning and disinfection procedures were found to be insufficient. The same results were pointed out in previous studies (Fielding et al., 2011; Adikari et al., 2016). According to a training plan (which was prepared at the beginning of each year), the importance of temperature control of the meals and recording of all recording sheets related to the HACCP system was explained clearly to all food workers worked in each step of food production processes. So, there existed a significant increase of recorded activities and compliance with criteria for food temperature holding.

Considering the temperatures of hot served dishes; Table 1 was presented with the recorded holding temperatures of 1426 cooked food products which hot- served meals measured at the time before serving. For hot served meals; the temperatures were grouped into ranges ≥ 63 °C, 62-55 °C and < 55 °C, being considered as safe, tolerable and unacceptable, respectively, following the criteria of some international legislation and some previous studies (EC, 2004; EFSA and ECDC, 2015; Garayoa et al., 2016). For cold served meals; the temperatures were grouped into ranges ≤ 8 °C, and > 8 °C, being considered as safe and unacceptable, respectively, according to the criteria of international legislation (EC, 2004; EFSA and ECDC, 2015). The percentage of the meals served at lunch and dinner times with risky holding temperatures

(< 55 °C) was found from 11% to 19% respectively ($P < 0.001$). It was found that 84.9% of the recorded temperatures in both serving times ($n = 1211$) conformed to international legislation (≥ 63 °C) (EC, 2004; EFSA, 2005; EFSA and ECDC, 2015). While 12% ($n = 170$) of them had temperatures in the range 62-55 °C, which is considered to be inadequate from the legislation levels. However, according to the WHO temperature limit was set at ≥ 60 °C (FAO/WHO, 2006). Besides, various international regulations and some authors regarded a barrier of 55 °C for safety food (ICMSF, 2002; Garayoa et al., 2011). Therefore, the temperatures of our results could not show a health risk to consumers due to the meals still protected against the growth of pathogenic or spoilage microorganisms. So, 84.9% of our results could be considered correct. Our results were lower than Garayoa and his colleagues' (2016) results, in their study (for hot served meals; 55-65 °C the temperature was considered tolerable level according to Spanish Legislation); 90.5% of their analyzed samples were found correct. Besides, there existed same significant differences in temperature retention, depending on the type of food and the type of cooking in our study. While one-pot dishes or sauces (soups/creams, vegetables/legumes, and meals with sauce) recorded higher temperatures than meals without sauces or used to short heat treatments (pastries, grilled and roast) had the lowest temperatures ($P < 0.001$) in accordance with other previously reported studies (Irigoyen et al., 1992; Garayoa et al., 2016). Therefore, hospital catering services should create suitable procedures for meals that are not stayed at < 55 °C until serving, particularly if the transport of the meals too far clinics/restaurants is necessary.

It should be considered that temperatures of the meals can be lost during the transfer and serving time with isothermal containers (Garayoa et al., 2016). Similarly, in our study, grilled and roasted dishes and pastries served at lunch and dinner times have more risky temperatures than other food groups (Table 1). According to the food groups including normal and diet menu dishes, the ratio of food served at risky temperatures was

Temperature evaluation and microbiological quality of hospital meals

higher in the normal food menus than dietary menus ($P < 0.001$). For example; while normal menu dishes were served at lunchtime showed that 11% of them were found a risky holding temperature ($< 55^\circ\text{C}$); this rate was found to be 10% in diet menu dishes. Besides, normal menu meals were served in the evening time with a rate of 19% at risky temperatures ($< 55^\circ\text{C}$); this rate was found to be 10% in the diet menu dishes ($P < 0.001$). A total of 614 grilled and roasted meals were served in both normal and diet menus. Comparing of their serving temperatures; 68.5% (average rate; lunch and dinner time) of roasted, 94% (average rate) of grilled meals which were in

normal menu and 99.6% of roasted and 100% of grilled meals (in the oven) were in diet menu dishes were presented at safe temperature. In general, 0.4% (average rate) of dietary meals were presented at risky temperatures ($P < 0.021$). However, dietary meals showed less risky temperatures due to their fewer volumes preparation (average; 450 meals per day), our results showed that grilling and or roasting are not the suitable techniques in terms of keeping the temperatures of the meals during distribution or serving time. These results are supported by previous studies (Irigoyen et al., 1992; Garayoet al., 2011; Garoyoa et al., 2016).

Table 1. Temperature levels of hot-served normal and diet menu dishes in hospital kitchen

Dishes		No of Samples		No of Samples (%)				No of Samples (%)				No of Samples (%)			
		Lunch	Din.	$\geq 63^\circ\text{C}$		$62^\circ\text{C}-55^\circ\text{C}$		$< 55^\circ\text{C}$		$< 55^\circ\text{C}$		$< 55^\circ\text{C}$			
		Lunch	Din.	Lunch	%	Din.	%	Lunch	%	Din.	%	Lunch	%	Din.	%
Normal Menu															
Starters	Soups/Creams	157	157	150 (95.5)	150 (96)	2 (1.3)	2 (1.3)	5 (3.2)	5 (3.2)						
	Vegetable/Legumes	10	10	10 (100)	10 (100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pasta/Rice	213	244	108 (50.7)	100 (41)	80 (38)	59 (24)	25 (12)	85 (35)						
Main Courses	With Sauce	139	138	137 (98.6)	137 (99)	1 (0.7)	0	1 (0.7)	1 (0.7)						
	One-pot dishes	84	83	74 (99.3)	78 (99.3)	5 (5.9)	0	5 (0.6)	5 (0.6)						
	Pastries	34	35	5 (14.7)	5 (14)	5 (15)	4 (11)	24 (71)	26 (74)						
	Roasted	11	11	5 (45.5)	6 (54.5)	2 (18)	2 (18)	4 (36)	3 (27)						
	Grilled	56	44	50 (89.3)	36 (82)	3 (5.4)	5 (11)	3 (5.4)	3 (6.8)						
Total		704	722	530 (75.2)	512 (71)	98 (14)	72 (10)	77 (11)	138 (19)						
Diet Menu															
Starters	Soups/Creams	433	433	430 (99.3)	430 (99)	0	0	3 (0.7)	3 (0.7)						
	Vegetable/Legumes	50	50	50 (100)	50 (100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Pasta/Rice/Bulgur	390	392	213 (54.6)	212 (54)	58 (15)	60 (15)	119 (31)	120 (31)						
Main Courses	With Sauce	81	81	81 (100)	81 (100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Roasted	241	241	230 (95.4)	240 (99.6)	10 (4.1)	0	1 (0.4)	1 (0.4)						
	Grilled(in the oven)	5	5	5 (100)	5 (100)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		1200	1202	1009 (84.1)	1018 (85)	68 (5.7)	60 (5)	123 (10)	124 (10)						

Din.: Dinner.

Bacterial proliferation in cooked foods may be affected by a_w capacity or free water (which is not connected to any other compounds) content of the food. So, if the food has more free water capacity (higher a_w capacity), it can be more suitable for bacterial surviving. Because pathogenic or spoilage bacteria of the food can easily use this water for their growth. Thus,

sodium salts contributing to the overall sodium consumption are also very important in the prevention of spoilage and/or growth of microorganisms in foods (Taormina, 2010). Normal menu dishes in our study were contained salt while dietary meals should be prepared without salt. Moreover, dietary meals have more free water capacity (higher a_w capacity) that may

be allowed to bacterial surviving. However, the results of our study showed that dietary meals served at safer temperatures than normal menu meals that contained salt (lower a_w capacity) ($P < 0.001$). This result is good for patients' health that may affect unsafe food easily.

Pasta dishes/rice/bulgur (a traditional Turkish meal) and pastries were found higher risky holding temperatures than other meals in our study. A total of 3828 normal and diet menu hot dishes were served at lunch and dinner times. In the normal menu with a rate of varieties of pasta dishes were found 12% in lunch and 35% in evening serving times were presented at risky holding temperatures ($< 55^\circ\text{C}$). Besides, 71% of pastries at lunch and 74% of them at dinner times were presented at risky holding temperatures ($< 55^\circ\text{C}$) respectively ($P < 0.001$). In diet menus, riskier serving temperatures were found 31% of pasta dishes in both serving times - pastries did not prepare in dietary menus- ($P < 0.001$). However, some of the hot meals such as vegetable legumes, soups/creams, and souced dishes were served at more safer temperatures ($\geq 63^\circ\text{C}$) than other food groups. Besides this, 100% of grilled diet meals (meat/chicken meatballs grilled in the oven) was also served at safe temperatures ($P < 0.001$). It was found that an average of 10% of the dietary hot-meals were served at risky temperatures while an average of 15% of the normal hot-meals were served at risky temperatures ($P < 0.001$). The possible reason for this result might be; pasta dishes were found lower temperatures ($< 55^\circ\text{C}$) because of their cold serving (not achieved properly in cold temperatures), and pastries showed temperature losing after cooking due to their cooking procedures. This condition is so important for providing safe foods, because this problem might be a cause of foodborne illness. Schaffner et al. (2005) pointed out that refrigeration and freezing were in the realm of heat transfer. They reported that these processes had been so important in safe and quality cooking since improper cooling practices were responsible for more than 500 foodborne illness outbreaks in U.S. restaurants between 1998 and 2008 years. In addition, there existed some differences between lunch and

dinner times serving temperatures of hot served normal menu dishes. For example; only 10% of the hot meals were served at risky temperatures ($< 55^\circ\text{C}$) at lunchtime while 19% of them were served at risky temperatures at evening time ($P < 0.001$). The possible reason for these results might be; fewer food workers worked in the evening shift than lunchtime. Therefore, staff rotation might show a crucial negative-effect on holding temperatures of normal meals in our study.

Considering the holding temperatures of cold served meals (Table 2); a total of 3102 cold-dietary menu meals were served at lunch and dinner times. It was found that 3.9% of yoghurt/buttermilk/tzatziki and 2.05% of stewed were presented at risky holding temperatures ($> 8^\circ\text{C}$) respectively. On the other hand, the average rate of 93.6% of jellos - puddings and ashuras were found at safe holding temperatures ($\leq 8^\circ\text{C}$), ($P < 0.001$). The possible causes of these results could be; puddings-jellos and ashuras were prepared the day before serving and stored in a refrigerator at $5 \pm 3^\circ\text{C}$ and waited until serving time. Besides this, a total of 386 normal menu-cold meals were served at lunch and dinner times. It was found that the average rate of 86.5% of salad and 33.3% of puddings/ashuras/desserts with syrup were served at risky holding temperatures ($> 8^\circ\text{C}$). In general, the average rate of 69.4% of cold served normal meals were found to be at risky holding temperatures ($> 8^\circ\text{C}$), ($P < 0.001$). In addition, a total of 3102 dietary menu-cold meals were served at lunch and dinner times and the average rate of 53.5% of varieties of salads was found at risky holding temperatures ($> 8^\circ\text{C}$). In general, an average rate of 16.9% of cold served dietary meals were found to be at risky holding temperatures ($> 8^\circ\text{C}$), ($P < 0.001$). The possible causes of these situations might be; salads were served immediately after preparation and they were not chilled before serving. Therefore, room temperatures could be an effective role in their serving temperatures. In addition, desserts with a syrup such as baklava, semolina dessert etc. were served immediately after hot syrup adding that could be effected their serving temperatures.

Temperature evaluation and microbiological quality of hospital meals

Table 2. Temperature levels of cold-served normal and diet menu dishes in hospital kitchen

Dishes		No of Samples		No of Samples (%)				No of Samples (%)			
		Lunch	Dinner	> 8 °C				≤ 8 °C			
				Lunch	%	Din.	%	Lunch	%	Din.	%
Cold Dishes (Normal Menu)	Yoghurt/Buttermilk/Tzatziki	98	98	7	(7.2)	7	(7.2)	91	(92.9)	91	(92.9)
	Deserts/Puddings/Ashuras	24	24	8	(33.3)	8	(33.3)	16	(66.7)	16	(66.7)
	Salads	72	70	71	(98.6)	52	(74.3)	1	(1.4)	18	(25.7)
	Total	194	192	86	(73.4)	67	(65.3)	108	(26.6)	125	(34.7)
Cold Dishes (Dietary Menu)	Yoghurt/Buttermilk/Tzatziki	425	426	16	(3.8)	17	(3.9)	409	(96.2)	409	(96)
	Jellos/Pudings/Ashuras	447	437	50	(11.2)	7	(1.6)	397	(88.8)	430	(98.4)
	Stewed	364	363	8	(2.2)	7	(1.9)	356	(97.8)	356	(98.1)
	Salads	242	398	187	(77.3)	118	(29.6)	55	(22.7)	280	(70.4)
	Total	1478	1624	253	(22.7)	142	(11.2)	861	(77.3)	1119	(88.7)

Din.: Dinner.

In the present study, microbiological analyses of the evaluated samples; in each food production time (lunch and dinner) 250 Gram samples were collected from each meal by aseptic conditions in a sterilized container and stored at 5 ± 3 °C in a calibrated refrigerator during 72 hours. These samples were analyzed periodically by the Ministry of Agriculture laboratory, according to Turkish Legislation (Anonymous, 2011). The results of the microbiological analysis of all (100%) of tested samples as; pathogenic bacteria such as *Salmonella* spp., *E. coli*, and *S. aureus* could not be detected in any of the samples. In our study, the short retention time for transferring of the meals and twice food preparing in a day and strict controls of temperatures of storage areas might be the reasons for these results. On the other hand, some studies demonstrated different from our results such as; Garayoa et al. (2016) were reported that 99.9% of their analyzed meals were suitable to the legislation and one positive *Salmonella* spp. was detected in roast chicken with recorded 35 °C holding temperature. Besides, *E. coli* was also detected in the same sample including coliform count was found higher than the standard allowed level (1.7×10^3 CFU/g). Rodriez et al.(2011) were reported that neither *Listeria* spp. nor *Salmonella* spp. were detected in any food samples and prevalence of *E. coli* was found low (3%) in their study which was evaluated microbiological quality of Chilled Ready-To-Eat

(RTE) foods (lettuce, salads and cooked hum) in different five hospital catering services established Southern Spain.

The limitation of our study is that microbiological analyzing of utensils-equipments used for preparation or serving of the dishes and microbiological analyses of the hands of catering staff as well as the food processing environment could be in suffer. However, our results were evidence of the performance of a primitive HACCP system.

Finally, HACCP system implementation has beneficial effects on catering establishment such as control mechanisms of prepared/cooked foods, recording practices and importance on the microbial quality of the foods, regular education, and awareness about food safety required for catering personnel as well as the hygienic quality of prepared foods. Besides, analyzing more parameters related to food safety can provide proactive implications for guaranteeing the hygienic quality of prepared foods in healthcare settings.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to acknowledge the food businesses and employees who agreed to participate in this study.

REFERENCES

- Adikari, A.M.N.T., Rizana, M. F., Amarasekara, T.P. (2016). Food safety practices in a teaching hospital in Sri Lanka. *Procedia food sci*, 6: 65-67.
- Al Yousuf, M., Taylor, E., Taylor, J. (2015). Developing a government strategy to meet international standards of food safety across the hospitality industry. *Worldwide Hosp Tour Them*, 7(1):4-16.
- Anonymous (2011): Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği: Resmi Gazete, Sayı: 28157(3 mükerrer), 29/12/2011, Ankara.
- Anonymous (2013): Hijyen Eğitimi Yönetmeliği: Resmi Gazete, Sayı: 28698, Tarih; 5 Temmuz, Ankara.
- CAC (2003). Recommended International Code of Practice, General Principles of Food Hygiene, CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003 in Codex Alimentarius Commission Food Hygiene Basic Texts, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, Rome.
- Chaoniruthisai, P., Punnakitikashem, P., Rajchamaha, K. (2018). Challenges and difficulties in the implementation of a food safety management system in Thailand: A survey of BRC certified food productions. *Food Control*, 93:274-282.
- EC (2004): Regulation (EC) No.852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. Official Journal of the European Union, L226/3, 25 June.
- EFSA (2005). Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs, Official Journal of the European Union, L 338.
- EFSA and ECDC (2013): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. *EFSA J*, 11(4): 3129- 250.
- EFSA and ECDC. (2015): The European Union Summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and Food-borne outbreaks in 2013, European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control, *EFSA J*, 13(1):1-162.
- FAO/WHO (2006). FAO/WHO guidance to governments on the application of HACCP in small and/or less-developed food businesses. *FAO Food and Nutrition Paper*, 86. Rome.
- Fielding, L., Ellis, L., Clayton, D., Peters, A. (2011). An evaluation of process-specific information resources, aimed at hazard analysis, in Small and Medium Enterprises in food manufacturing. *Food Control*, 22(8):1171-1177.
- FSA (2004). Cook Safe. Aberdeen: *FSA Scotland*: p. 1-107.
- Garayoa, R., Vitas, A.I., Díez-Leturia, M., García-Jalón, I. (2011). Food safety and the contract catering companies: Food handlers, facilities and HACCP evaluation. *Food Control*, 22(12):2006-2012.
- Garayoa, A.I.R., Y´anez, N., D´iez-Leturia, M., Bes-Rastrollo, M., Vitas A.I. (2016). Evaluation of Prerequisite Programs Implementation and Hygiene Practices at Social Food Services through Audits and Microbiological Surveillance. *J Food Sci*, Vol. (81): Nr. 4.
- Hassan, K. and ElBagoury, M. (2018). The Domestic Kitchen-The'Front Line in the Battle Against Foodborne Disease'. *J Pure Appl Microbiol*, 12(1):181-188.
- ICMSF (2002). Microorganisms in foods 7. Microbiological testing in food safety management. New York: *Kluwer Academic/Plenum Publishers*: p.167-169.
- Irigoyen, A. and Garcia-Jalon, I. (1992). Hygienic study and critical control points determination in collective dining halls. *Alimentaria* (Spain).
- Lund, B.M. (2018). Provision of microbiologically safe food for vulnerable people. *Food Control*, 96(2):535-547.
- Maguire, H., Pharoah, P., Walsh, B., Davison, C., Barrie, D., Threlfall, E.J., Chambers, S. (2000). Hospital outbreak of *Salmonella virchow* possibly associated with a food handler. *J Hosp Infect*, 44(4): 261-266.

- Özdamar, K. (1999). Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. *Kaan Kitabevi*, Eskişehir, Türkiye, 535s.
- Petruzzelli, A., Osimani, A., Tavoletti, S., Clementi, F., Vetrano, V., Di Lullo, S., Luchetti, T. (2018). Microbiological quality assessment of meals and work surfaces in a school-deferred catering system. *Int J Hosp Manag*, 68:105-114.
- Rodríguez, M., Valero, A., Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., Posada, G.D., Zurera, G. (2011). Hygienic conditions and microbiological status of chilled Ready-To-Eat products served in Southern Spanish hospitals. *Food Control*, 22(6): 874-882.
- Salazar, J., Ashraf, H.R., Tchong, M., Antun, J. (2006). Foodservice employee satisfaction and motivation and the relationship with learning food safety. *J Culinary Sci Technol*, 4(2-3):93-108.
- Schaffner, D.W., Green Brown, L., Ripley, D., Reimann, D., Koktavy, N., Blade, H., Nicholas, D. (2005). Quantitative data analysis to determine best food cooling practices in U.S. restaurants. *J Food Prot*, 78:778–783.
- Spearing, N.M., Jensen, A., McCall, B.J., Neill, A.S., & McCormack, J.G. (2000). Direct costs associated with a nosocomial outbreak of Salmonella infection: an ounce of prevention is worth a pound of cure. *Am J Infect Control*, 28(1): 54-57.
- Taormina, P.J. (2010). Implications of salt and sodium reduction on microbial food safety. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 50(3):209-227.
- UK (1989). Chilled and Frozen. Guidelines on cook-chill and cook-freeze catering systems. London, HMSO.
- Wall, P.G., Overview In: Lund, B.M, Hunter, P.R., (2008). The microbiological safety of food in healthcare settings. Oxford: Blackwell, p. 1-11,
- Zanin, L.M., da Cunha, D.T., de Rosso, V.V., Capriles, V.D., Stedefeldt, E. (2017). Knowledge, attitudes and practices of food handlers in food safety: An integrative review. *Food Res Int*, 100:53-62.

PROBİYOTİK KÜLTÜRLERLE FERMENTE KARPUZ SUYU ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Sevim Öztürk Oruç^{1*}, İbrahim Çakır²

¹Bolu Tarım ve Orman Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şubesi, Bolu, Türkiye

²Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 26.08.2019; Kabul / Accepted: 17.10.2019; Online baskı / Published online: 02.11.2019

Öztürk Oruç, S., Çakır, İ. (2019). Probiyotik kültürlerle fermente karpuz suyu üretimi üzerine bir araştırma. *GIDA* (2019) 44 (6): 1030-1041 doi: 10.15237/gida.GD19124.

Öztürk Oruç, S., Çakır, İ. (2019). A research on production of fermented watermelon juice by probiotic culture. *GIDA* (2019) 44 (6): 1030-1041 doi: 10.15237/gida.GD19124.

ÖZ

Bu çalışmada taze sıkılmış karpuz suyunun probiyotik özellikleri bilinen *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b ve *Lactobacillus plantarum* ile fermente edilerek karpuz suyu üretimi amaçlanmıştır. Karpuz suları, bakteri kültürleri inoküle edildikten sonra 37 °C'de 18 saat fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon süresince örneklerde, toplam laktik asit bakterisi (LAB) sayımı, titrasyon asitliği, pH ve suda çözünür kuru madde analizleri yapılmıştır. Ayrıca, fermantasyonun başında ve sonunda toplam fenolik madde içeriği, toplam antioksidan aktivite, şeker miktarı analizleri ile birlikte, son ürünlerde duyu analizi gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, LAB sayılarının tüm örneklerde önemli ölçüde arttığı, en yüksek sayının 10.0 log kob/mL ile *Lb. plantarum* ile fermente edilen örnekte olduğu belirlenmiştir. Fermantasyon işlemiyle birlikte tüm içeceklerde fenolik madde miktarı (151.86-201.94 mg kateşin eşdeğeri/L) ve toplam antioksidan aktivite değerleri (4.60-7.53 µmol Trolox Eşdeğeri (TE)/100 g) artış göstermiştir. Duyusal analizlerde en çok beğenilen ürün *Lb. plantarum* ile üretilen karpuz suyu olmuştur. Diğer tüm örneklerde genel beğeni düzeyi fermantasyondan sonra önemli ölçüde azalmıştır.

Anahtar kelimeler: Fermente karpuz suyu, laktik asit fermantasyonu, LAB, *Lb. plantarum*, probiyotik

A RESEARCH ON PRODUCTION OF FERMENTED WATERMELON JUICE BY PROBIOTIC CULTURE

ABSTRACT

The aim of this study was to produce fermented watermelon juice by inoculating *Lactobacillus helveticus* NRRL B-4526 standard strain, *Lactobacillus acidophilus* KPb4b and *Lactobacillus plantarum* lactic acid bacteria (LAB), which are known to have probiotic properties in freshly squeezed watermelon juice. Freshly-squeezed watermelon juice inoculated by lactic acid bacteria was left for fermentation for 18 hours at 37 °C. During the fermentation period, total viable LAB, titratable acidity, pH and soluble solid content were analysed in the samples. In addition, chemical (total phenolic compounds, total antioxidant activity and sugar) and sensory analyses were performed on samples at the beginning and end of the fermentation. Findings of research showed that the number of LAB increased significantly in all samples and the highest number with 10.0 log cfu/mL was found in the sample fermented by *Lb. plantarum*. The amount of phenolic compounds (151.86-201.94 mg catechin equivalent/L) and total antioxidant activity (4.60-7.53 µmol Trolox Equivalent (TE)/100 g) in all beverages increased with fermentation process. In sensory analysis, the most preferred watermelon juice was the sample produced by *Lb. plantarum*. In all other examples, the level of general appreciation decreased significantly after fermentation.

Keywords: Watermelon juice, lactic acid fermentation, LAB, *Lb. plantarum*, probiotic

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉ sevimozturk78@gmail.com

☎ (+90) 374 254 1000 / 4848

☎ (+90) 374 253 4945

GİRİŞ

Probiyotikler yeterli miktarda tüketilmeleri halinde konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler yaratan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO 2001; Çakır 2003; Gueimonde ve Salminen 2006). Bazı bireylerin beslenme tercihlerinden dolayı hayvansal ürünleri tüketmemesi, süt proteinlerinin alerjik etkileri ve laktozun bazı bireyler tarafından tolere edilememesi gibi nedenler süt ürünleri dışındaki fonksiyonel ürünlere eğilimi arttırmıştır. Özellikle fonksiyonel içecekler, cazip tadı, sağlık üzerindeki olumlu etkileri sayesinde tüm yaş gruplarına hitap etmektedir (Prado vd., 2008; Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; Perricone vd., 2015; Shaikh Uzma vd., 2018).

Karpuz, Afrika, Asya ve Akdeniz'in sıcak bölgelerinde yetişen ve *Cucurbitaceae* familyasına giren *Citrullus* cinsi bir meyvedir. Başta Ege bölgesi olmak üzere ülkemizin tüm bölgelerinde yetiştirilmekte olan karpuzun üretim kapasitesi yıllık 3.5 milyon ton civarındadır (Karipçin, 2009). Karpuz, vitamin (A, B, C ve E) ve mineral (K, Mg, Ca ve Fe) içeriğinin yüksek olması ve bazı spesifik aminoasitleri (sitrullin, arjinin) barındırmasının yanında, karotenoidler, fenolik bileşikler ve antioksidanlar yönünden de oldukça zengindir (Tlili vd., 2010; Rawson vd., 2011). Karbonhidrat içeriği %7'ye yakın olup, %91'den fazlası sudur (Jayaprakasha vd., 2011). Sayılan tüm bu özellikleri sebebiyle karpuzun bakteri ve mayaların gelişimi için uygun bir substrat olabileceği düşünülmüş, karpuz suyunun fermantasyonu üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır. Karpuz suyunun fermantasyonu üzerine literatürde göze çarpan ilk çalışma Koreli bilimcilere aittir. Shin vd. (1978) tarafından gerçekleştirilen ve karpuz suyunun ısl işlem ve fermantasyona tabi tutularak muhafazası ile ilgili bir çalışmada, karpuzdan elde edilen meyve suyu oranının % 56.2 olduğu, pulpun 24 saat bekleme sonunda kolaylıkla ayrılabilirdiği, 100 °C'de 5 dakika ısıtmanın ürünün tadını önemli seviyede değiştirmedeği ve pastörize karpuz suyunun laktik asit fermantasyonu ile elde edilen içeceğe göre daha çok tercih edilebilir olduğu belirlenmiştir (Shin vd., 1978; Fenercioğlu, 1993). Bir diğer çalışmada ise kavun ve karpuz suları çay mantarı

olarak ifade edilen ve asetik asit bakterileri ile mayaları barındıran Kombucha ile fermente edilmiş ve fermantasyon sonrası ortaya çıkan ürünlerin biyolojik aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuçlara göre, karpuz suyunun Kombucha ile fermantasyonu sonucunda antioksidan aktivitenin fermantasyonun ilk gününden itibaren 7. güne kadar arttığı, 7. günden itibaren ise azaldığı gösterilmiştir (Kubilay, 2014). Karpuz suyunun LAB'ları ile fermantasyonu üzerine yapılan çalışmalardan birinde Chen vd. (2016), karpuz suyunu *Lb. acidophilus* ve *Lb. plantarum* bakterileri ile fermente etmiş ve fermente karpuz suyu ile kontrol olarak kullanılan taze sıkılmış karpuz suyunun uçucu aroma maddelerini karşılaştırmıştır. Araştırma sonucunda 29 alkol, 19 aldehit, 13 keton, 22 asit, 11 hidrokarbon, 17 ester ve 13 başka tür içeren toplam 124 uçucu lezzet maddesi izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Hem taze sıkılmış hem de fermente karpuz sularında alkollerin temel aroma maddeleri olduğu, ortamdaki asitlerin fermantasyonla birlikte artış gösterdiği ve fermantasyonun son aşamasında aromada etkin hale geldikleri gösterilmiştir. Ayrıca *Lb. acidophilus* ile fermente edilen karpuz suyunda güçlü keskin kokulu bazı maddelerin daha sonraki aşamalarda üretildiği, bu nedenle optimum fermantasyon süresinin (24 saat civarı) iyi ayarlanması gerektiği belirtilmiştir (Chen vd., 2016). Son yıllarda yapılan bir diğer çalışmada ise, inülin ve früktooligosakkarit ilave edilen ve edilmeyen karpuz suları *Lb. plantarum* ile 37 °C'de 6 saat fermantasyona tabi tutulmuş ve probiyotik bir içecek üretimi amaçlanmıştır. Karpuz suları fermantasyondan önce 80 °C'de 40 saniye pastörize edilmiştir. Elde edilen içeceğin 4 °C'de 2 haftalık depolanması sonucunda ürünün fizikokimyasal özellikleri ve *Lb. plantarum* sayısındaki değişiklikler incelenmiştir. Bulgular 2 haftaya kadar olan depolama sürecinde inülin ve früktooligosakkarit ilave edilen ve edilmeyen fermente karpuz sularının her ikisinde de *Lb. plantarum* bakterisinin 11 log kob/mL düzeyinde canlılığını koruyabildiğini göstermiştir (Amanda ve Choo, 2018).

Karpuz suyunun fermantasyonu üzerine sınırlı sayıda yapılan çalışmalar ve elde edilen bulgular değerlendirildiğinde fermente karpuz sularının

farklı özelliklerinin araştırıldığı görülmüştür. Konuyla ilgili yapılan araştırma sayısının azlığı ve birbirini destekleyecek bulguların yetersizliği sebebiyle bu çalışmada karpuz suyunun laktik asit fermentasyonu sonucunda bazı kimyasal ve duyuşal özelliklerdeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada kullanılan *Lb. helveticus* NRRL B-4526 standart suşu ve *Lb. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* yerel suşları Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı kültür koleksiyonundan, karpuzlar ise Bolu merkezinde bulunan bir manavdan temin edilmiştir.

Yöntem

Karpuz suyunun hazırlanması ve fermentasyonu

Karpuzlar dış kısımları iyice yıkandıktan sonra, steril alet-ekipman yardımıyla kesilip, kabuk ve çekirdekleri uzaklaştırılmış ve katı meyve sıkacağı (Arzum Aspira AR113, Türkiye) ile sıkılarak karpuz suyu elde edilmiştir. Elde edilen karpuz suları, meyve etinden gelen lifli parçacıkların uzaklaştırılması için ince bir süzgeçten geçirilerek süzölmüştür. Tüm örneklerin aynı içerik ve özelliklerde olmasını sağlamak amacıyla karpuz suları, steril cam kavanozda karıştırılmış ve 1'er litrelik steril cam şişelere alınmıştır. Kullanılan kültürler, stoktan ardışık 2 kez pasaj yapıldıktan sonra her birinden 2 mL alınarak 50 mL *Lactobacilli* MRS Broth (Difco, ABD) besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Kültürler 37°C'de 48 saatlik inkübasyonun ardından 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Sigma 2-16 K, Almanya) edilerek pelet haline getirilmiştir. Peletler, 0,1 fosfat tamponu ile yıkama işleminden sonra karpuz sularına ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Ardından karpuz suları 37°C'de 18 saatlik fermentasyona bırakılmıştır. Denemelerde kontrol olarak kültür eklenmemiş karpuz suyu kullanılmıştır. Denemeler, 2 tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Fermentasyonun 0., 3., 6., 12. ve 18. saatlerinde karpuz sularında toplam canlı LAB sayısı, titrasyon asitliği, pH ve suda çözünür kuru madde tayinleri yapılmıştır. Fermentasyon başında ve

sonunda alınan örnekler duyuşal analizler için 4 °C'de depolanmıştır. Örneklerin bir kısmı ise daha sonraki kimyasal analizler (toplam fenolik madde, toplam antioksidan aktivite ve şeker miktarı) için derin dondurucuda -18 °C'de saklanmıştır.

Toplam LAB analizi

LAB sayımı için klasik yayma kültür yöntemi kullanılmıştır. Analiz için aseptik koşullarda örneklerden 1'er mL alınmış ve 9 mL %0.85'lik steril MRD (Maximum Recovery Diluent; Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılarak gerektiği kadar seyreltilmiştir. Daha sonra seyreltilmiş örnek (0.1 mL), Lactobacilli MRS Agar (Difco, ABD) üzerine yayma yöntemi ile yayılmış ve inkübatörde 37 °C'de 3-4 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayılmıştır.

Kuru madde, pH, asit ve şeker analizleri

Örneklerin suda çözünür kuru madde değerleri el tipi refraktometreyle ölçölmüş °Brix olarak okunmuştur. Karpuz suyunda pH ölçümleri pH metre (pH-2005, Selecta, İspanya) kullanılarak yapılmıştır. Asit tayininde 40 mL örnek alınarak pH değeri 8.1'e ulaşınca kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Karpuz sularının şeker analizleri, HPLC (Shimadzu, Japonya) cihazında TS 13359 (2008) standarda uygun olarak gerçekleştirilmiştir. GL Sciences marka, Inertsil NH₂ özelliğinde, 5 µm çapında, 4.6x250 mm boyutlarında ve 30 °C sıcaklığında kolon ve 1.3 mL/dk hızında %80'lik asetonitril/su karışımı mobil faz kullanılmıştır.

Toplam fenolik madde analizi

Toplam fenolik madde miktarı ölçümü Folin-Ciocalteu kolorimetrik metoduna göre yapılmıştır. Oda sıcaklığında çözöndürölen karpuz suyundan 1 mL alınarak bir behere konulmuş ve üzerine 3 mL saf su eklenerek karpuz suyu seyreltilmiştir. Ardından seyreltilmiş karpuz suyundan 0.5 mL alınmış ve bir tüpe konulmuştur. Üzerine önce 7 mL saf su, ardından 0.5 mL folin ayırıcı konulmuş ve 3 dakika beklendikten sonra %20'lik Na₂CO₃ çözöltisinden 2 mL eklenerek tüp çalkalanmıştır. Tüpler 25 °C'de 1 saat bekletildikten sonra spektrofotometrede (UV-1800, Shimadzu, Japonya) 720 nm'de okuma yapılmıştır. Sonuçlar mg kateşin eşdeğeri/L cinsinden hesaplanmıştır (Erge, 2007).

Antioksidan aktivite analizi

Antioksidan aktivite ölçümü TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) metoduna göre yapılmıştır. Örneğin analize hazırlanması için Shahidi vd. (2001) tarafından önerilen yöntemde modifikasyon yapılmıştır. Analizde, %1'lik konsantrite hidroklorik asit içeren %70'lik aseton çözeltisi yerine %70'lik metanol çözeltisi kullanılmış olup, homojenizasyon süresi 1 dakikaya, santrifüj süresi ise 10 dakikaya kısaltılmıştır. Yöntemde, 1 mL ABTS*+ radikal çözeltisi üzerine, hazırlanmış olan örnekten 30 µL karıştırılmakta ve 734 nm dalga boyunda okunan absorbans değerindeki azalma 6 dakika boyunca ölçülmektedir. Radikalin indirgenmesi absorbans değerinin yüzde inhibisyonu olarak ifade edilmektedir. Bu yöntemde; 1 g/L konsantrasyonundaki antioksidan bileşik ile aynı inhibisyon yüzdesini veren Troloks'un konsantrasyonu (µmol/L) hesaplanmaktadır. Karpuz sularının antioksidan aktivite sonuçları µmol TE/100g cinsinden ifade edilmiştir (Erge, 2007).

Duyusal analizler

Duyusal analizler renk, koku, tat ve genel beğeni kriterlerine göre 8 adet panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon başlangıcında ve sonunda alınan örnekler beğeni derecesine göre puanlandırılmıştır. Puanlama aralığı 1-5 (1-Çok kötü, 2-Kötü, 3-Orta, 4-İyi, 5-Çok iyi) olarak belirlenmiştir (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2011).

İstatistiksel analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde, normal dağılan iki gruplu karşılaştırmalar için *t* testi, normal dağılmayan iki gruplu karşılaştırmalarda ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İki'den fazla gruplu karşılaştırmalar için Anova (normal dağılan verilerde) ve Kruskal-Wallis (normal dağılmayan veriler) testleri kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda, farklı grupların belirlenmesi için Tukey ve Tamhane's T2 testleri yapılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite arasındaki korelasyon ise Pearson korelasyon testi ile incelenmiştir. İstatistiksel analizlerde SPSS 16.00 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Fermantasyon Süresince Laktik Asit Bakterilerinin Değişimi**

Fermantasyonun 0. 3. 6. 12. ve 18. saatlerinde fermente karpuz suyunda bulunan toplam LAB sayıları Çizelge 1'de verilmiştir. Başlangıç inokülasyonları sırasıyla 7.3, 6.4 ve 7.4 log kob/mL olan *Lb. helveticus* B4526, *Lb. acidophilus* KPb4b ve *Lb. plantarum* kültürlerinin sayısı 37 °C'de 18 saatlik fermantasyon sonucunda 9.7, 9.0 ve 10.0 log kob/mL olmuş ve bakteri sayıları önemli ölçüde artmıştır (P <0.05). Probiyotikler, fermente olabilir nitelikteki şekerleri kullanarak, bir yandan laktik asit, etanol, CO₂ gibi metabolitler üretmekte ve ortamın bileşimini değiştirmekte, bir yandan da gelişerek sayılarını arttırmaktadır (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; Pereira vd., 2011). Amanda ve Choo (2018), *Lb. plantarum* bakterisinin herhangi bir besin ilavesi veya pH ayarlamasına gerek olmadan karpuz suyunda iyi bir gelişim gösterdiğini ortaya koymuştur. Başlangıçta yaklaşık 7.5 log kob/mL olarak inoküle eden probiyotik bakteri sayısı 37 °C'de 6 saatlik fermantasyondan sonra 9.35±0.68 log kob/mL sayısına ulaşmış ve önemli ölçüde artış göstermiştir (P <0.05).

Amanda ve Choo (2018), çalışmalarında karpuz suyunda *Lb. plantarum* bakterisinin 37 °C'de anaerobik koşullardaki gelişim kurvesini ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, araştırmamızla benzerlik göstermektedir. *Lb. plantarum* bakterileri karpuz suyunda 37 °C'de iyi bir gelişim ortaya koymaktadır. Kontrol örneğinde meydana gelen önemli ölçüdeki (P <0.05) artışın sebebi olarak MRS agarda gelişebilen ve karpuz suyunun doğasından gelen LAB ve mayalar olduğu düşünülmüştür. Bilindiği üzere sebze ve meyveler *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. xylosus* ve *Lb. sakei* gibi pek çok LAB'ı doğal olarak bünyelerinde bulundurmaktadır (Di Cagno vd 2009; Pereira vd., 2011). Ayrıca karpuzun mayaların fermantasyonuna ve gelişimine uygun bir substrat olduğu gösterilmiştir (Kubilay, 2014). Amanda ve Choo (2018), fermantasyondan önce karpuz suyuna 80 °C'de 40 s ısıtma işlemi uygulamış ve meyvenin doğasından gelen bakteri ve mayalar uzaklaştırılmıştır. Isıtma işlemi karpuz suyunda

mikrobiyel inaktivasyon amacıyla kullanılması mümkündür. Ancak yapılan çalışmalar, karpuz sulamının tat ve aromasının bu uygulamadan hissedilir derecede olumsuz etkilendiğini

göstermektedir (Hayaloğlu ve Fenercioğlu 1990). Ayrıca ısı işlem, karpuz suyunun renk ve besin değerlerini de olumsuz etkilemektedir (Aguiló-Aguayo vd., 2009).

Çizelge 1. Karpuz suyunda toplam LAB sayısının fermantasyon süresince değişimi
Table 1. Variation of total LAB number in watermelon juice during fermentation

Süre Time	Toplam LAB Sayısı (log kob/mL) Total LAB Number (log cfu/mL)			Kontrol Örneği Control Sample
	<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. plantarum</i>	
0. saat 0 hours	7.3±0.6 ^{a,A}	6.4±1.3 ^{a,A}	7.4±0.64 ^{a,A}	2.2±0.3 ^{b,A}
3. saat 3 hours	7.6±0.6 ^{a,A}	6.6±1.52 ^{a,b,A}	8.6±0.32 ^{a,B,C,D}	2.9±0.47 ^{b,A,B}
6. saat 6 hours	8.4±0.33 ^{a,B}	7.6±0.96 ^{a,A}	9.3±0.35 ^{a,C,D,E}	4.8±0.75 ^{b,B,D}
12. saat 12 hours	9.1±0.2 ^{a,C,D}	9.0±0.42 ^{a,B}	9.5±0.61 ^{a,D,E}	7.4±1.42 ^{b,D,E}
18. saat 18 hours	9.7±0.4 ^{a,D}	9.0±0.32 ^{b,B}	10.0±0.87 ^{a,E}	9.0±0.19 ^{b,E}

P < 0.05 seviyesinde önemli.

P < 0.05 significant.

^{a,b,c} Aynı satırda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (P < 0.05)

^{a,b,c} Differences between the values shown in different lower case letters on the same line are statistically significant (P < 0.05)

^{A,B,C} Aynı sütunda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (P < 0.05)

^{A,B,C} Differences between the values shown in different capital letters on the same column are statistically significant (P < 0.05)

Lb. acidophilus KPb4b suşunun gelişimine bakıldığında başlangıçta 6.4 log kob/mL olan inokülasyon sayısının ilk üç saat boyunca önemli bir değişiklik göstermediği (P < 0.05) belirlenmiştir. 3. saatten sonra kültür çoğalma fazına geçmiş ve 12. saate kadar artarak 9.0 log kob/mL olmuştur. Ancak daha sonraki 6 saatlik dilimde kültürde herhangi bir artış olmamış durma fazına geçen kültürün sayısı 18. saat sonunda gene 9.0 log kob/mL olarak bulunmuştur. Fermantasyonun sonlandırıldığı anda hücreler ölüm fazında olduğundan bu durum, son üründe depolama ve raf ömrü boyunca probiyotiklerin canlı kalma süresinin kısalmaya anlamına gelmektedir. Bu açıdan *Lb. acidophilus* KPb4b içeren karpuz suyu fermantasyonun 12. saat sonunda sonlandırılması bakteri sayısı açısından ideal gibi gözükse de, bu süre sonunda pH değeri

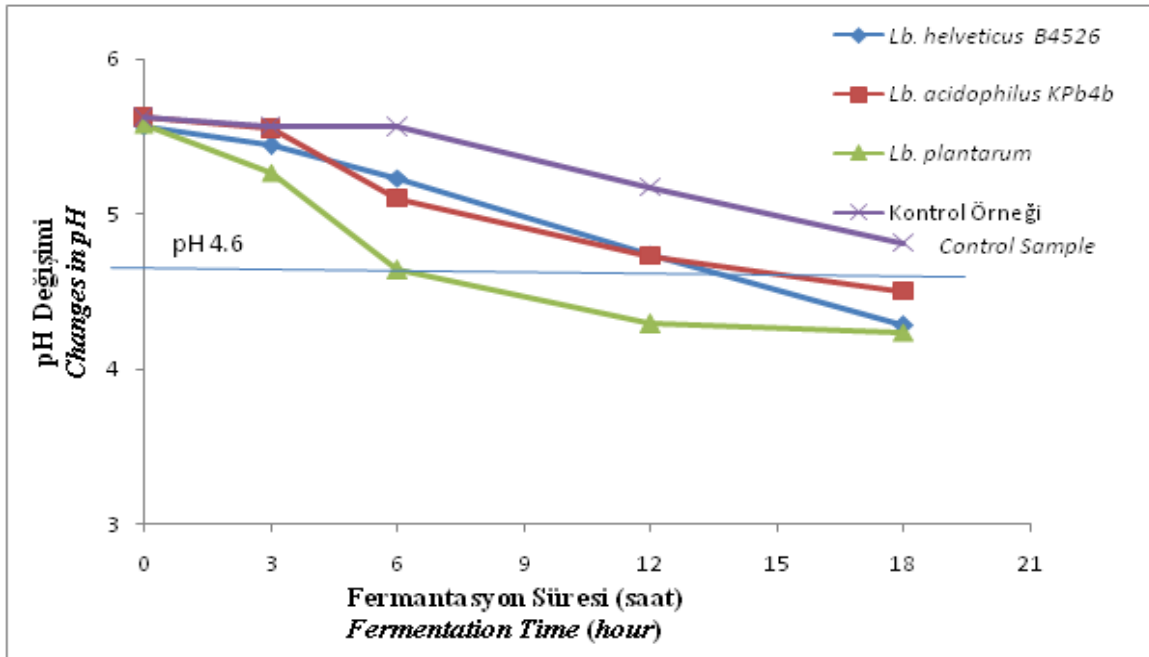
(4.73) henüz güvenilir sınır olan 4.6'nın altına düşmemiş olduğundan fermantasyona bir süre daha devam edilmesi gerekmektedir. *Lb. helveticus* NRRL B-4526 bakterisinin karpuz suyundaki gelişimi incelendiğinde ise, *Lb. helveticus* NRRL B-4526 başlangıç inokülasyonu (7.3 log kob/mL) ile 3. saat (7.6 log kob/mL) ve 6. saat sonundaki (8.4 log kob/mL) bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür (P < 0.05). Bakteri sayısı 12. saat sonunda 9.1 log kob/mL, 18. saat sonunda ise 9.7 log kob/mL olmuştur. Fermantasyon tamamlanmadan hemen önce *Lb. helveticus* NRRL B-4526 bakterisinin de çoğalma hızının azaldığı, ancak çoğalmanın devam ettiği sonucu ortaya çıkmıştır. Bu durum, son üründe bulunan probiyotiklerin fermantasyon sonrasında canlılığını daha uzun sürdürmesi ve raf ömrü süresinin artması açısından önem

taşımaktadır. Çünkü durma fazında hücreler biriken metabolitlerden ve yüksek asitlikten zarar görmektedir (Çakmakçı vd., 2011).

Fermentasyon Süresince pH ve Titrasyon Asitliği Değişimi

Çalışmada kullanılan karpuz sularının ilk pH'ları birbirine oldukça yakın olup, 5.57-5.62 arasında değişmektedir. Elde edilen değerler literatürle (5.86 ± 0.52) uyumludur (Amanda ve Choo, 2018). Karpuz sularının fermentasyonu sırasında probiyotik suşlar, şekerleri kullanarak başta laktik asit olmak üzere organik asitler üretmektedir. Bu durum örneklerdeki titrasyon asitliğinin artmasına neden olurken, artan hidrojen konsantrasyonu nedeniyle pH, fermentasyon boyunca giderek düşmektedir. Fermente ürünlerde pH'nın düşüşü, patojenlerin ve bozulma yapan bakterilerin gelişiminin engellenmesi amacıyla büyük önem

taşımaktadır (Sheehan vd., 2007; Liu vd., 2011). Bu nedenle pH değeri güvenli olarak kabul edilen 4.6 değerinin altına düşene kadar fermentasyonun sürdürülmesi gerekmektedir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro 2010). Şekil 1'de gösterildiği üzere, kontrol örneği dışında tüm karpuz sularında 18. saat sonundaki pH değerleri güvenli sınır olan 4.6 değerinin altına düşmüştür. Fermentasyon sonunda pH değeri en düşük olan karpuz suyunun (4.24 ± 0.28) *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş karpuz suyu olduğu görülmüştür. Amanda ve Choo (2018), araştırmalarında karpuz suyunun *Lb. plantarum* ile 6 saatlik fermentasyonu sonucunda pH değerini 4.53 ± 0.06 bulmuştur (Amanda ve Choo, 2018). Bu değer, *Lb. plantarum* ile gerçekleştirilen fermentasyonun 6. saatinde ölçülen değerle (4.64 ± 0.20) oldukça yakındır.



Şekil 1. Fermentasyon süresince örneklerin pH değerinde meydana gelen değişim

Figure 1. Changes in pH value of samples during fermentation

Karpuz sularının fermentasyonu süresince pH düşerken, toplam titrasyon asidi miktarı artmıştır. Fermentasyonun başında örneklerin laktik asit cinsinden toplam asit miktarı birbirine oldukça yakın olup 0.66-0.69 g/L aralığında değişmektedir. Fermentasyon sonunda en fazla titrasyon asidi

içeren örneğin 3.30 ± 0.12 g/L ile *Lb. helveticus* NRRL B-4526 ile inoküle edilen örnek olduğu tespit edilmiştir. Bu örneği sırasıyla *Lb. plantarum* (3.02 ± 0.25 g/L) ve *Lb. acidophilus* KPb4b (2.90 ± 0.30 g/L) ile fermente edilen örnekler izlemiştir.

Şeker ve Suda Çözünür Kuru Madde Sonuçları

Karpuz sularının başlangıç suda çözünür kuru madde içeriği 7.50-7.60 °Brix arasında değişirken, fermantasyon süresince tüm örneklerin suda çözünür kuru madde içeriklerinde azalma meydana gelmiştir. Fermantasyon sonunda suda çözünür kuru madde içeriği en çok azalan örnek *Lb. plantarum* eklenmiş olan, en az azalan ise kontrol örneği olmuştur. 18. saat sonunda *Lb. plantarum* eklenmiş olan örnekte suda çözünür kuru madde içeriği 6.45 ± 0.73 °Brix değerine kadar düşmüştür. Karpuzun suda çözünür kuru madde içeriğini bünyesinde bulundurduğu şekerler, organik asitler, vitamin ve mineral gibi minör bileşenler oluşturmaktadır. Fermantasyon sırasında ortamda bulunan fermente olabilir şekerler LAB'lar tarafından kullanılmakta, bulunan şekerlerin miktarının azalması sebebiyle

ortamın suda çözünür kuru madde içeriğinde de azalma meydana gelmektedir. Çizelge 2'de verildiği üzere fermantasyon başlangıcında ve sonunda örnekler arasında glukoz, sakaroz ve früktoz miktarları yönünden ciddi farklılıklar yoktur. Fermantasyon sırasında örneklerde bulunan glukoz ve sakaroz miktarlarında azalma görülürken, früktoz miktarı artış göstermiştir. Sakaroz, bakteriler tarafından doğrudan kullanılmadığı için öncelikle kendisini oluşturan glukoz ve früktoz şekerlerine parçalanmakta, daha sonra açığa çıkan glukoz bakteriler tarafından kullanılmaktadır. Früktoz da sakaroz gibi bakterilerin doğrudan kullanmadığı bir şekerdir, bu nedenle sakarozun parçalanması ile birlikte karpuz suyunda bulunan früktoz miktarı da artış göstermiştir. Glukoz ve sakaroz içeriği en fazla azalan örnek *Lb. plantarum* içeren örnek olmuştur.

Çizelge 2. Fermantasyon başlangıcında ve sonunda örneklerde bulunan şeker miktarı

Table 2. Sugar amount of samples at the beginning and end of fermentation

Örnekler Samples	Şeker Miktarı (g/100 g karpuz suyu) Sugar Amount (g/100 g watermelon juice)					
	Glukoz Glucose		Sakkaroz Saccharose		Früktoz Fructose	
	0. saat 0 hours	18. saat 18 hours	0. saat 0 hours	18. saat 18 hours	0. saat 0 hours	18. saat 18 hours
<i>Lb. helveticus</i>	1.00±0.00	0.90±0.14	3.00±0.71	2.35±0.64	2.45±0.07	2.60±0.14
<i>Lb. acidophilus</i>	0.95±0.07	0.85±0.07	2.95±0.78	2.40±0.42	2.45±0.07	2.65±0.07
<i>Lb. plantarum</i>	0.95±0.07	0.75±0.07	3.05±0.64	2.25±0.49	2.45±0.07	2.60±0.14
Kontrol Örneği Control Sample	0.90±0.00	0.85±0.00	3.05±0.64	2.35±0.35	2.40±0.14	2.50±0.00

Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Toplam Antioksidan Aktivite Sonuçları

Karpuz sularında toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu kolorimetrik metoduna göre yapılmış ve sonuçlar kateşin eşdeğeri cinsinden mg/L olarak verilmiştir. Çizelge 3'te de görüldüğü gibi fermantasyon başlangıcında örneklerin toplam fenolik madde miktarı 133.86 ± 8.11 ile 137.04 ± 7.74 mg kateşin eşdeğeri/L arasında değişmekte olup, örnekler arasında toplam fenolik madde miktarı yönünden önemli bir farklılık yoktur ($P < 0.05$). Fermantasyon sonunda ise,

örneklerin toplam fenolik madde miktarı, başlangıç değerine oranla önemli ölçüde artış göstermiştir ($P < 0.05$). En fazla artış *Lb. plantarum* ile fermente edilen karpuz suyunda (201.94 ± 4.52 mg kateşin eşdeğeri/L) gerçekleşirken, kontrol örneğinde meydana gelen artışın istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği görülmüştür ($P < 0.05$). Toplam fenolik madde miktarının fermantasyonla birlikte artması, LAB'ların faaliyetleri ile ilişkilendirilebilir. Literatürde fenolik öncül maddesi olan maddelerin fermantasyon sırasında meydana gelen bir takım

değişikliklerle birlikte fenolik maddelere dönüştüğü bildirilmektedir. LAB tarafından üretilen β-D-glukozidaz enziminin şekerlerle bağlı

formdaki fenolik glukozidleri serbest fenolik asitlere dönüştürdüğü bilinmektedir (Martins vd., 2011).

Çizelge 3. Karpuz suyunda fermantasyon süresince toplam fenolik madde miktarındaki değişim
Table 3. Changes in total phenolic content in watermelon juice during fermentation

Örnekler Samples	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg kateşin eşdeğeri/L karpuz suyu) Total Amount of Phenolic Substance (mg Catechin Equivalent /L watermelon juice)	
	Fermantasyon Başlangıcı Beginning of Fermentation	Fermantasyon Sonu End of Fermentation
<i>Lb. helveticus</i>	136.47±3.71 ^{a,A}	171.94±9.08 ^{a,B}
<i>Lb. acidophilus</i>	133.86±8.11 ^{a,A}	174.82±4.37 ^{a,B}
<i>Lb. plantarum</i>	137.04±7.74 ^{a,A}	201.94±4.52 ^{b,B}
Kontrol Örneği Control Sample	135.59±5.37 ^{a,A}	151.86±1.08 ^{a,A}

P <0.05 seviyesinde önemli.

P <0.05 significant.

^{a,b,c} Aynı satırda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (P <0.05)

^{a,b,c} Differences between the values shown in different lower case letters on the same line are statistically significant (P <0.05)

^{A,B,C} Aynı sütunda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır (P <0.05)

^{A,B,C} Differences between the values shown in different capital letters on the same column are statistically significant (P <0.05)

Antioksidan aktivite ölçümü TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) metoduna göre yapılmış olup, sonuçlar μmol TE/100 g karpuz suyu cinsinden verilmiştir. Çizelge 4 incelendiğinde fermantasyon başlangıcında örneklerin antioksidan aktivite değerleri arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu görülmektedir (P <0.05). Fermantasyon sonrasında ise *Lb. plantarum* eklenmiş karpuz suyunun antioksidan aktivite değerinin (7.53±1.20 μmol TE/100 g) kontrol örneği (4.60±0.93 μmol TE/100 g) ve diğer örneklerden önemli miktarda fazla olduğu görülmektedir (P <0.05). Karpuz suyuna antioksidan özellik kazandıran başlıca bileşenleri fenolik bileşikler, karotenoidler ve C vitamini'dir. Fermantasyonla birlikte fenolik madde miktarının artmasıyla, antioksidan aktivitede de artış olduğu düşünülmektedir (Edwards vd., 2003; Tlili vd., 2010). Nitekim, toplam fenolik madde içeriğindeki artış ile antioksidan aktivite artışı arasında güçlü bir korelasyon olduğu ve bu korelasyonun istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır (r=0.85, P <0.05).

Duyusal Analiz Sonuçları

Gıdaların tüketiciler tarafından tercihinde en önemli faktörün duyusal özellikler olduğu bildirilmektedir (Luckow vd., 2006). Bu nedenle, fermente karpuz suyu içeceklerinde tüketici beğenisi ölçülmüştür. Fermantasyon başlangıcındaki ve sonundaki duyusal analiz sonuçları Şekil 2 ve Şekil 3'te gösterilmiştir. Fermantasyon başlangıcında koku, tat ve genel beğeni kriterlerinde en yüksek puanları alan örneğin *Lb. plantarum* içeren örnek olduğu ve puanları sırasıyla 3.5, 4.0 ve 4.0 bulunmuştur. Ancak, 0. saatte örneklerin genel beğeni dereceleri arasında önemli bir farklılık yoktur (P <0.05). Fermantasyonun sonunda elde edilmiş olan fermente karpuz suyu içeceklerinin duyusal analiz sonuçlarına bakıldığında ise, renk puanlarının çok fazla değişmediği; fakat tat, koku ve genel beğeni puanlarında tüm örneklerde azalma olduğu görülmektedir. Panelistlerin en çok beğendiği örneğin 3.0 puanla *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş örnek olduğu görülmüştür. Bu örneğin tüketiciler tarafından beğeni düzeyi diğer üç örnekten önemli ölçüde fazla çıkmıştır (P <0.05) Ayrıca *Lb. plantarum* ile fermente edilmiş örnek hariç diğer örneklerinin tümünün beğeni

düzeyinin fermantasyon sonrasında başlangıca oranla önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur ($P < 0.05$). Tat ve koku kriterlerinin her ikisinde de en düşük beğeniyi alan *Lb. acidophilus* KPb4b ve kontrol örnekleri olmuştur. Panelistlere bunun nedeni sorulduğunda her iki örneğin tadında da genzi yakan keskin bir acılık ve yoğun bir ekşilik

olduğu cevabı alınmıştır. Chen vd. (2016), *Lb. acidophilus* ile fermente edilen karpuz suyunda fermantasyonun sonraki aşamalarında güçlü keskin kokulu bazı maddelerin üretildiğini belirtmiştir (Chen vd., 2016).

Çizelge 4. Karpuz suyunda fermantasyon süresince antioksidan aktivitedeki değişim
Table 4. Changes in antioxidant activity in watermelon juice during fermentation

Örnekler Samples	Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g karpuz suyu}$) <i>Antioxidant Activity ($\mu\text{mol TE} / 100 \text{ g watermelon juice}$)</i>	
	Fermantasyon Başlangıcı <i>Beginning of Fermentation</i>	Fermantasyon Sonu <i>End of Fermentation</i>
<i>Lb. helveticus</i>	4.88 \pm 0.68 ^{a,A}	5.43 \pm 0.81 ^{a,A}
<i>Lb. acidophilus</i>	4.55 \pm 1.34 ^{a,A}	5.60 \pm 0.96 ^{a,b,A}
<i>Lb. plantarum</i>	4.65 \pm 1.13 ^{a,A}	7.53 \pm 1.20 ^{b,B}
Kontrol Örneği <i>Control Sample</i>	3.78 \pm 0.92 ^{a,A}	4.60 \pm 0.93 ^{a,A}

$P < 0.05$ seviyesinde önemli.

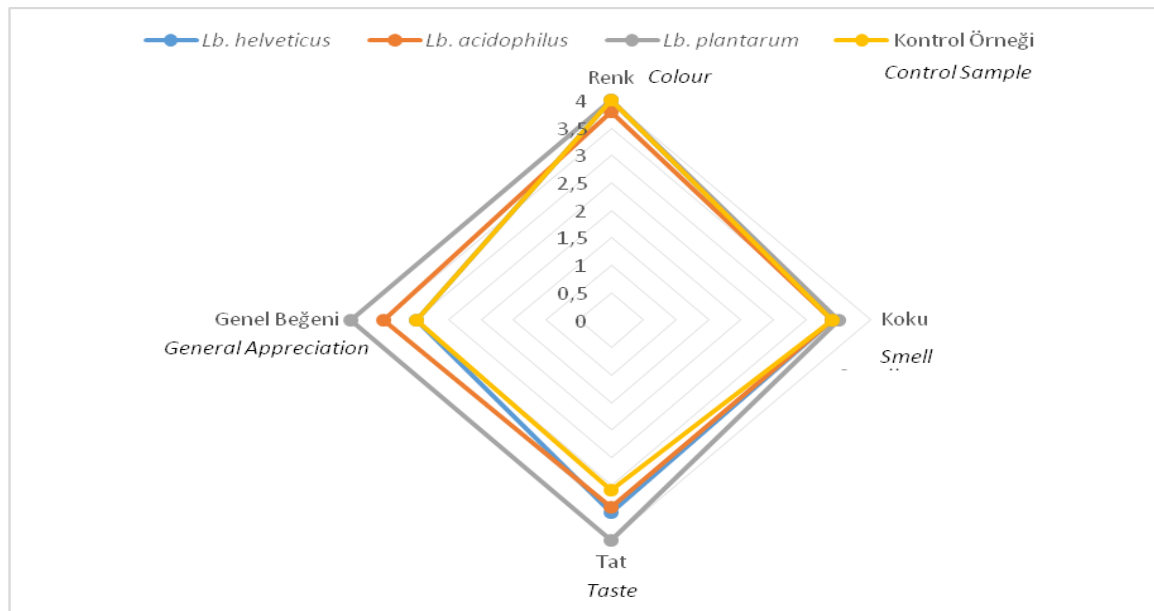
$P < 0.05$ significant.

^{a,b,c} Aynı satırda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır ($P < 0.05$)

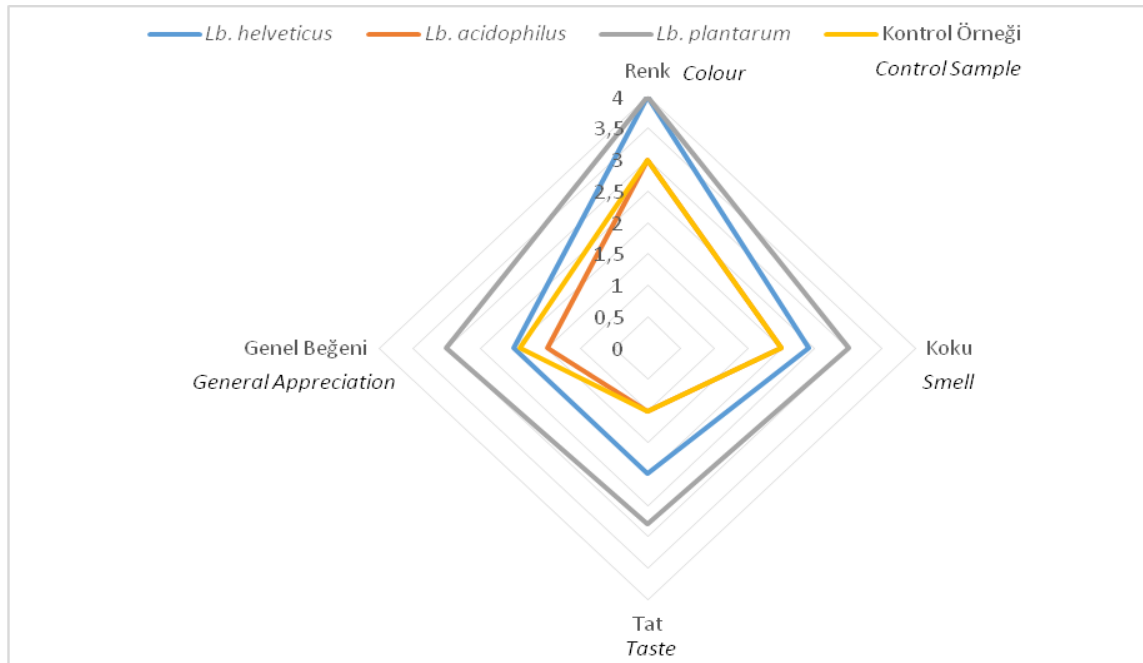
^{a,b,c} Differences between the values shown in different lower case letters on the same line are statistically significant ($P < 0.05$)

^{A,B,C} Aynı sütunda yer alan farklı büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önem taşımaktadır ($P < 0.05$)

^{A,B,C} Differences between the values shown in different capital letters on the same column are statistically significant ($P < 0.05$)



Şekil 2. Fermantasyon başlangıcında örneklerin duyu analiz sonuçları
Figure 2. Sensory analysis results of samples at the beginning of fermentation



Şekil 3. Fermantasyon sonunda örneklerin duyu analizi sonuçları
Figure 3. Sensory analysis results of the samples at the end of fermentation

Shin vd. (1978), 100 °C'de 5 dakika pastörize edilen karpuz suyunun laktik asit fermantasyonu ile elde edilen içeceğe göre daha çok tercih edilebilir olduğunu belirtmektedir (Shin vd., 1978; Fenercioğlu 1993). Probiyotik meyve ve sebze sularında, fermantasyon sonrasında oluşan ve arzu edilmeyen tat ve aroma bozukluklarının baskılanması amacıyla diğer meyve suları ile karıştırılarak kullanımı tavsiye edilmektedir (Luckow vd., 2006). Fermente karpuz suları için de aynı uygulama denenebilir. Bu durumda karpuz suyunun hangi meyve suları ile uyum sağladığını belirlemek gerekmektedir. Hour vd., (1980) yılında yaptıkları bir çalışmada, karpuz suyunu ananas, portakal ve greyfurt sularıyla farklı seçim ve oranlarda karıştırarak tüketici beğenisini ölçmüştür. Hazırlanan 10 farklı içecekten en az beğeniyi %100 karpuz suyundan olan, en yüksek beğeniyi ise %80 karpuz, %10 ananas ve %10 portakal suyundan oluşan içecek almıştır (Hour vd., 1980). Fenercioğlu (1993), karpuz, vişne ve elma sularının çeşitli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen 10 farklı örneği duyu analize tabi tutmuştur. Örnekler içinde en fazla beğeniyi %50 karpuz, %25 vişne ve %25 elma suyu içereni, en düşük beğeniyi ise tamamı karpuz suyundan

oluşan örnek almıştır (Fenercioğlu, 1993). Bir diğer çalışmada, Hayaloğlu ve Vardin (2001) farklı oranlarda karpuz ve nar suyu kullanılarak elde edilen meyve suyu karışımlarından en fazla tercih edilenlerin %75 karpuz +%25 nar suyu ve %75 nar +%25 karpuz suyu içeren örnekler olduğunu belirtmiştir (Hayaloğlu ve Vardin 2001).

SONUÇ

Karpuz mevsiminde taze olarak tüketilen, tatlı, sulu ve ferahlatıcı bir meyvedir. Üretimin yoğun olduğu dönemlerde çeşitli nedenlerle tüketilemeyen ürün, tarlada veya hasat sonrasında bozulmakta ve bu durum ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Yapılan bu çalışmada karpuzun fermente meyve suyu üretimi için uygun bir hammadde olup olamayacağı değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde karpuz suyunun laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun bir ortam olduğu ve fermantasyonla birlikte karpuz suyunun fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte fermantasyon işleminin ürünün duyu kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla, karpuz suyunun diğer meyve suları ile birlikte

karıştırılarak fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş karışık fermente meyve suyu bazı ürünlerin geliştirilmesinde kullanılabileceği, bunun için de üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2009. Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices. *J Food Eng*, 92(1): 37-43.

Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. 2011. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Sifaş Medya Ltd. Şti. İzmir, Türkiye, 134 s. ISBN: 978-9944-5660-8-7

Amanda, E. ve Choo, W. S. 2018. Effect of refrigerated storage on the physicochemical characteristics and viability of *Lactobacillus plantarum* in fermented watermelon juice with or without supplementation with inulin or fructooligosaccharide. *J Food Process Preserv.*, 2018;42:e13831.

Chen, Z., Xu, L.L. ve Lin, W.F. 2016. Study on the volatile flavor compounds of watermelon juice fermented by two *lactobacillus* species. *Mod Food Sci Technol*, 32 (3): 291-299.

Çakır, İ. 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi, 84 s.

Çakmakçı, M.L., Karahan, A. G., Çakır, İ. 2011. Mikrobiyoloji. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Yayın No: 36, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 227 sayfa.

Di Cagno, R, Surico, R. F., Paradiso, A., De Angelis, M., Salmon, J., Buchin, S., Gara, L. D., e Gobbetti, M. 2009. Effects of autochthonous lactic acid bacteria starters on health- promoting and sensory properties of tomato juices. *Int J Food Microbiol*, 128 (3): 473-483.

Edwards, A.J., Vinyard, B.T, Wiley, E.R., Brown, E.D., Collins, J.K., Perkins-Veazie, P., Baker, R.A. ve Clevidence, B.A. 2003. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and beta-carotene in humans. *JN/ J Nutr*, 133: 1043–1050.

Erge, H. S. 2007. Domateste (*Lycopersicum esculentum*) Karotenoid Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivite. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi, 91 sayfa.

FAO/WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report.

Fenercioğlu, H. 1993. Karpuz Suyunun Meyve Suyu Karışımlarında Kullanım Olanakları Üzerinde Bir Araştırma. *GIDA*, 18 (6): 367-371.

Gueimonde, M., Salminen, S. 2006. New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digest Liver Dis 38 Suppl.*, 2: 242-247.

Hayaloğlu, İ., Fenercioğlu, H. 1990. Research On The Possibility Of Using Watermelon In The Fruit Juice Industry. *Gıda*, 15(6): 329-332.

Hayaloğlu, İ., Vardin, H. 2001. Farklı Oranlarda Karpuz ve Nar Suyu İçeren Kokteyl Meyve Suyunun (Punch) Duyusal Olarak Değerlendirilmesi. *Gıda*, 26 (4): 267-270.

Hour, S.S., Ahmed, E.M., Rao, P.V., Cornell, J.A. 1980. Formulation and sensory evaluation of a fruit punch containing watermelon juice. *J Food Sci*, 45 (4): 809-813.

Jayaprakasha, G. K., Murthy, K. N. C., Patil, B. S. 2011. Rapid HPLC-UV method for quantification of L-citrulline in watermelon and its potential role on smooth muscle relaxation markers. *Food Chem*, 127: 240–248.

Karipçin, M. Z. 2009. Yerli ve Yabani Karpuz Genotiplerinde Kuraklığa Toleransın Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 259 sayfa.

Kubilay, Z. 2014. Karpuz ve Kavun Meyve Sularının Kombucha Mantarı ile Fermantasyon Ürünlerinin Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 28 sayfa.

- Liu, Y., Hu, X., Zhao, X., Song, H. 2011. Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. *Inn Food Sci Emerg Technol*, 13: 112-119.
- Luckow, T., Sheehan, V., Fitzgerald, G. ve Delahunty, C. 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. *Appetite*, 47: 315-323.
- Martins, S., Mussatto, S.I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J. Aguilar, C. N. Teixeira, J. A. 2011. Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotech Adv*, 29: 365-373.
- Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Res Int*, 44 (5): 1276-1283.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M. and Corbo, M. R. 2015. Challenges for the Production of Probiotic Fruit Juice. *Beverages*, 1: 95-103.
- Prado, F. C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C. R. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res Int*, 41 (2): 111-123.
- Rawson, A., Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J., O'Donnell, C. 2011. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Res Int*, 44 (5): 1168-1173.
- Rivera-Espinoza, Y. ve Gallardo-Navarro, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol*, 27 (1): 1-11.
- Shahidi, F., Chavan, U.D. ve Naczk, M. 2001. Nutrient distribution and phenolic antioxidants in air-classified fractions of beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). *J Agric Food Chem*, 49: 926-933.
- Shaikh Uzma, A., Deshpande, H.W. and Kulkarni, D.B. 2018. A review on probiotic beverages prepared using vegetables. *Int J Chem Stud*, 6(5): 61-65.
- Sheehan, V.M., Ross, P. ve Fitzgerald, G.F. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Inn Food Sci Emerg Technol*, 8: 279-284.
- Shin, D. H., Koo, Y. J., Kim, C. D., Min, B. Y. ve Suh, K. B. 1978. Studies on the production of watermelon and cantalopemelon juice. *Korean J Food Sci Technol* 10 (2): 215-223.
- Tlili, I., Hdider, C., Lenucci, M.S. Riadh, I., Jebari, H., Dalessandro, G. 2010. Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars as affected by fruit sampling area. *J Food Compos Anal*, 24 (3): 307-314.



SİRKENİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Çağlar Gökırmaklı¹, Havva Nilgün Budak², Zeynep Banu Güzel-Seydim^{1*}

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

² Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Meslek Yüksek Okulu, Gıda Kalite Kontrol ve Analizi Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 16.05.2019; Kabul / Accepted: 17.08.2019; Online baskı / Published online: 06.11.2019

Gökırmaklı, Ç., Budak, H. N., Güzel-Seydim, Z. B. (2019). Sirkenin sağlık üzerine etkileri. *GIDA* (2019) 44 (6): 1042-1058 doi: 10.15237/gida.GD19079

Gökırmaklı, Ç., Budak, H. N., Güzel-Seydim, Z.B. (2019). Effects of vinegar on health. GIDA (2019) 44 (6): 1042-1058 doi: 10.15237/gida.GD19079

ÖZ

Sirke tüketimine bağlı olarak gözlemlenen olumlu sağlık etkileri yaklaşık 10 bin yıl öncesine kadar dayanmaktadır. İlk defa, tıbbın kurucusu olarak atfedilen Hipokrat tarafından sirkenin sağlığa faydalı olabileceği belirtilmiştir. Hipokrat döneminden bu yana geleneksel tıpta, sirkeye bağlı uygulanan çeşitli tedaviler geliştirilmiştir. Modern tıbbın ve uygulama araçlarının gelişmesi ile sirke tüketiminin sağlık üzerine olan etkileri hakkında çeşitli önemli çalışmalar yürütülmüştür. Yapılan bu derleme çalışmasında, 2009-2019 yılları arasında sirke tüketiminin sağlık üzerine etkileri konusunda gerçekleştirilmiş araştırmalar sunulmuştur. Bu kapsamda, sirkenin glisemik, anti-diyabetik, yağ metabolizması üzerine, ülseratif-kolit üzerine, kolesterol üzerine, karaciğer ve fonksiyonları üzerine, oksidatif stres, anti-kanserojen ve antimikrobiyel etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, sirke tüketiminin sağlıklı beslenme anlayışı içinde önemli bir yerinin bulunduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Sirke, sağlık etkileri, fonksiyonel gıda, antimikrobiyel, antidiyabetik

EFFECTS OF VINEGAR ON HEALTH

ABSTRACT

Health effects observed due to vinegar consumption date back to about 10000 years ago. Firstly, as the founder of medicine, it was stated by Hippocrates that the vinegar could be beneficial for health. Various treatments for vinegar have been developed in the traditional medicine since the Hippocrates. With the development of modern medicine and its practice tools, various important studies carried out on consumption of vinegar and its impacts on health. In this article, scientific studies carried out between the period of 2009-2019 about the effects of vinegar consumption on health were reviewed. In this context, the glycemic effect of vinegar, its anti-diabetic effect, its effect on fat metabolism, its effect on ulcerative colitis, its effect on cholesterol, its effects on liver and function, its effect on oxidative stress, its effect on cancer and its antimicrobial effect were investigated. As a result, vinegar consumption is conceivable to have an important place in healthy nutrition.

Keywords: Vinegar, health effects, functional food, antimicrobial, antidiabetic

*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉ zeynepseydim@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 0246 211 1681

☎ (+90) 246 237 0437

GİRİŞ

Sirke, şeker ihtiva eden yaş ve/veya kuru meyvelerin çeşitli işlemler uygulanarak ilk önce etil alkol, daha sonra ise asetik asit fermantasyonuna tabi tutulması sonucu veya şarapların asetik asit fermantasyonuna uğratılması sonucu ortaya çıkan ürün olarak tanımlanmaktadır (Kırcı, 2017). Sirke, Roma uygarlığı tarafından çoğunlukla tat verici, ilaç veya kozmetik ürünü olarak kullanılırken, Yunanlılar sirkeyi ilaç şeklinde kullanmayı tercih etmiştir (Öztürk, 2015). Sirke geçmişten günümüze, Eski Mısır Uygarlığı (Altunbağ ve Zencir, 2018), Bizans (Doğer ve Armağan, 2014), İranlılar (Şengün ve Kılıç, 2019) ve Osmanlılar (Solak, 2008) gibi farklı toplulukların kültürlerinde keşişim noktalarından birisi olmuştur. Tıbbın

kurucusu olarak bilinen ve M.Ö. 460-377 tarihleri arasında yaşamış olan Hipokrat, hasta kişilerin tedavi edilmesinde, beslenmenin düzenlenmesinin büyük bir öneme sahip olduğunu “Besinle tedavi edebileceğiniz hallerde ilaç tavsiye etmeyiniz” cümlesiyle ifade etmiştir. Hipokrat tarafından uygulanan tedavilerde gıda karışımlarının uygulandığı ve ilk önemli karışımının bal, sirke ve karabiberden oluştuğu bilinmektedir (Merdol, 2016). Buna ek olarak, bazı tarihi belgelerde sirkenin, kolera hastalığının yayılma sürecinde bir dezenfeksiyon aracı olarak tavsiye edilmesi yer almaktadır (Öztürk, 2015). Sirkenin sağlık etkileri Şekil 1’de özet olarak verilmiştir.



Şekil 1. Sirkenin sağlık üzerine etkileri

Sirke, sadece sofrada lezzet verici olarak değil, aynı zamanda mayonez, salça, salamura, hardal ve başka pek çok benzer gıdanın hazırlanmasında kullanılan önemli bir gıdadır. Ek olarak, günümüzde ilaç üretiminde de sirke kullanılmaktadır (Kırcı, 2017). Son zamanlarda piyasada artan sirke çeşitliliği, tüketicilerin yeni lezzet arayışları kadar, sirkenin tedavi edici sağlık kürlerinde kullanımının artması ile de ilişkilidir. Sirkenin tedavilerde destekleyici olarak kullanılmasında, sirke için kullanılan hammaddeye bağlı olarak sirkenin içerdiği biyoaktif bileşenler önemli olmaktadır (Kırcı, 2017). Günümüzde, meyve sirkelerinin sahip olduğu polifenol içeriğinden dolayı lipid peroksidasyonu, hipertansiyon, hiperlipidemi, enflamasyon, DNA hasarı ve kansere karşı etkili oldukları bildirilmiştir (Chou vd., 2015). Sirkenin sağlık etkileri hakkında yakın zamanda çeşitli çalışmalar ele alınmıştır (Budak vd., 2014; Pazuch vd., 2015; Chen vd., 2016; Ho vd., 2017). Ek olarak, sirkenin üretim yönteminin (ticari veya geleneksel olarak), sirkenin fonksiyonel özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olduğu belirtilmiştir (Seydim vd., 2016). Bu derlemede, sirkenin sağlık üzerinde etkileri güncel araştırma bulgularıyla detaylı olarak açıklanmıştır.

SİRKENİN GLİSEMİK ETKİSİ

Yemek yedikten sonra oluşan kan şekeri artışı, yemek sonrası hiperglisemi olarak bilinmektedir. Bu durumun önlenmesi, kronik bazı rahatsızlıkların oluşumunun engellenmesinde veya tedavisinde önemli bir role sahiptir. Son 20 yıl içerisinde klinik çalışmalara bağlı olarak yayınlanan bazı raporlarda, yemek ile birlikte sirke tüketiminin, sağlıklı ve diyabetli yetişkinlerde, yemek sonrası glukoz konsantrasyonunu düşürdüğü belirtilmiştir (Shishehbor vd., 2017). Günümüzde de sirke kan şekeri seviyesini düşürme potansiyelindeki rolü nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir (Kohn, 2015). Shishehbor vd. (2017) tarafından yapılan ve sistematik meta-analiz içeren derleme çalışmasında, sirke tüketiminin yemek sonrası glukoz ve kan şekeri değerlerine etkisi hakkında daha önce yapılmış 11 çalışma incelenmiştir. Çalışma sonucuna göre, sirke tüketiminin yemek sonrası glukoz değerini ve insülin yanıtını gerek

glukoz düzensizliği yaşayan gerekse sağlıklı olan bireylerde düşürebildiği belirtilmiştir. Ancak, yakın zamanda ele alınan diğer bir çalışmada (Lim vd., 2016), glukoz homeostazisiyle ilgili sirke tüketiminin etkisini anlayabilmek için daha geniş katılımlı, uzun süreli ve randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Yine aynı çalışmada (Lim vd., 2016), sirkenin glisemik kontrolü iyileştirebileceği moleküler mekanizmalar, insan, hayvan ve hücre kültürü verileri kullanılarak sunulmuştur. Bu mekanizmalar arasında (i) glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1) salgılanmasının artmasına neden olarak bağırsak lümeninin enteroendokrin L-hücrelerinde lokalize edilmiş serbest yağ asidi reseptörü 2 (FFAR2) reseptörlerinin aktivasyonunu sağlaması, (ii) 5'-adenosin monofosfat tarafında aktive edilen protein kinaz (AMPK) aktivasyonunun artması, yağ asidi oksidasyonunun artmasına ve hepatik glukoneogenezin azalmasına yol açması, (iii) dolaşımdaki serbest yağ asidinin düşürülmesi ile potansiyel olarak iyileştirilmiş insülin duyarlılığına yol açması, (iv) periferik dokulara kan akışının artması ve (v) artan tokluk ile daha düşük gıda alımına neden olması.

Karim vd., (2018) tarafından yapılan çalışmada, tropikal bir meyve olan Mangosten ve Mangosten ağaçlarının kabuklarından üretilen sirkenin beş hafta boyunca yüksek yağlı diyet (YYD)/tek doz streptozotosin (STZ) 30 mg/kg VA (vücut ağırlığı) ile indüklenen erkek ICR diyabetik fareleri üzerinde glisemik ve anti-hepatotoksik etkisi incelenmiştir. Fareler normal kontrol, diyabetik kontrol ve diyabetik şekilde rastgele gruplara ayrılarak (n = 6), bir hafta boyunca sirke; 100, 200 mg/kg VA ve glibenclamid; 60 mg/kg VA ile tedavi edilmiştir. Tedaviden sonra, lipid profili, glikojen ve bilirubin içerikleri, oksidatif hasar (malondialdehit, MDA), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteler, antioksidan enzimler: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) plazma ve/veya karaciğer dokularında ölçülmüştür. Sirke ve glibenclamide ile yapılan müdahale sonucunda YYD/STZ ile indüklenen diyabetik farelerde, plazma glukozunun, plazma lipid profilinin ve hepatik lipid profilinin önemli ölçüde azaldığı

tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Artan hepatik glikojen içeriği, insülin duyarlılığının düzeldeğini göstermektedir. Ayrıca, sirke ve glibenclamide uygulanmasında oksidatif hasar belirteçleri iyileşmiştir.

SİRKENİN DİYABET VE OBEZİTE ÜZERİNE ETKİSİ

Diyabet, günümüz dünyasında küresel çapta ve epidemik boyutlarda görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Benzer şekilde, ölkemizde de kronik bir hastalık olarak endişe verici düzeylere ulaşmıştır. Dünya genelinde 2030 yılında, 366 milyon kişinin diyabetten etkileneceği öngörülmektedir. Obezite, tip 2 diyabet oluşumunu tetikleyen ana etmenlerden bir tanesidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) raporuna göre, Dünya genelinde 1.4 milyar kişide kilo fazlalılığı bulunmaktadır (Chou vd., 2015). Vücutun kilo alması, çeşitli mekanizmalar (bozulmuş insülin direnci ve salgılanması ile fazla hepatik glukoz oluşumu) aracılığıyla insülin direncinin oluşmasına, serum/karaciğer lipitlerinde artışa, oksidatif strese ve kardiyovasküler rahatsızlıklar ile enflamatuvara neden olabilmektedir. Dünya genelinde her yıl yaklaşık olarak yedi milyon kişi diyabete yakalanmaktadır. Yiyecek tercihi ve beslenme biçimi diyabetten korunma ve hatta diyabeti iyileştirmede önemli bir role sahiptir (Bulutlar, 2015; Chou vd., 2015; Ali vd., 2018b).

Sirkenin kilo kaybına yardımcı olduğuna yönelik ilk raporlar 1820'li yıllarda yayınlanmıştır (Kohn, 2015; Budak vd., 2011). Sirkenin vücut ağırlığı kontrolü üzerine olan faydası için önerilen bir mekanizma, sirke tüketiminin açlık durumunu azaltması ve dolayısıyla gıda alımını azaltması ile ilişkilendirilmektedir (Khezri vd., 2018). Son yıllarda, sirkenin metabolik etkilerine ilgi artmaktadır. Son çalışmalar, sirkenin/asetik asidin, glukoz metabolizması üzerinde, sağlıklı deneklerde ve insülin direnci olan veya diabetes mellituslu olan hastalarda faydalı etkiler yaratabileceğini göstermektedir (Mitrou vd., 2015). Ancak, yakın zamanda yapılan ve sistematik meta-analiz içeren bir derleme çalışması, günümüze kadar elde edilen kanıtların miktarının ve kalitesinin, sirke kullanımının

diyabeti olan farklı insanlar üzerinde, etkinliği ve güvenliği hakkında kesin faydalarını belirtebilmek için yeterli düzeyde olmadığını belirtmiştir. Bununla birlikte, mevcut kanıtlar, sirkenin karbonhidrat metabolizması üzerinde sahip olduğu olumlu etkiler nedeniyle, diyabet tedavisinde umut vaat edici bir gıda ürünü olduğunu göstermektedir (Siddiqui vd., 2018).

Sirke oluşumu esnasında, ortamdaki alkol asetik asite dönüşmektedir (Akbaş ve Cabaroğlu, 2010). Obeziteye bağlı tip 2 diyabetik Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) sıçanlarının beslenmesine, günlük olarak asetik asit takviyesi yapıldığında, bu durumun OLETF sıçanlarını obeziteye karşı koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca asetik asidin, karaciğerde lipit birikiminin engellenmesine ve hatta OLETF sıçanlarında abdominal yağlanmanın engellenmesine katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir (Yamashita, 2016).

Yapılan bir çalışmada (Yusoff vd., 2015) Nipa palm sirkesi (NPS) nin geleneksel Malay tıbbında antidiyabetik ve antioksidan olarak kullanımı araştırılmıştır. Çalışmada NPS sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir ve elde edilen örneklerle, normal ve streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçan modelleri kullanılarak antidiyabetik etki araştırılmıştır. Çalışma kapsamında ayrıca, NPS'ye yönelik antioksidan aktivite tayini, toplam fenolik ve flavonoid analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, NPS'nin sulu ekstraktının standart antidiyabetik bir ilaç olan metformin ile benzer antihiperglisemik aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, elde edilen bulgular, NPS'nin antioksidan bileşiklerinin, gözlemlenen genel antidiyabetik etki için fazla bir katkı sağlamadığını göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada (Ali vd., 2018b), hurma sirkesi tüketiminin, kanın biyokimyasal ve hematolojik parametreleri üzerinde tip 2 diyabetik hastalarında etkileri belirlenmiştir. Kan şekeri 126 mg/dL'den fazla olan elli beş hasta üzerinde çalışma yürütülmüştür. Katılımcılar, 10 haftalık bir süre boyunca, gündelik diyetlerine hurma sirkesi (20 ml) eklemişlerdir. Çalışmada HbA1c, açlık kan şekeri (FBS), toplam kolesterol (TC), yüksek

dansiteli lipoprotein (HDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), kreatinin (Cr), üre, tam kan sayımı (CBC), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), alkalın fosfataz (ALP), potasyum ve folat seviyeleri, çalışmadan önce, çalışmadan 5 hafta sonra ve çalışma tamamlandıktan sonra analiz edilmiştir. Hurma sirkesi tüketimi, sıralanan şu parametrelerin; HbA1c'nin (6.80 ± 2.34 'den 6.17 ± 2.14 'e (%)), FBS (171.43 ± 3.74 'den 147.56 ± 3.86 mg/dL, $P = 0.001$), ALT (24.94 ± 5.03 'den 21.88 ± 5.08 IU/L, $P = 0.002$) ve ALP (264.32 ± 5.26 'den 259.30 ± 4.21 IU/L) ve folat (34.6 ± 6.6 'den 41.7 ± 6.5 nmol/L, $P < 0.05$), kandaki konsantrasyonlarını olumlu olarak etkilediği rapor edilmiştir. Bununla birlikte diğer biyokimyasal ve hematolojik kan faktörlerinde de iyileşme sağlamıştır, ancak sağlanan iyileşmeler arasında anlamlı olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada, yüksek yağ içeriğine sahip bir diyetle beslenen farelerde, sentetik asetik asit sirkesi ve Nıpa sirkesinin anti-obeziye ve anti-enflamatuar etkileri karşılaştırılmıştır (Beh vd., 2017). Çalışma kapsamında, farelere 33 hafta boyunca yüksek yağlı bir beslenme uygulanmıştır. Çalışmada, 24. haftanın başında, obez farelere oral olarak sentetik asetik asit sirkesi veya Nıpa sirkesi (sırasıyla 0.08 ve 2 ml/kg vücut ağırlığı) 33. haftanın sonuna kadar verilmiştir. Ayrıca, farelere (kontrol olarak) standart bir pelet diyeti uygulanmıştır. Hem sentetik asetik asit sirkesi hem de Nıpa sirkesi, gıda alımını ve vücut ağırlığını etkili bir şekilde azaltmış olsa da, yüksek dozda Nıpa sirkesi uygulaması obez farelerde lipid birikimini önemli düzeyde azaltmış, serum lipid profilini iyileştirmiş, adipokin ekspresyonunu arttırmış ve enflamasyonu baskılamıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar neticesinde, yüksek dozda Nıpa sirkesi uygulamasının, yüksek yağlı beslenmeye bağlı obez farelerde lipid metabolizmasını, iltihabını ve bağırsak mikrobiyotası bileşimini değiştirerek obeziye potansiyel olarak azaltmayı destekleyebileceği gösterilmiştir.

Kurosu olarak da adlandırılan Pirinç Sirkesi, cıalanmış pirinçten, pirinç tohumu ve kepeğinin fermantasyonu yoluyla üretilir ve diğer sirkelere

göre daha fazla amino asit ve organik asit içerir (Chou vd., 2015). Chou vd., (2015) tarafından yürütölen 9 haftalık bir deneyden sonra, yüksek yağlı/kolesterol diyet ile beslenen hamsterlarda, düşük yağlı/kolesterol diyeti ile beslenenlere göre daha fazla ($P < 0.05$) kilo artışı, daha fazla nispi visseral yağ büyüklükleri, serum/karaciğer lipitleri ve serum kardiyak indekslerine sahip oldukları gözlemlenmiştir. Ancak, pirinç sirkesi takviyesi sonrasında, bu olumsuz parametrelerin değerlerinde azalma tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Pirinç sirkesi takviyesi ile yüksek yağlı beslenen hamsterlarda iç organ yağlanma boyutlarında azalma gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, pirinç sirkesi takviyesinin, yüksek yağlı beslenen hamsterlar üzerinde lipid düşürücü ve antioksidan etkilere katkıda bulunduğu belirtilmiştir. Pirinç sirkesinin lipid düşürücü etkisinin, içeriğindeki Mg ve polifenolik içeriklere bağlı olarak daha yüksek fekal lipid atımı ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Ali vd., (2019) tarafından geleneksel yöntem ile üretilmiş ve bir yıldan fazla bir süre olgunlaştırılmış hurma sirkesinin, hafif hiperkolesterolemik erişkinlerde serum lipid profili ve enflamatuar biyobelirteçleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada, yaşları 35-60 arasında değişen 76 yetişkin yer almıştır. Katılımcılara, 8 hafta boyunca, normal beslenmelerine ek olarak günlük 30 ml sirke veya plasebo verilmiştir. Plazma lipidleri, enflamatuar biyobelirteçler, karotenoidler, potasyum, folik asit, üre ve kreatin değerleri çalışmanın başlangıcında, 4. haftasında ve sonunda kayıt altına alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, hurma sirkesinin trigliserit seviyesini iyileştirdiğini (170.30 ± 16.54 'den 161.20 ± 17.8 mg/dL'ye, $P = 0.002$) ve enflamatuar biyobelirteçler (C reaktif protein) 7.05 ± 1.23 'den 4.12 ± 0.04 mg/L'ye, $P = 0.001$; nitrik oksit, 31.06 ± 0.47 'den 27.01 ± 0.14 $\mu\text{mol/L}$ 'ye, $P = 0.002$; tümör nekroz faktörü alfa (TNF α) 17.2 ± 2.8 'den 13.6 ± 2.4 pg/mL'ye, $P = 0.001$; fibrinojen 272.54 ± 22.6 'den 238.31 ± 11.7 mg/dL'ye, $P = 0.014$ belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, hurma sirkesinin, hafif hiperkolesterolemik deneklerin serum lipid profil parametreleri ve enflamatuar biyobelirteçleri üzerinde faydalı etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak, çalışma sonuçlarına göre,

hurma sirkesinin kalp-dostu sağlıklı diyet listesine dahil edilebileceğine yönelik veriler ortaya konulmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada (Budak vd., 2011), geleneksel (yavaş) ve endüstriyel (hızlı) yöntemler ile cibre fermantasyonu uygulanmış ve uygulanmamış olmak üzere 4 farklı yöntem ile üretilen elma sirkeleri yüksek kolesterolle beslenen Wistar albino sıçanlarına tükettirilmiş ve sıçanların kan glukoz düzeyleri ve sıçan vücut ağırlığına etkileri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, kan glukoz düzeyleri, yüksek kolesterol diyetiyle birlikte elma sirkesi verilen farelerde kontrol grubundan belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Kan glukoz düzeyi, kontrol grubunda 73.22 ± 3.78 mg/dL, kolesterol kontrol grubunda 87.10 ± 4.69 mg/dL iken elma sirkesi verilen gruplarda (cibre fermantasyonu uygulanmış geleneksel yöntem elma sirkesi (VSTM), geleneksel yöntem elma sirkesi (VST), cibre fermantasyonu uygulanmış endüstriyel yöntem elma sirkesi (VSBM), endüstriyel yöntem elma sirkesi (VSB) 123.44 ± 10.60 ; 108.43 ± 10.87 ; 95.22 ± 6.36 ; 87.88 ± 3.61 mg/dL belirlenmiştir. Araştırma bulgularından diğer bir tanesi ise elma sirkesi tüketiminin kilo kaybı hususunda etkili olduğudur.

Kausar vd., (2019) tarafından, elma sirkesinin tip 2 diyabetli zayıf glisemik kontrole sahip hastalarda glisemik kontrol ve biyokimyasal parametreler üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma için, uygun olan 110 diyabetli hasta seçilmiş ve 2 gruba ayrılarak tek kör, randomize ve plasebo kontrollü bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 3 ay boyunca deneme grubuna akşam yemeklerinde 200 ml su içerisinde 15 elma sirkesi içeren karışım verilirken, kontrol grubuna plasebo verilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, sirke verilen grupta, HbA1c ($P < 0.001$) ve açlık kan şekeri ($P < 0.001$) değerlerinde (ortalama olarak) anlamlı değişim bulunmuştur. Plasebo grubunda bu istatistiklerin ortalamasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca, kontrol ve deneme gruplarının ikisinde de boy, kilo, LDL ve HDL değerleri açısından anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Sonuç olarak, elma sirkesinin düzenli olarak tüketilmesinin tip 2 diyabetli

hastalarda diyabetin kontrolünde etkili olabileceği belirtilmiştir.

Halima vd., (2018) tarafından, günlük elma sirkesi tüketiminin, yüksek yağlı diyet kaynaklı hiperlipidemik Wistar sıçanlarında obezite ile ilişkili kardiyovasküler risk faktörünü etkileyip etkilemediği test edilmiştir. Obez sıçanlarda, yüksek yağlı diyet beslenmesinin uygulanmasından 6 ve 9 hafta sonra toplam serum kolesterolü, trigliserid, LDL, VLDL ve ateroskleroz indekste artış gözlemlenmiştir. Ancak, elma sirkesi tüketimi, bu parametrelerin tümünü önemli ölçüde iyileştirmiştir. Çalışmanın 6. haftasında gelişme gösteren oksidatif stres, günlük elma sirkesi tüketimi ile belirgin şekilde azalmıştır. Elma sirkesinin oral uygulaması çeşitli biyokimyasal ve metabolik değişiklikleri normal hale getirmiştir. Çalışma sonuçlarına göre elma sirkesi tüketiminin, yüksek yağlı diyet beslenmesine tabi tutulan sıçanlarda obezite kaynaklı oksidatif stresin baskılanmasında, antioksidan savunma sistemini modüle ederek ve ateroskleroz riski önlemesiyle obezite ile ilişkili hastalık riskini azaltarak, faydalı olabileceği belirtilmiştir.

SİRKENİN KOLESTEROL ÜZERİNE ETKİSİ

Lipidler, organizma içerisinde önem arz eden fonksiyonların yerine getirilmesinde rol oynadıkları ve hücre zarlarının yapı taşı oldukları için, metabolizmanın düzgün işleminde büyük öneme sahiptirler. Hiperlipidemi, lipid metabolizmasında meydana gelen primer veya sekonder bozukluklara bağlı olarak meydana gelebilmektedir (Rağbetli, 2009).

Budak vd., (2011) geleneksel (yavaş) ve endüstriyel (hızlı) yöntem ile cibre fermantasyonu uygulanmış ve uygulanmamış olmak üzere 4 farklı yöntem ile üretilen elma sirkelerinin kimyasal bileşimi, toplam antioksidan aktivitesi ve fenolik maddeleri üzerine etkisini incelemiştir. Ayrıca, yüksek kolesterolle beslenen Wistar albino sıçanlarına 4 farklı elma sirkesi tükettirilmiş ve sıçanların kan lipid düzeylerinin (toplam kolesterol (TC), trigliseridler (TG), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu

lipoprotein (LDL) etkileri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, yüksek kolesterol diyeti ile beslenen sıçanlar ile kontrol grubu kıyaslandığında elma sirkesinin trigliserid düzeyini düşürdüğü gözlenmiştir. Trigliserid değerleri kontrol grubunda 25.43 ± 2.52 , sadece kolesterol ilave edilmiş kontrol grubunda 41.00 ± 4.14 iken elma sirkesi verilen gruplarda (VSTM-cibre fermantasyonu uygulanmış geleneksel yöntem elma sirkesi, VST-geleneksel yöntem elma sirkesi, VSBM- cibre fermantasyonu uygulanmış endüstriyel yöntem elma sirkesi, VSB- endüstriyel yöntem elma sirkesi) 35.14 ± 2.85 ; 26.43 ± 3.32 ; 31.43 ± 3.01 ; 36.43 ± 4.82 belirlenmiştir. Toplam kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri geleneksel ve endüstriyel elma sirkesi verilen tüm gruplarda yüksek kolesterol diyeti ile beslenen kontrol grubu sıçanlara göre yüksek bulunmuştur. HDL-kolesterol düzeyi kontrol grubunda 36.43 ± 1.54 , kolesterol kontrol grubunda 41.63 ± 1.08 iken elma sirkesi verilen gruplarda (VSTM, VST, VSBM, VSB) 56.28 ± 2.62 ; 46.29 ± 2.94 ; 47.14 ± 1.72 ; 47.00 ± 2.56 tespit edilmiştir. HDL kolesterol düzeyindeki yükselme kontrol grubu ile önemsiz ($P > 0.05$); yüksek kolesterol verilen kontrol grubu ile anlamlı olarak tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Tetrametilpyrazine (TMP), pirinç sirkesinde bulunan biyoaktif bir bileşiktir. Yapılan bir çalışmada (Chen vd., 2017), TMP'nin HepG2 hücrelerinde hücre içi kolesterol modülasyonu üzerindeki potansiyel etkileri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, TMP'nin, hücre içi kolesterol akışını indükleyebildiği gösterilmiştir. Ayrıca, TMP'nin antioksidan etkileri aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin seviyelerini inhibe ederek ve antioksidan enzimleri süperoksit dismutaz ve katalazı artırarak, endotel fonksiyonunu geliştirebileceği görülmüştür. Ek olarak, TMP'nin hücreli kolesterol akışını indükleyerek ve hücrede oksidatif hasarı azaltarak hiperlipidemi ve ateroskleroza önemli ölçüde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, TMP'nin, lipid metabolizmasının düzenlenmesinde aktif rol aldığı ve bu nedenle TMP'nin potansiyel olarak sergilediği hipolipidemik özelliği sayesinde gelecekte kardiyovasküler rahatsızlıkların tedavisi

için umut vaat edici nitelikte olduğu belirtilmektedir.

Yapılan bir çalışmada (Ali vd., 2018a), hurma sirkesi ve sarımsak suyu kullanılarak yeni bir içecek geliştirilmiştir. Daha sonra, çalışma kapsamında 30-60 yaş arasında olan elli hiperlipidemik yetişkine, 7 haftalık bir süre boyunca günlük olarak iki bardak (500 mL) yeni geliştirilmiş içecek veya plasebo tüketirilmiştir. Çalışmada plazma lipidleri, enflamatuar biyobelirteçleri, üre, kreatinin, potasyum ve β -karotenoid konsantrasyonları çalışmaya başlamadan önce, çalışma başladıktan 3 hafta sonra ve çalışma bittikten hemen sonra ölçülmüştür. Tüketime sunulan yeni içeceğin dozunun (500 mL), toplam kolesterol (260.10 ± 17.9 değerinden 198.90 ± 17.31 mg/dL değerine) ve C-reaktif protein (8.04 ± 1.34 değerinden 4.45 ± 1.42 mg/L değerine) ile birlikte kalp atış hızını (kontrol grubuna göre 60-125 atım/dk arasında azalma) ve ortalama kan basıncını (kontrol grubuna göre 80-120 mm Hg azalma) düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, içeriğinde sirke bulunduran bu yeni içeceğin, lipidlerin ve enflamatuar biyobelirteçlerin konsantrasyonunu iyileştirdiğini ve hipertansiyon konusunda endişeli olan kişiler için faydalı olabileceğini göstermektedir.

Elma sirkesinin, fazla kilolu veya obez kişilerde vücut ağırlığının ve serum metabolik profillerini kontrol etmede faydalı olup olmadığını anlamak için Khezri vd. (2018) tarafından randomize klinik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Toplam 12 hafta süren çalışmada, katılımcılar ($n=39$), rastgele olarak elma sirkesi tüketen gruba (250 kcal/gün enerji açığı ve 30 mL/gün elma sirkesi ile kalorisiz bir diyetle (KSD) tabi tutuldu) veya kontrol grubuna (sadece KSD) dahil edilmiştir. Elma sirkesi uygulanan grupta, vücut ağırlığının, beden kitle indeksinin, kalça çevresinin, visseral adipoz indeksinin ve iştah skorunun anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Ayrıca, plazma trigliserit değerinin ve toplam kolesterol seviyelerinin, kontrol grubuna göre, elma sirkesi grubunda anlamlı derecede azaldığı ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL) konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı

tespit edilmiştir ($P = 0.05$). Bu nedenle, KSD ile birlikte elma sirkesinin, aşırı kilolu veya obez kişilerde antropometrik parametrelerin, plazma trigliserit ve toplam kolesterol seviyelerinin, visseral adipoz indeksinin, iştahın ve HDL konsantrasyonunun artırılmasında etkili bir strateji olabileceği ortaya konulmuştur.

Ali vd., (2018b) tarafından yapılan randomize, plasebo kontrollü ve çift-kör çalışmanın sonuçlarına göre, hurma sirkesi tüketimi, toplam kolesterolü (218.10 ± 3.9 'den 191.14 ± 3.7 mg/dL, $P < 0.001$) ve HDL'yi (41.7 ± 4.7 'den 47.5 ± 4.5 mg/dL) ve LDL'yi (117.14 ± 3.6 'den 97.15 ± 3.7 mg/dL) önemli ölçüde iyileştirmiştir. Hurma sirkesi ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada (Ali vd., 2019) elde edilen sonuçlarda, hurma sirkesinin bazı serum lipid profili parametrelerini iyileştirdiğini göstermektedir (toplam kolesterol seviyesi, 246.40 ± 14.7 mg/dL'den 197.60 ± 14.7 mg/dL'ye, $P = 0.001$; düşük yoğunluklu lipoprotein, 166.6 ± 11.8 mg/dL'den 109.8 ± 11.8 mg/dL'ye, $P = 0.001$; yüksek yoğunluklu lipoprotein, 41.7 ± 8.08 mg/dL'den 44.1 ± 8.05 mg/dL'ye, $P = 0.003$).

Kausar vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, elma sirkesi tüketiminin, tip2 diyabetli hastalarda toplam kolesterol ($P = 0.002$), trigliserit ($P = 0.002$) ve kalça-bel oranı ($P = 0.002$) değerlerinde (ortalama olarak) plasebo gruba kıyasla anlamlı değişim bulunmuştur. Çalışma sonucuna göre, elma sirkesi tüketiminin tip 2 diyabetli hastalarda hiperkolesterolemi ve hipertrigliseridinin azaltılmasında etkili olabileceği bildirilmiştir.

SİRKENİN KARACİĞER VE FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Yapılan bir çalışmada (Mohamad vd., 2018) hindistan cevizi suyu sirkesinin asetaminofen kaynaklı karaciğer tahribatında iyileşmeyi sağlama potansiyeli araştırılmıştır. Bunun için farelere 7 gün boyunca 250 mg/kg vücut ağırlığı asetaminofen enjekte edilmiştir ve damıtılmış su verilmiştir. Fareler üç gruba ayrılmıştır; silybin (pozitif kontrol), düşük konsantrasyonlu hindistan cevizi suyu sirkesi (0.08 mL/kg vücut ağırlığı) ve yüksek konsantrasyonlu hindistan cevizi suyu sirkesi (2 mL/kg vücut ağırlığı).

Uygulama yapılan ve yapılmayan kontrol fareleri arasındaki oksidasyon stresi ve enflamasyonu kapsayan parametreler karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu hayvanlara asetaminofenin oral yolla verilmesi sonucunda, farelerde serum karaciğer profillerinin yükselmesi, karaciğer histolojik değişiklikleri, yüksek sitokrom P450 2E1 düzeyi, düşük karaciğer antioksidan düzeyi ve artan derecede karaciğer hasarına işaret eden enflamatuvar ilişkili belirteçleri gözlemlenmiştir. Öte yandan, 14 günlük hindistan cevizi suyu sirkesi ile muamele edilmiş farelerde serum karaciğer profil değerlerinin (ALT, ALP, kolesterol, trigliserit) azaldığı, gelişmiş karaciğer histolojisi, restore edilmiş karaciğer antioksidanı, karaciğer iltihabının azalması ve karaciğer sitokrom P450 2E1'in seviyesinde, doza bağlı olarak, azalma kaydedilmiştir. Sonuç olarak, hindistan cevizi suyu sirkesinin, antioksidan aktivitenin restorasyonu ve ek olarak enflamasyonun baskılanması ile asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarını azaltmaya yardımcı olduğu tespit edilmiştir.

Çin'deki ünlü tahıl sirkelerinden biri olan Shanxi olgunlaştırılmış sirke (SAV), geleneksel yöntem ile binlerce yıldır üç ana adımda üretilmektedir: 1) nişasta sakkarizasyonu, 2) alkol fermantasyonu ve 3) asetik asit fermantasyonu. Yapılan son çalışmalar, SAV'ın içeriğindeki doğal bileşenlerden dolayı antioksidan, hipotansif, hipoglisemik ve kolesterol düşürücü aktiviteler gibi çeşitli terapötik etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Zhu vd., 2018; Xia vd., 2018a). Yapılan bir çalışmada (Xia vd., 2018a), SAV'ın etanolden kaynaklı karaciğer hasarı üzerindeki koruyucu etkisi ve bunun altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması amaçlamıştır. Çalışma sonucunda, SAV'ın LO2 hücrelerinde hücre yaşayabilirliğini geri kazandırarak, fare karaciğerlerinde patolojik değişiklikleri hafifleterek ve karaciğer enzim yüksekliğini azaltarak etanol tarafından indüklenen hepatotoksisiteyi iyileştirici etkiler sergilediği gösterilmiştir. Ek olarak, SAV uygulamasının (2.500 mL/kg vücut ağırlığı), hücre apoptoz ve malonaldehit (MDA) seviyelerini inhibe eden ve farelerdeki antioksidan savunma sisteminin tükenmesini tersine çeviren etanol kaynaklı reaktif

oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu anlamlı derecede azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çalışma, SAV ile yapılan ön tedavinin, etanol kaynaklı karaciğer hasarını *in vitro* ve *in vivo* olarak önlediği gösterilmiştir. SAV'nin koruyucu etkilerinin, CYP2E1 ve NADPH kaynaklı oksidaz aktivitelerinin inhibe edilmesi yoluyla etanolün neden olduğu oksidatif stresin azaltılmasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada (Xia vd., 2018b), SAV'ın alkolün yol açtığı karaciğer hasarı üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Potansiyel mekanizmalarını anlayabilmek için bir fare modeli üzerinden alkolik karaciğer hasarı oluşturulmuştur. Daha sonra tüm fareler SAV ile ön işleme, sonra da bir etanol çözeltisine (50 %w/v, 4.8 g/kg vücut ağırlığı) tabi tutulmuşlardır. Sonuç olarak, SAV'ın alkolün neden olduğu histolojik değişiklikleri iyileştirdiği ve karaciğer enzimlerinin yükselmesini sağladığı rapor edilmiştir. Ek olarak, SAV'ın, lipopolisakariti baskılayarak alkole bağlı enflamasyonu önlediği gösterilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile SAV'ın Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) aracılı enflamatuvar yanıt ekspresyonunu aşağı regüle edilmesi yoluyla alkole bağlı enflamasyonu inhibe ettiği ve karaciğerin korunmasında fonksiyonel bir gıda olarak önemi ortaya konulmuştur.

Mohammadghasemi vd., (2018) tarafından yapılan çalışmada, elma sirkesinin alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması (ABOKAY) sıçan modelinde doğurganlık endeksleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma için 32 adet yetişkin erkek sıçan dört gruba şu şekilde ayrılmıştır; 1) normal diyet, 2) yüksek yağlı diyet (YYD), 3) elma sirkesi diyeti (ESD) ve 4) YYD+ESD. Toplam 22 hafta süren çalışmanın sonunda, Lee indeksi, serum lipid profilleri, karaciğer enzimleri, glukoz ve serumda toplam antioksidan seviyeleri belirlenmiştir. Ek olarak, karaciğer ve testis dokuları homojenatları, histopatolojisi, serum testosteronu ve sperm parametreleri ölçülmüştür. Ayrıca, HOMA-IR hesaplanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, sirke ile muamele edilen grupta YYD grubuna kıyasla, Lee indeksi, serum trigliseritleri, kolesterol seviyesi, karaciğer enzimleri ve glukoz seviyesinde önemli derecede azalma gözlemlenmiştir. Sirkenin

YYD grubuna oranla insülin direncini önemli derecede ($P < 0.01$) azalttığı tespit edilmiştir. Sirke serum testosteronunda önemli bir artışa, sperm parametrelerinde iyileşmeye ve germ hücre apoptozisinde azalmaya neden olmuştur ($P < 0.05$). YYD ile karşılaştırıldığında, karaciğer ve testisin serum ve homojen dokusunda TAC düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir. Bu çalışma elma sirkesinin *in vivo* ABOKAY modelinde erkek sıçan doğurganlık endeksleri üzerinde yararlı etkileri olduğunu bildirmiştir.

Budak vd., (2011) tarafından yapılan çalışmada, geleneksel ve endüstriyel elma sirkesi tüketilen ratlarda histopatolojik incelemeler sonucunda aspartattransaminaz (AST), alanintransaminaz (ALT) ve alkalinfosfotaz (ALP) değerlerinde bakılarak karaciğer hasarlarını önlemede koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir. Kontrol grubu kan serumunda AST 158.11 U/L, 40.44 U/L ALT, 133.11 U/L ALP değerleri ile yüksek kolesterol ile beslenen sıçanların kan serumunda AST 188.4 U/L, ALT 53.00 U/L, ALP 196.89 U/L değerleri kıyaslandığında önemli artma ($P > 0.05$) gözlenirken elma sirkesi verilmiş grupların AST, ALT, ALP değerlerinde kolesterol kontrol grubuna göre düşme gözlenmiştir ($P < 0.05$). Elma sirkesi verilen gruplarda (VSTM, VST, VSBM, VSB) AST değerleri 140.11, 150.11, 107.11, 98.11 U/L; ALT değerleri 38.33, 43.87, 40.44, 38.89 U/L; ALP değerleri 151.00, 144.87, 169.56, 124.55 U/L olarak belirlenmiştir.

SİRKENİN OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

İnsan metabolizmasının işleyişi esnasında, bazı faktörlerin etkisi ile aktif oksijen formları oluşabilmektedir. Bu formda oluşan serbest radikaller engellenemediği zaman, DNA, protein, karbonhidrat ve lipitlerde yapısal bozulmalara neden olabilmektedir. Bundan dolayı, hücre membranının hem yapısı hem de fonksiyonları olumsuz şekilde etkilenebilmekte ve bu da pek çok dejeneratif hastalığın oluşumuna neden olabilmektedir. Antioksidan maddeler, aktif oksijen radikallerinin faaliyetlerini ya da oluşumlarını engelleyerek, bu maddelerin vücut hücre yapılarına zarar vermelerini engelleyebilmektedir. Fenolik bileşenler

antioksidan özellikleri bakımından ön plana çıkmaktadırlar (Tosun ve Karadeniz, 2005). Sirkenin bileşiminde yer alan fenolik bileşenler ve polifenollerin insan sağlığına olumlu etkileri olduğu belirtilmektedir (Budak ve Güzel-Seydim, 2010).

Yapılan bir çalışmada (Zou vd., 2018), Trabzon hurması sirkesinin polifenollerini (TSP) karakterize edilmiştir. Ayrıca, TSP'nin HepG2 hücrelerinde ve altta yatan mekanizmalarında hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynaklı oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisi araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, flavon-3-ol'ların baskın polifenoller olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, TSP ile yapılan ön işlem sonucunda, laktat dehidrojenaz (LDH) sızıntısı, aminotransferaz aktiviteleri ve reaktif oksijen türleri (ROT) birikimindeki düşüşle birlikte, doza bağlı bir şekilde H_2O_2 'nin neden olduğu hücre hasarını önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). TSP'nin, heme oksijenaz-1 (HO-1) ve NAD (P) H: kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu düzenlediği ve glutatyon seviyelerini arttırdığı rapor edilmiştir. Tüm sonuçlar birlikte ele alındığında, TSP'nin, NRF2 antioksidan yolunun aktivasyonu ile HepG2 hücrelerini oksidatif strese karşı etkili bir şekilde koruduğu gösterilmiştir (Zou vd., 2018).

Potasyum oksonat ile indüklenen hiperüremik farelerde *Monascus pilosus* KCCM 60084 ile fermente edilmiş soya fasulyesinden elde edilen soya sirkesinin potansiyel hipouremik ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Serbest izoflavonlar, ubikinonlar, γ -aminobütirik asit, gallik asit ve asetik asit içeren soya sirkesi ekstraktları (SSE'leri), ksantin oksidaz inhibisyonu yoluyla ürik asit (ÜA) üretimini azaltarak ve ürikaz aktivitesinde ÜA atılımını artırarak ÜA seviyesini hiperüremik farelerde düşürmüştür ($P < 0.05$). Ayrıca, SSE uygulaması hepatik antioksidan enzim aktivitelerini doza bağımlı bir şekilde arttırmıştır. Sonuçlar, soya sirkesinin doğal bileşenler sayesinde, hiperüremiyi önleme ve tedavi etme konusunda potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Young-Hee vd., 2018).

Seydim vd., (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, yüksek kolesterol diyetiyle beslenen sıçanlarda, geleneksel ve hızlı yöntem ile üretilen üzüme ve elma sirkelerinin tüketiminin oksidatif strese karşı etkileri belirlenmiştir. Bunun için 44 fareye, 7 hafta boyunca gavaj yoluyla, gün içerisinde farklı zamanlarda kolesterol (% 2.5), sirke örnekleri (1 ml) ve kontrol grubu için tuzlu su uygulanmıştır. Deney sonunda farelerden alınan kan örneklerinde katalaz (CAT) aktivitesi, malondialdehit seviyesi (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi analiz edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, yüksek kolesterol beslenme grubundaki deneklerde CAT, GSH-Px, SOD seviyeleri anlamlı derecede azalırken, yüksek kolesterol diyetiyle (CHCNT) beslenen kontrol farelerinde, MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($P < 0.05$). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyeleri, CHCNT ile karşılaştırıldığında elma sirkesi uygulanan gruplarda anlamlı olarak azalmıştır ($P < 0.05$). GSH-Px seviyeleri, CHCNT'ye kıyasla, geleneksel yöntem ile üretilen sirke ile beslenen sıçan gruplarında anlamlı şekilde artmıştır (sırasıyla $P = 0.03$, $P = 0.001$). Sirke ile beslenen tüm sıçan gruplarının SOD düzeyleri, CHCNT grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($P < 0.05$). Elde edilen sonuçlar neticesinde, sirkenin fonksiyonel özellikleri üzerinde kullanılan mayanın ve üretim şeklinin önemli bir yeri olduğu vurgulanmıştır.

SİRKENİN KANSER ÜZERİNE ETKİSİ

Kanser, farklı organlarda kontrolsüz hücre çoğalmasından kaynaklanan, klinik görünümü, tedavi edilmesi ve tedavide yaklaşımı birbirinden farklı olan hastalıklar grubuna verilen genel bir addır. Ne yazık ki, ülkemizde de kanser vakalarının sıklığı, dünya geneli ile paralellik göstermektedir (Anonim, 2014). Kanser, dünya genelinde ve ülkemizde %22'lik oran ile kalple ilişkili rahatsızlıklardan sonra ikinci temel ölüm nedenidir. Kanser için yapılan öngörülerde, 2030 yılına gelindiğinde 24 milyon insanın kansere yakalanabileceği, aynı yıl içerisinde ise 17 milyon insanın kanserden dolayı yaşamını yitirebileceği tahmin edilmektedir (Anonim, 2009).

Elma sirkesinin üretiminde α -glikan isimli homoglikan yapı oluşmaktadır. Bir çalışmada, α -glikanın fermantasyonun hangi aşamasında oluştuğu araştırılmıştır, elma suyunda alkol fermantasyonu yapılmaksızın yani ortama alkol ilave edilerek asetik asit fermantasyonu gerçekleştirilmiştir. α -glikanın asetik asit fermantasyonu esnasında oluştuğu bulunmuştur. Çalışmanın devamında elma sirkesinde asetik asit fermantasyonu ile meydana gelen α -glikan bileşiğinin deney fareleri üzerinde antitümör etkisinin olduğu gözlemlenmiştir (Abe vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada (Mohamad vd., 2019), hindistan cevizi suyu sirkesinin 4T1 meme kanseri hücreleri üzerindeki *in vitro* ve *in vivo* anti-tümör etkileri incelenmiştir. Çalışmada, dondurularak kurutulmuş hindistan cevizi suyu sirkesinin, hücre canlılığını düşürdüğü, apoptozu indüklediği ve 4T1 hücrelerinin yara iyileşmesini *in vitro* olarak geciktirdiği gözlemlenmiştir. *In vivo* olarak ise, hindistan cevizi suyu sirkesinin, farelerde apoptozu indükleyerek ve metastazı geciktirerek 4T1 meme kanserinin ilerlemesini geciktirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, hindistan cevizi suyu sirkesinin, bağışıklık hücrelerinin sitotoksitesini ve antikanser sitokinlerinin üretimini de teşvik ettiği rapor edilmiştir. Sonuçlar, hindistan cevizi suyu sirkesinin meme kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyerek, metastazı baskılayarak ve anti-tümör bağışıklığını aktive ederek meme kanserinin ilerlemesini geciktirdiğini göstermektedir.

SİRKENİN ANTİMİKROBİYEL ETKİSİ

Özellikle, *Salmonella*, *C. perfringens* ve *Campylobacter*'in sebep olduğu bakteriyel kaynaklı gıda hastalıkları, hem ekonomik olarak hem de halk sağlığı yönünden önemli problemler teşkil etmektedir (Henley vd., 2018). ABD'de gıda kaynaklı 14 patojen mikroorganizmanın sebep olduğu yıllık hastalık maliyeti 14 milyar dolar olarak hesaplanmıştır (Bozdemir ve Taşlı, 2018).

Antik zamanlardan beri, sirke antiseptik bir ajan olarak yaraların iyileştirilmesinde ve enfeksiyonlarla mücadele amacı ile kullanılmıştır (Whitehead, 2016). Sirkede bulunan asetik asit, düşük; %0.5 konsantrasyonlarda bile pek çok

mikroorganizma üzerinde antimikrobiyel etki gösterebilmektedir (Şengün ve Kılıç, 2018).

Yapılan bir çalışmada (Şengün ve Kılıç, 2018), endüstriyel ve ev üretimi dut sirkelerinin *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ve *Pediococcus acidilactici* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, endüstriyel dut sirkelerinin antimikrobiyel etkisi, ev yapımı dut sirkelerine göre test edilen tüm mikroorganizmalarda daha fazladır. Endüstriyel sirke tüm mikroorganizmalara karşı etki ($13.5 \pm 0.70 - 7.5 \pm 0.70$ mm) gösterirken, ev yapımı sirke sadece 5 mikroorganizmaya karşı etki ($10.5 \pm 2.12 - 7.5 \pm 0.70$ mm) göstermiştir. Ticari sirke tarafından en yüksek antimikrobiyel etki gösterilen mikroorganizma *L. monocytogenes* (13.5 ± 0.70 mm) olmuştur ve bu etki ev yapımı sirkede gözlenmemiştir.

Yapılan bir çalışmada (Henley vd., 2018), tavuk göğsü, yaklaşık 5×10^8 kob/ml *Salmonella enterica* 19214 (tetrasiklin, streptomisin ve kloramfenikole dirençli) ile aşılmıştır. Aşılana numuneler daha sonra, bir tüketici davranışı olan tüketicinin yıkamasını simüle etmek amacıyla kontrol (musluk suyu) veya asidik (%10 sirke; ticari veya %10 limon suyu; ticari) çözeltilerinde 10 saniye, 30 saniye, 2 dakika veya 5 dakika boyunca yıkanmıştır. Yıkamadan sonra, *S. enterica* 19214 seviyeleri belirlenmiştir. Sirke (%10, pH 3.1) ile yıkama, tavuktan 7.23-7.46 log kob/ml *S. enterica* ve sirke yıkama çözeltisinden 6.63 ila 6.73 log kob/ml *S. enterica*'nın azalmasını sağlamıştır. Sonuçlar, asidik yıkamaların, hem yıkama sırasında hem de tavukta canlı olarak *Salmonella* bakterisinin kalması ile sonuçlandığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre, çiğ kümes hayvanlarını, seyreltilmiş bir sirke solüsyonunda yıkamak, patojenleri uzaklaştırmak için yetersiz bir yöntem olarak tespit edilmiştir. Buna ek olarak, bu şekilde yapılacak muamelelerin hem yıkama suyunda hem de tavukta çapraz kontaminasyona bağlı olarak patojenlere neden olabileceği ve potansiyel olarak gıda kaynaklı hastalık riskini artırabileceği belirtilmiştir.

Souza vd., (2018) tarafından, sirkenin marul üzerindeki temizleme etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak farklı zamanlarda farklı yerlerden temin edilen 27 adet marul kullanılmıştır. Brezilya yasalarına göre, 100 mL'de 12 g asetik asit üzerinde uçucu asitlik içeren sirke üçlü olarak sınıflandırılır ve üç katı kuvvetli sirke olarak adlandırılır. Çalışmada üç katı kuvvetli sirke (titre edilebilir asitlik (TA): asetik asit cinsinden 130 g/L, pH: 2.5), alkol sirkesi (TA: 40 g/L, pH: 2.3) ve tahıl sirkesi (TA: 40 g/L, pH: 2.6) kullanılmıştır. *E. coli*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyon ve minimum bakteri öldürücü konsantrasyon sırasıyla 2.5 ve 15 g/L toplam asitlik olarak tespit edilmiştir. Yapay olarak *E. coli* bulaştırılmış veya doğal olarak koliformlarla bulaşmış marul yaprakları ya suyla yıkanmıştır (kontrol) ya da 15 dakika boyunca sirke çözeltisine (15 g/L toplam asitlik) daldırılmıştır. Bu sürenin, yapay olarak kontamine olmuş numunelerdeki *E. coli* sayısını ve doğal olarak kontamine olmuş numunelerdeki koliformları azaltmak için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalar sonucunda marul yapraklarında görsel bir değişikliğin olmadığı; 15 g/L toplam asitlikteki sirkenin, ürünün görünümünü etkilemeden, ürünü patojenlerden arındırmak amacıyla kullanılabilirliğini göstermiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada (Ghazzi vd., 2018), Ankara'da sekiz farklı markadan alınan çiğ köftelere sonradan bulaştırılan veya halihazırda mevcut olan Shiga toksin üreten *E. coli*, *E. coli* O157 (STEC), *L. monocytogenes* ve/veya *Salmonella* spp. üzerinde sirkenin antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre %2.5 ve %5 oranlarında damıtılmış/sofra sirkesinin antimikrobiyel olarak çiğ köfte formülasyonuna dahil edilmesinin, depolama sırasında STEC, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* çoğalmasını inhibe ettiği doğrulanmıştır (yaklaşık <0.3 log kob/g artışı). Antimikrobiyel olarak sirke ilave edilmeyen çiğ köfte örneklerinde patojen mikroorganizma düzeyi 4°C'de 3 gün depolama sürecinde değişim göstermezken; 15°C'de 3 gün depolama süresinin sonunda *Salmonella* spp. 0.9 log kob/g, STEC 0.6 log kob/g düzeyinde artış göstermiş, *L. monocytogenes*'deki artış ise istatistiksel açıdan önemli olmamıştır. Ek olarak, 4°C'de

depolamada antimikrobiyel olarak eklenen sirkenin çiğ köfte üzerinde STEC düzeyinde artış gözlenmemiş iken 15°C'de 3 gün depolama sonunda STEC düzeyi 0.2 log kob/g artmış ancak bu artışın önemsiz olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, çiğ köfte içeriğine iki farklı oranda (%2.5 ve %5) damıtılmış/sofra sirkesi ilave edilmiştir. Daha sonra bu çiğ köfteler iki farklı sıcaklıkta (4°C ve 15°C'de) 3 gün depolanmıştır. Depolama süresi sonunda yapılan analizde, her üç patojen mikroorganizmanında sayısında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Böylece, sirkenin çiğ köfte üzerinde antimikrobiyel etkisinin varlığı tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada (Mota vd., 2015), elma sirkesinin *in vitro* koşullarda *Candida* spp. üzerinde antifungal etkisi araştırılmıştır. Elma sirkesi (% 4), test edilen suşa bağlı olarak 2500 µg/mL minimum inhibisyon konsantrasyonu ve 2500, 5000 ve 10.000 µg/ml minimum fungisidal konsantrasyonu göstermiştir. Çalışma sonuçlarına göre elma sirkesi *Candida* spp. üzerinde antifungal etkiye sahiptir.

Baldas ve Altuner (2018) yaptıkları araştırmada, elma ve üzüm sirkelerinin bazı mikroorganizmalar üzerinde; *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *S. Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua*, *Salmonella infantis* ve *Salmonella kentucky*, antimikrobiyel etkilerini minimum inhibisyon testi kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar sebze-meyve dezenfektanı olarak da kullanılabilir ticari bir yüzey dezenfektanı olan Halamid® ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, üzüm sirkesi tüm mikroorganizmalara karşı 12.5-50 µg/mL minimum inhibisyon konsantrasyonu değerinde antimikrobiyel etki göstermiştir. Ek olarak, Halamid® ve elma sirkesi *C. albicans* üzerinde inhibe edici bir etki göstermezken, üzüm sirkesi göstermiştir.

SİRKENİN ÜLSERATİF KOLİT ÜZERİNE ETKİSİ

Ülseratif kolit (ÜK) dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen gastrointestinal sistemin kronik iltihabıdır (Shen vd., 2016). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarından biridir. ÜK'li hastalarda bir tedavi şekli olarak tıbbi beslenme tedavisi uygulanabilmektedir (Köseler, 2016). Tıbbi beslenme tedavisi, kişilerin protein, yağ, mineral, vitamin ve karbonhidratları barındıran yiyecekleri dengeli ve yeterli öğünlerle tüketme becerisi kazanmalarınıdır (Bayrak, 2014).

Yapılan bir çalışmada (Shen vd., 2016), sirke ve sirkenin aktif bileşeni olan asetik asidin, farelerde ÜK üzerindeki önleyici etkileri incelenmiştir. Çalışma kapsamında uygulanan sirke (% 5 v/v) veya asetik asit (% 0.3 v/v) tedavisi, hastalık aktivitesi indeksini ve bununla ilişkili histopatolojik skorları, örneğin, zayıflatılmış vücut ağırlığı kaybını önemli ölçüde azaltmıştır. Ek olarak, uygulamalar sonucunda, dekstran sülfat sodyum tarafından indüklenen bir deneysel fare kolit modelinde toplam kolon uzunluğunun kısaldığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, sirkenin Th1 ve Th17 yanıtını, NLRP3 enflamatorünü ve MAPK sinyal aktivasyonunu baskılayarak enflamasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sirke ayrıca, kolit fare modelinde endoplazmik retikulum (ER) stres kaynaklı apoptozu da inhibe etmiştir. Bu çalışma ile sirkenin koruyucu etkisinin, yalnızca ana bileşeni olan asetik asidin anti-enflamatuvar etkilerinden değil aynı zamanda ER stresi kaynaklı apoptozun önlenmesinden de kaynaklandığı gösterilmiştir. Ek olarak, sirkenin, farelerin bağırsak mikrobiyotasını da düzenleyebilme fonksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar neticesinde, diyetle sirke takviyesinin, ÜK' nin önlenmesi için yeni bir diyet stratejisi olarak düşünülebileceği gösterilmiştir. Ancak, Wasnik vd., (2016) tarafından yayınlanan durum raporunda ise ÜK sahibi hastaların sirkeden uzak durması gerektiği tavsiye edilmektedir.

SİRKE ÜZERİNE YAPILAN VAKA ARAŞTIRMALAR

Yapılan bir vaka çalışmasında (Kako vd., 2017), 5 gün boyunca sürekli olarak hıçkırık, 66 yaşındaki,

mide kanseri olan hastaya, % 4.2 asit içerikli tahıl sirkesinin (0.1 ml) nazal yoldan uygulanmasının hastanın hıçkırığını kısa süre içerisinde bitirdiği gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile ileri derecede kanser olan hastalarda sirkenin nazal yoldan uygulanmasının kalıcı/devamlı hıçkırıklara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Hıçkırıklardan gelen bu rahatlamanın, bu hasta popülasyonunda yaşam kalitesini artırabileceği belirtilmiştir. Bununla birlikte, nazal olarak uygulanan sirkenin etkilerini doğrulamak için daha ileri vaka serileri ve müdahale çalışmaları yapılması gerekmektedir. Sirke tüketiminin ağır kanserli hastalarda hıçkırığa iyi geldiği hakkında yapılan diğer bir vaka çalışması ise Silvia ve Flavia (2015) tarafından gerçekleştirilmiştir. Yukarıda bahsedilen çalışma ile benzer olarak, bu çalışmada da sirke tüketiminin hıçkırığı geçirmede olumlu bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yakın zamanda yayınlanan bir diğer vaka çalışmasında ise, fazla miktarda sirke tüketmiş olan 5 yaşında bir erkek çocuğunun ani bir kalp rahatsızlığı sonucu hayatını kaybettiği rapor edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, çok fazla sirke tüketiminin ölümcül olabileceği gösterilmiştir (Shields vd., 2016).

Atik vd., (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, elma sirkesi, varis rahatsızlığı bulunan kişiler üzerinde varisli bölge üzerine uygulanmış ve hastalar üzerinde etkisi incelenmiştir. Çalışma kapsamında 120 hasta ile çalışılmıştır. Hastalar kramp, ağrı, bacak yorgunluğu algısı, ödem, kaşıntı, pigmentasyon ve bacadaki ağırlık hissi gibi çeşitli parametreler açısından değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, elma sirkesinin varisli bölgeye uygulanması, belirtilen parametreler üzerinde pozitif etki yaratarak, hastalar üzerinde olumlu etki sağlamıştır.

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında son 10 yıllık literatür verileri ele alınarak çeşitli sağlık parametreleri üzerinde sirke tüketiminin etkisi incelenmiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar neticesinde, sirke tüketiminin insülin duyarlılığını iyileştirdiği, abdominal yağlanmanın oluşmasını önlemede

katkı sağladığı, toplam kolesterol değerini iyileştirdiği, kalp-dostu bir gıda olduğu, çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel etki gösterdiği, antikanserojenik aktivite sergilediği, oksidatif strese karşı etkili bir ajan olabileceği ve karaciğer sağlığı üzerine olumlu etkilerde bulunabileceği gösterilmiştir. Ancak, sirkenin sağlık üzerine pozitif etkilerinden kesin olarak bahsedilmek için daha geniş katılımlı, uzun süreli ve iyi tasarlanmış kontrollü çalışmaların farklı insan grupları üzerinde de yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abe, K., Kushibiki, T., Matsue, H., Furukawa, K. I., Motomura, S. (2007). Generation of antitumor active neutral medium-sized α -glycan in apple vinegar fermentation. *Biosci Biotechnol and Biochem*, 71(9), 2124-2129. doi: <https://doi.org/10.1271/bbb.60670>
- Akbaş, M., Cabaroğlu, T. (2010). Ülkemizde üretilen bazı üzüm sirkelerinin bileşimleri ve gıda mevzuatına uygunlukları üzerine bir araştırma. *Gıda*, 35(3), 183-188.
- Ali, Z., Ma, H., Ayim, I., Wali, A. (2018a). Efficacy of new beverage made of dates vinegar and garlic juice in improving serum lipid profile parameters and inflammatory biomarkers of mildly hyperlipidemic adults: A double-blinded, randomized, placebo-controlled study. *J Food Biochem*, 42(5), e12545. doi:10.1111/jfbc.12545
- Ali, Z., Ma, H., Wali, A., Ayim, I., Rashid, M. T., Younas, S. (2018b). A double-blinded, randomized, placebo-controlled study evaluating the impact of dates vinegar consumption on blood biochemical and hematological parameters in patients with type 2 diabetes. *Trop J Pharm Res*, 17(12), 2463-2469. doi:<http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v17i12.23>
- Ali, Z., Ma, H., Wali, A., Ayim, I., Sharif, M. N. (2019). Daily date vinegar consumption improves hyperlipidemia, β -carotenoid and inflammatory biomarkers in mildly hypercholesterolemic adults. *J Herb Med*, 100265. doi:<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100265>
- Altunbaş, E., Zencir, E. (2018). Türk ve Akdeniz yemeklerinde sirke kullanımı. *Journal of Gastronomy, Hospitality and Travel*, 1(2), 45-54.
- Anonim. (2009). Türkiye'de kanser kontrolü, Editör: A. Murat, Tuncer. Ankara, T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı.
- Anonim. (2014). Türkiye kanser istatistikleri. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Ankara.
- Atik, D., Atik, C. Karatepe C. (2016). The effect of external apple vinegar application on varicosity symptoms, pain, and social appearance anxiety: A randomized controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med*, vol. 2016, Article ID 6473678, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2016/6473678>.
- Baldas, B., Altuner, E. M. (2018). The antimicrobial activity of apple cider vinegar and grape vinegar, which are used as a traditional surface disinfectant for fruits and vegetables. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series C*, 27(1), 1-10. doi: 10.1501/commuc_0000000187
- Bayrak, M., E. 2014. Diyabette "tıbbi beslenme tedavisi". *Ekonomik Forum*. 246, 34-35.
- Beh, B. K., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Ky, H., Boo, S. Y., Chua, J. Y. H., Alitheen, N. B. (2017). Anti-obesity and anti-inflammatory effects of synthetic acetic acid vinegar and Nipa vinegar on high-fat-diet-induced obese mice. *Sci. Rep.*, 7(1), 6664. doi:10.1038/s41598-017-06235-7
- Bozdemir, E., Taşlı, M. (2018). Hastalık maliyet analizinin bibliyometrik ve doküman açısından incelemesi. *Konuralp Tıp Dergisi*, 10(3), 408-419. doi: 10.18521/ktd.449264
- Budak, H. N., Güzel-Seydim, Z. B. (2010). Sirke üretimi ve bazı fonksiyonel özellikleri. *Gıda Teknolojisi*, 14(11), 85-88.
- Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional properties of vinegar. *J Food Sci*, 79(5), R757-R764. doi: 10.1111/1750-3841.12434.
- Budak, N. H., Kumbul Doguc, D., Savas, C. M., Seydim, A. C., Kok Tas, T., Ciris, M. I., Guzel-Seydim, Z. B. (2011). Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on

- blood lipids in high-cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem*, 59(12), 6638-6644. doi:10.1021/jf104912h
- Bulutlar, O. N. (2015). Diyabet hastalarına beslenme açısından yaklaşım. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 31(Ek sayı), 39-44. doi:10.5222/otd.2015.039
- Chen, H., Chen, T., Giudici, P., Chen, F. (2016). Vinegar functions on health: Constituents, sources, and formation mechanisms. *Compr Rev Food Sci F*, 15(6), 1124-1138. doi:10.1111/1541-4337.12228
- Chen, J., Tian, J., Ge, H., Liu, R., Xiao, J. (2017). Effects of tetramethylpyrazine from Chinese black vinegar on antioxidant and hypolipidemia activities in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol*, 109, 930-940. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.017
- Chou, C.-H., Liu, C.-W., Yang, D.-J., Wu, Y.-H. S., Chen, Y.-C. (2015). Amino acid, mineral, and polyphenolic profiles of black vinegar, and its lipid lowering and antioxidant effects *in vivo*. *Food Chem*, 168, 63-69. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.035
- Doğer, L., Armağan, E. (2014). Bizans döneminde Prousa (Bursa) ve çevresinde gündelik beslenme üzerine bir deneme. *Sanat Tarihi Dergisi*, 23(2), 13-48.
- Ghazzi, M., Porto-Fett, A. C. S., Ayaz, N. D., Ozansoy, G., Çufaoğlu, G., Goncuoğlu, M., Luchansky, J. B. (2018). Microbiological characterization of çiğ köfte sold at retail in Ankara, Turkey, and evaluation of selected antimicrobials as ingredients to control foodborne pathogens in çiğ köfte during refrigerated storage. *Food Control*, 84, 138-147. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.033
- Halima, B. H., Sonia, G., Sarra, K., Houda, B. J., Fethi, B. S., Abdallah, A. (2018). Apple cider vinegar attenuates oxidative stress and reduces the risk of obesity in high-fat-fed male Wistar rats. *J Med Food*, 21(1), 70-80. https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0039
- Henley, S. C., Launchi, N., Quinlan, J. J. (2018). Survival of Salmonella on raw poultry exposed to 10% lemon juice and vinegar washes. *Food Control*, 94, 229-232.
- Ho, C. W., Lazim, A. M., Fazry, S., Zaki, U. K. H. H., Lim, S. J. (2017). Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food Chem*, 221, 1621-1630.
- Kako, J., Kobayashi, M., Kanno, Y., Tagami, K. (2017). Intranasal vinegar as an effective treatment for persistent hiccups in a patient with advanced cancer undergoing palliative care. *J Pain Symptom Manage*, 54(2), e2-e4. doi:10.1016/j.jpainsymman.2017.02.011
- Karim, N., Jeenduang, N., Tangpong, J. (2018). Anti-glycemic and anti-hepatotoxic effects of Mangosteen vinegar rind from garcinia mangostana against HFD/STZ-induced type II diabetes in mice. *Pol. J. Food Nutr. Sci*, 68(2), 163. doi:https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0018
- Kausar, S., Abbas, M., A., Ahmad H., Yousef N., Ahmed Z., Humayun N., Ashfaq H. Humayun, A. (2019). Effect of apple cider vinegar in type 2 diabetic patients with poor glycemic control: A randomized placebo controlled design. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 8(2): 149-159
- Khezri, S. S., Saidpour, A., Hosseinzadeh, N., Amiri, Z. (2018). Beneficial effects of apple cider vinegar on weight management, visceral adiposity index and lipid profile in overweight or obese subjects receiving restricted calorie diet: A randomized clinical trial. *J Funct Foods*, 43, 95-102. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.003
- Kırcı, H. (2017). Güvem (*Prunus spinosa*) meyvesinden fonksiyonel sirke üretimi. (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Kohn, J. B. (2015). Is vinegar an effective treatment for glycemic control or weight loss? *J Acad Nutr Diet*, 115(7), 1188. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2015.05.010
- Köseler, E. (2016). Ülseratif kolitte nutrisyon. *Güncel Gastroenteroloji*, 20(3), 263-266.

- Lim, J., Henry, C. J., Haldar, S. (2016). Vinegar as a functional ingredient to improve postprandial glycemic control—human intervention findings and molecular mechanisms. *Mol Nutr Food Res*, 60(8), 1837-1849. doi:10.1002/mnfr.201600121
- Merdol, T. K. (2016). Beslenme ve diyetetik biliminin dünü, bugünü ve geleceği. *İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 1(1), 1-5.
- Mitrou, P., Petsiou, E., Papakonstantinou, E., Maratou, E., Lambadiari, V., Dimitriadis, P., Dimitriadis, G. (2015). The role of acetic acid on glucose uptake and blood flow rates in the skeletal muscle in humans with impaired glucose tolerance. *Eur J Clin Nutr*, 69, 734. doi:10.1038/ejcn.2014.289
- Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Abu, N., Lim, K. L., Zamberi, N. R., Nordin, N., Alitheen, N. B. (2019). In vitro and in vivo antitumour effects of coconut water vinegar on 4T1 breast cancer cells. *Food Nutr Res*, 63(1616). doi:https://doi.org/10.29219/fnr.v63.1616
- Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Beh, B.-K., Ky, H., Lim, K. L., Ho, W. Y., Alitheen, N. B. (2018). Coconut water vinegar ameliorates recovery of acetaminophen induced liver damage in mice. *BMC Complement Altern Med*, 18(1), 195. doi:10.1186/s12906-018-2199-4
- Mohammadghasemi, F., Abbasi, M., Rudkhaneci, K., Aghajany-Nasab, M. (2018). Beneficial effect of apple vinegar on reproductive parameters in male rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Andrologia*, 50(8), e13065. doi:10.1111/and.13065
- Mota, A. C., Castro, R. D., Araújo Oliveira, J., Oliveira Lima, E. (2015). Antifungal activity of apple cider vinegar on candida species involved in denture stomatitis. *J Prosthodont*, 24: 296-302. doi:10.1111/jopr.12207
- Öztürk, S. (2015). Kara havuçtan sirke üretimi üzerine araştırma. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi, Ankara
- Pazuch, C. M., Siepmann, F. B., Canan, C., Colla, E. (2015). Vinegar: functional aspects. *Cientifica*, 43(4), 302-308. doi: http://dx.doi.org/10.15361/1984-5529.2015v43n4p302-308
- Rağbetli, C. (2009). Hiperlipidemi. *Van Tıp Dergisi*, 16(1), 43-47.
- Seydim, A. C., Guzel-Seydim, Z. B., Doguc, D. K., Savas, M. C., Budak, H. N. (2016). Effects of grape wine and apple cider vinegar on oxidative and antioxidative status in high cholesterol-fed rats. *Functional Foods in Health and Disease*, 6(9), 569-577.
- Shen, F., Feng, J., Wang, X., Qi, Z., Shi, X., An, Y., Liu, B. (2016). Vinegar treatment prevents the development of murine experimental colitis via inhibition of inflammation and apoptosis. *J Agric Food Chem*, 64(5), 1111-1121. doi:10.1021/acs.jafc.5b05415
- Shields, L. B. E., Rolf, C. M., Hunsaker, J. C. (2016). Sudden death due to forced ingestion of vinegar. *Forensic Sci Int*, 266, e23-e26. doi:https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.06.031
- Shishehbor, F., Mansoori, A., Shirani, F. (2017). Vinegar consumption can attenuate postprandial glucose and insulin responses; a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Diabetes Res Clin Pract*, 127, 1-9. doi:https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.01.021
- Silvia, G., Flavia, G. (2015). Use of vinegar to relieve persistent hiccups in an advanced cancer patient. *J Palliat Med*, 18(5), 467-470. doi:10.1089/jpm.2014.0391
- Siddiqui, F. J., Assam, P. N., de Souza, N. N., Sultana, R., Dalan, R., Chan, E. S.-Y. (2018). Diabetes control: Is vinegar a promising candidate to help achieve targets? *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*. https://doi.org/10.1177/2156587217753004
- Solak, İ. (2008). Osmanlı İmparatorluğu döneminde Anadolu'da meyve ve sebze üretimi. *Selçuk Üniversitesi Türkiyat Araştırmaları Dergisi*, 24, 217-251.
- Souza, G. C., Spinosa, W. A., Oliveira, T. C. (2018). Sanitizing action of triple-strength vinegar against *Escherichia coli* on lettuce. *Hortic Bras*, 36(3), 414-418.
- Şengün, İ. Y., Kılıç, G. (2018). Dut sirkesinin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal, antiradikal ve

- antimikrobiyal özellikleri. *Akademik Gıda*, 16(2), 168-175. doi:10.24323/akademik-gıda.449860
- Şengün, İ. Y., Kılıç, G. (2019). Farklı sirke çeşitlerinin mikroflorası, biyoaktif bileşenleri ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(1), 89-101. doi:10.24323/akademik-gıda.544831
- Tosun, İ., Karadeniz, B. (2005). Çay ve çay fenoliklerinin antioksidan aktivitesi. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 20(1), 78-83.
- Wasnik, S., Ghodke, A., Sulakhe, V. (2016). Curative Ayurvedic approach to Ulcerative colitis -A case report. *J Ayurveda Integr Med Sci*, 1(2), 108-111. doi:http://dx.doi.org/10.21760/jaims.v1i2.3675
- Whitehead, K. A. (2016). A cage for pathogens. *Sci. Transl. Med.*, 8(331), 331ec349-331ec349. doi:10.1126/scitranslmed.aaf6418
- Xia, T., Zhang, J., Yao, J., Zhang, B., Duan, W., Xia, M., Wang, M. (2018a). Shanxi aged vinegar prevents alcoholic liver injury by inhibiting CYP2E1 and NADPH oxidase activities. *J Funct Foods*, 47, 575-584. doi:https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.018
- Xia, T., Zhang, J., Yao, J., Zhang, B., Duan, W., Zhao, C., Wang, M. (2018b). Shanxi aged vinegar protects against alcohol-induced liver injury via activating Nrf2-mediated antioxidant and inhibiting TLR4-induced inflammatory response. *Nutrients*, 10(7), 805. doi: 10.3390/nu10070805
- Yamashita, H. (2016). Biological function of acetic acid—improvement in obesity and glucose tolerance by acetic acid in type 2 diabetic rats. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 56(sup1), S171-S175. doi:10.1080/10408398.2015.1045966
- Young-Hee, P., Ji-Young, H., Ki-Seung, S. (2018). Hypouricemic and antioxidant effects of soy vinegar extracts in hyperuricemic mice. *J Med Food*, 21(12), 1299-1305. doi:10.1089/jmf.2018.4181
- Yusoff, N. A., Yam, M. F., Beh, H. K., Abdul Razak, K. N., Widyawati, T., Mahmud, R., Asmawi, M. Z. (2015). Antidiabetic and antioxidant activities of *Nypa fruticans* Wurm. vinegar sample from Malaysia. *Asian Pac J Trop Med*, 8(8), 595-605. doi:https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.07.015
- Zhu, Y., Zhang, F., Zhang, C., Yang, L., Fan, G., Xu, Y., Sun, B. Li, X. (2018). Dynamic microbial succession of Shanxi aged vinegar and its correlation with flavor metabolites during different stages of acetic acid fermentation. *Sci. Rep.*, 8(1), 8612. doi:10.1038/s41598-018-26787-6
- Zou, B., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Yu, Y., Fu, M. (2018). Persimmon vinegar polyphenols protect against hydrogen peroxide-induced cellular oxidative stress via Nrf2 signalling pathway. *Food Chem*, 255, 23-30.

MODİFİYE ATMOSFER (MA) PAKETLENMİŞ KIRLANGIÇ (*Chelidonichthys lucerna* Linnaeus, 1758) SOTENİN KALİTE ÖZELLİKLERİ

Bengünur Çorapçı*, Demet Kocatepe

Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Akliman, Sinop, Türkiye

Geliş / Received: 17.06.2019; Kabul / Accepted: 09.10.2019; Online baskı / Published online: 06.11.2019

Çorapçı, B., Kocatepe, D. (2019). Modifiye atmosfer (MA) paketlenmiş kırlangıç (*Chelidonichthys lucerna* Linnaeus, 1758) sotenin kalite özellikleri. *GIDA* (2019) 44 (6): 1059-1070 doi: 10.15237/gida.GD19093.

Çorapçı, B., Kocatepe, D. (2019). The quality characteristics of tub gurnard (*Chelidonichthys lucerna* Linnaeus, 1758) saute packaged with modified atmosphere (MA). *GIDA* (2019) 44 (6): 1059-1070 doi: 10.15237/gida.GD19093.

ÖZ

Bu çalışmada modifiye atmosfer (MA) paketlenmiş kırlangıç sotenin besin kompozisyonu, fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik özellikleri ve raf ömrü araştırılmıştır. Sotenin protein, yağ, nem, kül, karbonhidrat ve enerji değerleri sırasıyla; 12.14 g/100g, 7.62 g/100g, %71.55, %2.56, %6.13 ve 141.63 kcal/100 g olarak bulunmuştur. pH değeri depolama başı (0.gün) 6.28, depolama sonu (20. gün) 7.36 olarak tespit edilmiştir. Su aktivitesi değerleri 20 günlük depolama boyunca 0.95 olarak ölçülmüştür (P>0.05). TBARS ve TVB-N değerleri 20 günlük depolama boyunca su ürünlerinde sınır değer olarak kabul edilen tüketilebilirlik değerlerini aşmamıştır. *L**, *a** ve *b** değerleri 20. gün sırasıyla; 67.62, 5.00, 25.31 olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak; 150°C'de, toplamda 20 dk. süre ile pişirilen, % 60 CO₂/ % 40 O₂ oranlarında MA ile paketlenen ve +4±1°C'de 20 gün depolamaya alınan kılçıksız kırlangıç balığı sotesinin tüketici için tavsiye edilebilir raf ömrü, spesifik bozulma bakterilerinin artışı göz önünde tutularak 16 gün olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kırlangıç balığı, sote, MA paketlenme, raf ömrü

THE QUALITY CHARACTERISTICS OF TUB GURNARD (*Chelidonichthys lucerna* Linnaeus, 1758) SAUTE PACKAGED WITH MODIFIED ATMOSPHERE (MA)

ABSTRACT

In this study, nutritional composition, physical, chemical, microbiological properties and shelf life of MA packaged tub gurnard saute were investigated. Protein, fat, moisture, ash, carbohydrate and energy values of saute were found as 12.14 g/100g, 7.62 g/100g, 71.55%, 2.56%, 6.13% and 141.63 kcal/100 g, respectively. The pH value was 6.28 (day 0) and 7.36 at the end of storage (day 20). Water activity values were measured as 0.95 during storage time (P>0.05). TBARS and TVB-N values did not exceed the consumption limit values which admitted as limit values on seafoods during 20 days. *L**, *a** and *b** values were measured as 67.62, 5.00, 25.31 (day 20). As a result, it was determined advisable shelf life of saute for consumer that cooked at 150°C for 20 min, MA packaged ratios % 60CO₂/% 40O₂ and stored at +4±1°C during 20 day as 16 day when considering the increase of specific degradation bacteria.

Keywords: Tub gurnard, saute, modified atmosphere package, shelf life

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: bengucorapci@hotmail.com

☎: (+90) 368 287 6265

☎: (+90) 368 287 6268

GİRİŞ

Kırlangıç balıkları (*Chelidonichthys lucerna*, Linnaeus, 1758) Akdeniz, Karadeniz ve Doğu Atlantik okyanusu boyunca Norveç'ten Batı Afrika kıyılarına kadar dağılım gösteren demersal türlerdendir. Çoğunlukla kumlu, çamurlu ya da çakıllı dip sularında 20-300 m arasında değişen derinliklerde yaşarlar (Richards ve ark., 1990; İşmen ve ark., 2004). Kırlangıç balığı ile ilgili olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde genel olarak; yaş, büyüme ve üreme durumlarının bölgesel olarak tespiti (İşmen ve ark., 2004; İlhan ve Toğulga, 2007; Boudaya ve ark., 2008; Mc Carthy ve Marriott, 2018) vücut büyüklüğü, cinsel olgunluk ve beslenme (Vallisneri ve ark., 2011), genetik ve morfolojisi (Uyan ve Turan, 2017) gibi konuların araştırıldığı görülmektedir. Bununla beraber, kırlangıç balığının kültür ortamında yetiştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur (Polat ve Çakmak, 2012; Roncarati ve ark., 2013; Kerim ve ark., 2014; Roncarati ve ark., 2016).

MA paketleme, taze ya da minimal işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır. Bunların dışında balık ve diğer su ürünleri gibi kolay bozulabilen ürünlerin raf ömrünün artırılmasında sıklıkla uygulanmaktadır (Ravi-Sankar *et al.*, 2008; Masniyom, 2011). Su ürünlerinin paketlenmesinde kullanılan başlıca gazlar CO₂, O₂ ve N₂ gazlarıdır (Sivertsvik, 2002a). Balık ve su ürünlerinin paketlenmesinde en yaygın kullanılan gaz olan CO₂ (Kirtel *et al.*, 2016; Tsironi ve Taoukis, 2018) mikrobiyel gelişmeyi inhibe edici etkiye sahiptir. CO₂ konsantrasyonları mikrobiyal gelişmenin inhibisyonunda önemli bir rol oynar ve *Pseudomonas* spp. ve *S. putrefaciens* gibi organizmaların gelişimini geciktirmektedir (Sivertsvik, 2002a; Walsh and Kerry, 2012; Tsironi ve Taoukis, 2018). Kılıç balığı (*X. gladius*) (Giatrakou ve ark., 2008), kömür balığı (*P. virens*) (Lerfall ve ark., 2018), berlam balığı (*M. merluccius*) (Carrión-Granda ve ark., 2018) ve tilapya (*O. niloticus*) (Wang ve ark., 2019) filetolarının MA paketlenmesi için çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Tüketime hazır ürünlere olan talep, günümüzde yaşam tarzı değişiklikleri ve tüketicilerin çabuk ve kolay hazırlanan gıdalara yönelmesiyle artmıştır. MA paketlenmiş tüketime hazır ürünlerin yüksek kalitelerini korumak için genellikle soğuk

muhafaza koşulları korunarak dağıtımları sağlanmaktadır. Bu tip gıdalarda depolama koşullarının tasarımı ve raf ömrünün artırılması için MA paketlemenin depolama üzerine etkilerinin anlaşılması önem taşımaktadır (Lee ve ark., 2008). Literatürde tüketime hazır istiridye (Costa ve ark., 2014), karides (Rutherford ve ark., 2007) ve kalamar halkalarının (Sanjua's-Rey, 2012) MA paketlenmesi üzerine yapılan çalışmalara rastlanılmıştır. Bir başka çalışmada ise Speranza ve ark. (2009) pişirmeye hazır kolyoz (*S. japonicus*), kırlangıç (*T. lucerna*), berlam balığı (*M. merluccius*) ve mürekkep balığı (*S. officinalis*)'nı MA paketlenmiş, duyu ve mikrobiyolojik kalite değişimlerini incelemiştir. Ancak kırlangıç balığının işlenmesi ve tüketime hazır hali ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Velioglu ve ark., (2015)'in bildirdiği gibi, kırlangıç balığı hakkında literatürde çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Kırlangıç balığı ekonomik değeri yüksek, beyaz etli bir balık türüdür. Kültür ortamında yetiştiriciliğe uygun bir balık olması göz önünde bulundurulduğunda (Kerim ve ark., 2014), gelecek yıllarda işlenmesi ve pazara sunulması söz konusu olabilecektir. Bu durumda özellikle çorba, buğulama, ızgara gibi çeşitli şekillerde sevilerek tüketilen kırlangıç balığının su ürünleri işleme sektörüne katma değer sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada; su ürünlerinin MA paketlenmesinde sıklıkla kullanılan gaz oranları olan % 60 CO₂/% 40 O₂ kullanılmış (Sivertsvik ve ark., 2002a), $\pm 4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanan tüketime hazır kırlangıç balığı sotesinin besin kompozisyonu ile kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, Karadeniz'de (Sinop) 2018 yılında avlanmış ortalama boyları 41.73 ± 0.51 cm ve ağırlıkları 752.91 ± 63.32 g olan kırlangıç balıkları kullanılmıştır. Balıklar, kırılmış buz içeren polistren balık kutusu ile laboratuvara getirilmiş, baş, iç organ temizliği yapılmış kırlangıç balıklarının kılıksız filetosu çıkarılmıştır. Elde edilen filetolar yıkanmış ve suyu sızdırılmıştır. Toplamda yaklaşık 642 g fileto elde edilmiştir.

Kırlangıç Sotenin Hazırlanması

Piştirme işlemi için 42 x 13 cm kapaklı elektrikli bir pişirici (Arnica 409) kullanılmıştır. Kullanılan malzemelerden % 7.63 soğan ve % 4.47 biber, % 3.27 sıvıyağ ve % 5.01 tereyağında yaklaşık 5 dk. kavurulmuştur. Daha sonra % 0.39 sarımsak ilave edilmiş ve 1 dk. kadar kavurmaya devam edilmiştir. Sırasıyla; % 22.91 domates, % 18.82 patates, % 35.02 kırlangıç balığı ilave edilmiş ve bir süre daha pişirmeye bırakılmıştır. % 0.43 karabiber, % 0.43 tuz, % 1.36 maydanoz ve % 0.26 defne yaprağı ilavesinden sonra 2 dk. kadar pişirilmiştir. Piştirme işlemi 150°C'de, toplamda 20 dk. süre ile gerçekleştirilmiştir.

Paketleme ve Depolama

Piştirme işleminden sonra kırlangıç sotenin oda sıcaklığına kadar soğuması beklenmiştir. 30x21 cm ebatlarında paketlere (O₂ geçirgenliği 47.60 mL/m²/gün, nem geçirgenliği 3.48 g/m²/gün) ortalama 98.94±4.59 g olacak şekilde konulmuş ve ürün gaz oranı 1:3 olacak şekilde % 60 CO₂/% 40 O₂ oranlarında MA ile paketlenmiştir. Paketleme sonrası örnekler +4±1°C'de 20 gün depolamaya alınmıştır.

Besin kompozisyonu analizleri

Örneklerin protein miktarı Buchi SpeedDigester K-436 marka yakma ünitesi ve Buchi K-350 destilasyon cihazı kullanılarak, AOAC (1980a)'e göre belirlenmiştir. Ham yağ analizi AOAC (1980)'de belirtilen metot esas alınarak yarı otomatik Gerhardt marka yağ tayin cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Kül tayini Protherm marka kül fırını ile yapılmıştır (AOAC, 1980b). Nem miktarının tespiti Ludorf ve Meyer (1973)'e göre gerçekleştirilmiş, Nüve FN500 marka etüv kullanılmıştır. Karbonhidrat ve enerji değerlerinin belirlenmesi için Falch ve ark., (2010) metodu esas alınarak hesaplanmıştır. Besin kompozisyonu analizleri taze örnekte, depolama başı (0.gün) ve sonu (20. gün) olmak üzere 2 tekerrür, 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal analizler

Toplam Uçucu Bazik Azot miktarı Antonacopoulos tarafından modifiye edilen Lucke and Geidel metoduna göre yapılmıştır (Hall, 1992). Tiyobarbitürik asit tayini ise Erkan

ve ark. (2011)'e göre gerçekleştirilmiştir. Örnekler 2 tekerrür, 3 paralel şekilde çalışılmıştır.

Fiziksel analizler

Örneklerin pH ölçümü pH metre (Werkstätten 82362, Weilheim) ile yapılmıştır. 1/10 oranında homojenize örnek/distile su cam baget yardımıyla karıştırılmış daha sonra pH metrenin probu karışıma daldırılarak ölçüm gerçekleştirilmiştir. Su aktivitesi ölçümleri ise Novasina LabSwift su aktivitesi ölçüm cihazı kullanılarak AOAC (1980)'e göre belirlenmiştir. Renk ölçümleri için Konica Minolta/CR-A33a renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. pH ve su aktivitesi örnekleri 2 tekerrür ve 2 paralel, renk ölçümleri ise 2 tekerrür 4 paralel şekilde çalışılmıştır.

Gaz ölçüm analizleri

Paketlenen örneklerin paket içerisindeki gaz miktarını belirlemek için her analiz öncesinde gaz ölçümleri Witt Oxybaby, Germany marka gaz ölçüm cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Paket içi gaz ölçümünden sonra, paket yüzeyi % 70'lik etil alkolle silinmiş ve steril spatula yardımı ile steril kaplar içerisine laminar kabin içerisinde 10 g örnek alınmıştır. Örnekler 90 mL pepton çözeltilisi içerisinde seyreltilmiş ve ardından 10⁻¹.....10⁻⁶ oranlarındaki dilüsyonlara 0.1 mL ekim yapılmıştır. Anaerob bakteri ekimi için ise 10 g balık eti ayrılarak 90 mL % 0.1 Pepton from casein, % 0.05 Cystein chloride monohydrate, % 0.85 NaCl içeren seyreltme çözeltilisinden dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Toplam mezofil aerob ve psikrofil bakteri sayımı AOAC (2000)'a göre; toplam mezofil anaerob bakteri, toplam Koliform, Toplam maya küf, *E. coli* ve *Staphylococcus aureus* sayımı Halkman (2005)'e göre; laktik asit bakterileri ve H₂S üreten bakteriler (*Shewanella putrefaciens* dâhil) Ravi Sankar vd. (2008) ile Kostaki ve ark., (2009)'a göre; laktik asit bakterileri ve *Brochetrix thermosphacta* Stamatis ve Arkoudelos (2007)'e göre yapılmıştır. Tüm mikrobiyolojik analizler 2 tekerrür 2 paralel olarak uygulanmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

İstatistik analizler

Tüm veriler % 95 güven aralığında değerlendirilmiş olup, istatistik analizler (Varyans analizleri ve Tukey testleri) Minitab Versiyon 17.0.2 ile gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA**Besin kompozisyonu**

Çalışmada kullanılan kırlangıç balığının ham protein, ham yağ, ham kül, nem ve enerji değerleri ile MA paketlenmiş tüketime hazır kırlangıç sotenin deneme başı ve deneme sonu verileri Çizelge 1’de verilmiştir. Karadeniz’den Mayıs ayında avlanan doğal kırlangıç balığının ham protein, ham yağ, ham kül ve nem içeriği sırasıyla; % 16.46, % 0.85, % 1.76 ve % 77.46 olarak tespit edilmiştir. Küçükgülmez ve ark. (2010) Kuzeydoğu Akdeniz kıyılarından bahar mevsiminde avlanan *C. lucernus*’un ham protein, ham yağ, ham kül ve nem içeriğini sırasıyla; % 19.50, % 0.26, % 1.35 ve % 78.34 olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada kırlangıç balığının besin kompozisyonu kış ve bahar aylarında da incelenmiş ve en düşük yağ içeriği bahar aylarında tespit edilmiştir. Ersoy (2006) Kuzeydoğu Akdeniz’den avlanan kırlangıç balığının ham

protein içeriğini mayıs ayında % 20.04, ham yağ içeriğini ise % 0.24 olarak bildirmiştir. Çalışmamızdan görüldüğü gibi Karadeniz’den aynı mevsimde avlanan balığın yağ oranı daha yüksektir. Özoğul ve ark. (2007) çalışmamızda kullandığımız kırlangıç balığının farklı bir türü olan *T. lucerna*’nın ham yağ içeriğini % 1.59 olarak bildirmektedir. Kırlangıç balığı “az yağlı” bir balıktır. % 0.5’den az yağ içeren balıklar “yağsız”, % 0.5-2 oranında yağ içeren balıklar “yarı-yagli”, % 2’den fazla yağ içeren balıklar ise “yagli” balık olarak sınıflandırılmaktadır (Clucas ve Ward 1996). Çalışmamızda kırlangıç balığı Karadeniz’den avlanan çarpan balığından (Kaya ve Kocatepe 2014) daha yüksek oranda protein ve yağ içerirken; hamsi, çinekop, barbun gibi balıklardan daha fazla miktarda protein içermektedir. Bununla beraber, bu balıklara kıyasla oldukça az oranda yağ içermektedir (Kocatepe ve Turan 2012). Çiğ kırlangıç balığının enerji içeriği 87.39 kcal olarak hesaplanmış olup, bu değer Karadeniz’den avlanan yağlı balıklara kıyasla oldukça düşüktür. Kırlangıç balığının enerji içeriği Karadeniz’den avlanan çarpan balığı ile (82.84 Kcal) (Kocatepe ve ark. 2012) ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 1. Kırlangıç balığı sotesine ait besin kompozisyonu analiz sonuçları

Table 1. Nutrient composition analysis results of tub gurnard saute

Depolama süresi (günler) Storage time (days)	Ham protein Crude protein (g/100g)	Ham yağ Crude fat (g/100g)	Nem Moisture (%)	Ham kül Crude ash (%)	Karbonhidrat Carbohydrate (%)	Enerji Energy (kcal/100g)
Çiğ (Raw)	16.46±0.11 ^a	0.85±0.06 ^c	77.46±0.12 ^a	1.76±0.10 ^b	3.48±0.20 ^b	87.39±0.31 ^c
0	12.14±0.28 ^b	7.62±0.33 ^b	71.55±0.09 ^c	2.56±0.06 ^a	6.13±0.27 ^a	141.63±2.16 ^b
20	13.49±0.54 ^b	9.65±0.06 ^a	73.28±0.11 ^b	1.83±0.05 ^b	1.75±0.53 ^c	147.77±0.76 ^a

±Standart hata. Aynı sütunda günler arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

±Standard error. Different letters between days are statistically significant in the same column. ($P < 0.05$).

Kırlangıç balığının pişirilme sürecinde içine eklenen katkılar ürünün ham protein ve nem içeriğinde düşüşe sebep olurken, ham yağ ve ham kül miktarında oransal olarak artış gözlenmiştir. Balığa eklenen sıvı yağ ve tereyağı ham yağ içeriğinde artışa sebep olmuştur. Pişirme işlemi ile ürün nem kaybetmiştir. Karbonhidrat değeri pişirme ile artmış ancak depolamanın son günü

azalmıştır ($P < 0.05$). Sote kırlangıç yemeğinin enerji içeriği 141.63 kcal/100g olarak hesaplanmış olup, ürünün bir porsiyonu (200g) yaklaşık 283 kcal’dır. MA paketlenerek 20 gün süresince buzdolabı koşullarında saklanan ürünün, depolama süresi sonundaki ham protein içeriğinde istatistik olarak önemsiz bir artış gözlenmiştir ($P > 0.05$). Paketlenmiş ürünün 0.

güne kıyasla nem içeriği ve ham yağ içeriği artmıştır ($P<0.05$). CO_2 'nin suda ve yağda çözünürlüğü fazladır; sıcaklık düşüşü ile birlikte CO_2 'in suda çözünürlüğü artar (Jay 2000); ve karbonik asit oluşur (Sivertsvik ve ark. 2002b). Çalışmamızda MA paketlenmiş sote kırlangıç yemeğinin nem içeriğindeki artışın sebebi zamanla CO_2 çözünmesinin artmasından kaynaklanabilir.

Fiziksel ve kimyasal analizler

MA paketlenmiş kırlangıç sotesinin depolama süresince paket içi gaz oranları, pH, su aktivitesi,

TBARS ve TVB-N değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Kırlangıç sotesinin paket içi karbondioksit (CO_2) oranının depolama süresince azaldığı görülmüştür. Depolama başında (0. gün) $\% 49.20\pm 1.00$ olan CO_2 değeri, depolamanın son gününde (20. gün) $\% 10.05\pm 2.45$ olarak ölçülmüştür. Bu durumun karbondioksitin, karbonik asidin artışıyla ilgili olarak kas içerisinde sıvı formda çözülmesiyle meydana gelmiş olabileceği söylenebilir (Banks ve ark., 1980; Masniyom, 2011).

Çizelge 2. Kırlangıç balığı sotesine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları
Table 2. Physical and chemical analysis results of tub gurnard saute

Depolama süresi (günler) Storage time (days)	Paket içi CO_2 Oranı (%) Ratio of CO_2 in package (%)	pH pH	Su aktivitesi Water activity	TBARS (μg MDA/g) TBARS (μg MDA/g)	TVB-N (mg/100 g) TVB-N (mg/100 g)
Çiğ		7.45 ± 0.07^a	0.94 ± 0.00^b	0.71 ± 0.01^c	14.87 ± 0.10^{bc}
0	49.20 ± 1.00^a	6.28 ± 0.01^c	0.95 ± 0.00^b	1.74 ± 0.04^{bc}	9.79 ± 0.06^c
4	33.85 ± 3.95^{ab}	6.07 ± 0.03^d	0.95 ± 0.00^b	2.38 ± 0.24^{ab}	21.24 ± 0.00^{ab}
8	21.20 ± 2.90^{bc}	6.27 ± 0.04^{cd}	0.95 ± 0.00^b	2.98 ± 0.16^a	21.96 ± 0.28^{ab}
12	15.90 ± 3.40^c	6.54 ± 0.07^c	0.95 ± 0.00^b	2.43 ± 0.10^{ab}	20.53 ± 0.88^{ab}
16	10.40 ± 2.70^c	7.00 ± 0.10^b	0.95 ± 0.00^b	1.78 ± 0.12^b	23.57 ± 3.19^a
20	10.05 ± 2.45^c	7.36 ± 0.07^a	0.95 ± 0.00^b	2.14 ± 0.19^b	26.18 ± 1.32^a

\pm Standart hata. Aynı sütunda günler arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

\pm Standard error. Different letters between days are statistically significant in the same column. ($P < 0.05$).

Çiğ kırlangıç balığına ait pH değeri 7.45 ± 0.07 olarak ölçülmüş olup, bu değer kırlangıç sotesinde 0. günde 6.28 ± 0.01 değerine düşmüştür. Depolamanın 4. gününden itibaren ise yükselmeye başlamış ve 20. günde 7.36 ± 0.07 olarak tespit edilmiştir. Karbondioksitin üründe bulunan suda çözünerek karbonik asit oluşumu ile pH'yı düşürdüğü bildirilmiştir (Siverstik, 2002a). Paketlemeden sonra görülen pH düşüşünün bu durum ile ilgili olduğu söylenebilir. Depolamanın 12. gününden sonra yükselmeye başlayan pH değerleri ise tazeliğin kaybolduğunun bir belirtisi sayılabilir (Şengör ve ark., 2000). Lerfall ve ark., (2018) taze kömür balığı (*P. virens*)'nın pH değerini 7.00 olarak bildirmişler ve MA ile paketlenen balığın pH değerinin depolama süresince farklı MA gazlarından önemli derecede etkilendiğini bildirmişlerdir. Su aktivitesi değeri çiğ kırlangıç

balığında 0.94 ± 0.00 olarak ölçülmüş, bu değer kırlangıç sotede 20 günlük depolama süresince 0.95 ± 0.00 değerinde sabit kalmıştır ($P>0.05$).

TBARS değerindeki artış, esas olarak enzimatik hidroliz ve otooksidasyon ile ilgilidir (Halldorsdottir ve ark., 2013) ve O_2 içeriğinin otooksidasyonu etkilediği bildirilmiştir (Zhu ve ark., 2018). Çiğ kırlangıç balığının TBARS değeri $0.71\pm 0.01 \mu g$ MDA/g olarak belirlenmiştir. Kırlangıç sotesinin 0. günü bu değer $1.74\pm 0.04 \mu g$ MDA/g olarak ölçülmüş, depolamanın son günü (20.gün) ise $2.14\pm 0.19 \mu g$ MDA/g'a yükselmiştir. Ancak su ürünlerinde tüketilebilirlik sınır değeri olan 7-8 mg MDA/kg (Varlık ve ark., 1993) değerini aşmamıştır.

Bununla beraber; TBARS değerlerinin depolama süresince MDA, aminoasitler, proteinler, glikoz ve diğer balık bileşenleri arasındaki çeşitli etkileşimler nedeniyle gerçek yağ oksidasyonu oranını temsil etmediği bildirilmiştir (Fernandez ve ark., 1997; Giatrakou ve ark., 2008). Bu anlamda çalışmamızda sote yapımında kullandığımız sebze ve baharat içeriklerinin TBARS değerlerini etkilemiş olduğu söylenebilir. Giatrakou ve ark., (2008) kekik esansiyel yağı ve MA paketleme ile çeşitli şekillerde paketledikleri kılıç balığının, aerobik ortamda, MA paketleme ve buz içerisinde 18 gün depolanmışlardır. Buna göre; grupların TBARS değerlerinin değişken olduğu ve paketleme işlemine bakılmaksızın spesifik bir belirleyici olmadığını ifade etmişlerdir. Sanjua' s-Rey ve ark. (2012) kekik otu ve kekik esansiyel yağlarını tüketime hazır kalamar halkalarına uygulayıp, MA ile paketlenmişlerdir. Buna göre; +4°C'de 14 gün depolanan kalamar halkalarının TBARS değerlerinin tüm gruplarda oldukça düşük olduğu bildirilmiştir.

Kırlangıç balığının TVB-N değeri 14.87±0.10 mg/100 g olarak ölçülmüştür. Kırlangıç sotenin 0. günü bu değer 9.79±0.06 mg/100 g'a düşmüş ve depolamanın 20. günü 26.18±1.32 mg/100 g'a yükselmiştir. Su ürünlerinde tazelik ve tüketilebilirlik durumuna göre TVB-N değeri açısından (Varlık ve ark., 1993) kırlangıç sotenin kalitesini değerlendirdiğimizde depolamanın 20. günü ürünün 'iyi' kalitede olduğu söylenebilir.

Kaba ve ark., (2013) çalışmamızla benzer içeriğe sahip alabalıktan elde edilen kokoreci plastik kaplarda (MA kullanmadan) +4°C'de

depolanmışlardır. Duyusal olarak bozulmanın gerçekleştiği depolamanın 5. gününde ürünün TVB-N değeri 24.10 mg/100 g olarak bildirilmiştir. Bu değer çalışmamızda MA ile paketlenen kırlangıç sotenin 20. gün TVB-N değerine yakın bulunmuştur.

TVB-N değerinin hızlı yükselmesinin, mikrobiyel yükün artmasının bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Özoğul ve ark., 2004). Çalışmamızda 4, 16 ve 20. gün TVB-N ve mikrobiyolojik değerler incelendiğinde özellikle toplam bakteri yükünün TVB-N ile paralel bir şekilde artış gösterdiği görülmektedir.

Kırlangıç balığı sotesine ait renk analizi sonucu elde edilen L^* , a^* ve b^* değerleri Çizelge 3'te verilmiştir. Çiğ kırlangıç balığına ait L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 61.36±0.25, 3.85±0.11 ve 6.42±0.09 olarak ölçülmüştür. Kırlangıç soteye ait 0. gün değerleri ise sırasıyla; 70.71±0.75, 5.57±0.61 ve 23.55±0.74 olarak belirlenmiştir. 20 günlük depolama süresince ürünün renk değerlerinin L^* 65.90±1.33-70.78±1.33 arasında, a^* 5.00±0.28-8.08±0.25 arasında ve b^* 23.31±1.01-25.31±0.91 arasında değişim gösterdiği gözlenmiştir. Literatürde MA ile paketlenmiş çeşitli balık türlerine ait renk değerlerinin incelendiği çalışmalar (Zhu ve ark., 2018; Wang ve ark., 2019) mevcuttur. Ancak çalışmamızda kırlangıç balığına ek olarak çeşitli sebze ve baharat katkıları kullanılarak elde edilen sotenin renk değerlendirmesinin kıyaslanabileceği çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle elde edilen verilerin gelecekte yapılacak benzer çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çizelge 3. Kırlangıç balığı sotesine ait renk (L^* , a^* , b^*) analiz sonuçları

Table 3. Color (L^* , a^* , b^*) analysis results of tub gurnard saute

	L^*	a^*	b^*
Çiğ Raw	61.36±0.25 ^c	3.85±0.11 ^b	6.42±0.09 ^b
0	70.71±0.75 ^a	5.57±0.61 ^{ab}	23.55±0.74 ^a
4	69.73±1.60 ^{ab}	6.14±0.72 ^{ab}	23.38±0.63 ^a
8	68.67±0.37 ^{ab}	5.80±0.76 ^{ab}	24.50±0.32 ^a
12	65.90±1.33 ^{bc}	8.08±0.25 ^a	24.49±0.91 ^a
16	70.78±1.33 ^a	5.26±0.77 ^b	23.31±1.01 ^a
20	67.62±0.85 ^{ab}	5.00±0.28 ^b	25.31±0.91 ^a

±Standart hata. Aynı sütunda günler arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

±Standard error. Different letters between days are statistically significant in the same column. ($P < 0.05$).

Mikrobiyolojik analizler

Su ürünlerinde bozulmalar fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak gerçekleşir. Özellikle balıktaki fiziksel değişiklikler deneyimli panelistlerce kolayca anlaşılabilir. Avlanma anında başlayan bozulma çevresel faktörlerinde etkisi ile hızlanır. Özellikle mikrobiyolojik bozulma üzerine balığın başlangıç mikroorganizma yükü ve cinsi, av zamanı, bölge, suyun kirlilik durumu, av metodu ve av araçları, muhafaza koşulları, transfer koşulları ve işleme yöntemleri etkilidir (Jayasinghe ve Rajakaruna 2005).

Çiğ kırlangıç balığı ve MA paketlenmiş kırlangıç balığının depolama süresince toplam mezofil ve psikrofil aerob, toplam maya küf, toplam koliform, *B. thermosphacta* ve H₂S üreten (*S. putrefaciens dahil*) mikroorganizmalara ait veriler Çizelge 4'te verilmiştir. Çiğ kırlangıç balığının TMAB, TPAB, TMK, TKB, BrT, ve H₂S üreten bakteri sayıları sırasıyla; 3.48 log kob/g, <1 log kob/g, 2.55 log kob/g, 2.35 log kob/g, 3.44 log kob/g ve <1 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Çiğ kırlangıç balığının mikroflorasında baskın türlerin BrT>TMK>TKB olduğu söylenebilir.

Çiğ balık etinin TMAB bakteri yükü uygulanan ısı işlem ile birlikte 1.96 log kob/g düşmüştür (P<0.05). MA paketleme işlemi ile birlikte kırlangıç sotenin TMAB yükü 12. güne kadar istatistiksel açıdan değişmemiştir (P<0.05). Paketlemede kullanılan CO₂ gazı aerob bakteri gelişimini baskılamıştır. 12. günden itibaren ise TMAB yükü artmaya başlamış, 20. günde ise maksimum değere ulaşmıştır (5.64 log kob/g). Benzer şekilde psikrofil aerob bakteri yükü pişirme işlemi ile birlikte <1 log kob/g'a düşmüş, ardından zamanla artarak deneme sonunda 4.91 log kob/g'a ulaşmıştır. Pek çok araştırmacı tarafından CO₂ miktarının bakteri gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Turan ve Kocatepe 2013; Kocatepe ve ark. 2016; Lerfall ve ark., 2018). Benzer şekilde çalışmamızda da hem mezofil hem de psikrofil aerob bakteri gelişimi yavaştır. Toplam bakteri sayısı >6-7 log kob/g değerine ulaştığında, su ürünlerinde bozulmanın başlayabileceği bildirilmiştir (Poli ve ark. 2006).

Çiğ kırlangıç balığının başlangıç toplam maya-küf sayısı 2.55 log kob/g iken pişirme ile bu değer 1.96 log kob/g'a kadar düşmüş 12. güne kadar da istatistiksel olarak önemli bir artış olmamıştır (P>0.05). Depolamanın sonunda kadar TMK sayısı 4 log kob/g'ı aşmamıştır.

Koliform grubu bakteriler balıkların solungaç ve bağırsaklarında bulunabilen bakteri türleridir ve ısı işlemle inaktif hale gelirler. Çiğ kırlangıçın başlangıç TKB sayısı 2.35 log kob/g iken pişirme işleminin etkisi ile <1 log kob/g'a düşmüş, 20. güne kadar da artış olmamıştır (P>0.05).

BrT'nin gelişebilmesi için en uygun pH aralığı 5-9 pH'dır (Anonim 2010a). Çalışma başında çiğ kırlangıç balığı florasında bulunan BrT ısı işlem ve eklenen katkıların pH'yı düşürmesine bağlı olarak 1 log kob/g'ın altına düşmüştür. 12. günden itibaren ise artış göstererek depolama süresi sonunda 4.03 log kob/g'a ulaşmıştır.

Kırlangıç sotenin yapıldığı ilk günde ve MA depolamasını izleyen süreçte H₂S üreten bakteriler 12. güne kadar oldukça düşük seviyelerdeyken 12. günden itibaren artış göstermiş ancak 2.50 log kob/g'ı geçmemiştir. Adams ve Moss (2008) soğukta saklanan balıklarda dominant bakteri türlerinin *S. putrefaciens* gibi psikrofil gram negatif çubuk bakteriler olduğunu bildirmektedir. Gıdaların duyuşal bozulma noktasında, bozulmada rol oynayan ancak istenmeyen değişikliklere sebep olmayan mikroorganizmaların oluşturduğu mikroflora Gram ve ark. (2002) tarafından spesifik bozulma organizması (ları) (Specific Spoilage Organism(s)-SSO) olarak adlandırılmıştır. *Shewanella*, *Lactobacillus*, *Brochothrix*, *Enterobacter*, *Staphylococcus* gibi mikroorganizma cinsleri taze ve bozulmuş su ürünlerinde bulunan SSO'lar arasında bulunur (Jay 2000; Nollet ve Toldra 2009). Çalışmamızda BrT çiğ kırlangıç etinde 3.44 log kob/g düzeyinde tespit edilmiş ancak MA paketlenmiş ürünün 12. gününe kadar 1 log kob/g'ın altında kalmıştır. Depolama süresi sonunda da 4.03 log kob/g tespit edilmiştir. Çalışmamızda da olduğu gibi Nollet ve Toldra (2009)'da özellikle MA paketlenerek soğukta muhafaza edilen ürünlerde BrT bakterilerinin zamanla arttığını belirtmiştir.

SSO'lar dışında ESO olarak adlandırılan Geçici Bozulma Organizmaları (Ephemeral Spoilage Organism) da ürünlerin taşıma, işleme ve depolama aşamalarına bağlı olarak ortaya çıkarlar (Anonim 2010b). Nollet ve Toldra (2009) MA paketlenen ürünlerdeki spesifik ESO'lar arasında Laktik asit bakterileri ve BrT'nin yer aldığını bildirmiştir. Ancak çalışma süresince hem çiğ üründe hem de MA paketlenen üründe laktik asit bakterileri tespit edilememiştir. Benzer şekilde Françoise (2010) MAP uygulanarak paketlenen su ürünlerinde laktik asit bakterilerinin bozulma üzerine çok etkili olmadığını özellikle marine

balık, tuzlu balık ya da soğuk dumanlanmış balık vb. gibi ürünlerde etkili olduğunu vurgulamıştır.

Çalışma süresince hem çiğ kırlangıç balığında hem de MA paketlenmiş ürünlerde TAB, *E. coli* ve *S. aureus* tespit edilememiştir.

Tüm mikrobiyolojik analiz sonuçları incelendiğinde MA paketlenmiş kırlangıç balığının 20 günlük depolama süresi boyunca gözlemlenen spesifik organizma türlerinden en baskınının *B. thermosphacta*, ardından toplam maya küf ve H₂S üreten bakteriler (*S. putrefaciens* dahil) olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4. Kırlangıç balığı sotesine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

Table 4. Microbiological analysis results of tub gurnard saute (log cfu/g)

	TMAB	TPAB	TMK	TKB	BrT	H ₂ S üreten bakteriler*
Çiğ Raw	3.48±0.44 ^{bc}	<1±0.00 ^e	2.55±0.11 ^c	2.35±0.09 ^a	3.44±0.07 ^b	<1±0.00 ^c
0	1.96±0.00 ^d	<1±0.00 ^e	1.96±0.00 ^d	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c
4	2.35±0.09 ^d	2.26±0.00 ^d	1.96±0.00 ^d	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c
8	2.66±0.00 ^{cd}	2.86±0.05 ^c	2.11±0.15 ^d	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c	<1±0.00 ^c
12	3.69±0.02 ^b	3.19±0.09 ^b	3.31±0.03 ^b	<1±0.00 ^c	3.29±0.10 ^b	2.35±0.09 ^{ab}
16	4.18±0.04 ^b	3.37±0.05 ^b	3.65±0.03 ^{ab}	<1±0.00 ^c	3.99±0.02 ^a	2.26±0.00 ^b
20	5.64±0.03 ^a	4.91±0.01 ^a	3.91±0.00 ^a	1.96±0.00 ^b	4.03±0.06 ^a	2.50±0.06 ^a

±Standart hata. Aynı sütunda günler arasındaki farklı harfler istatistiksel açıdan önemlidir ($P < 0.05$).

±Standard error. Different letters between days are statistically significant in the same column. ($P < 0.05$).

*TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, *Total mesophilic aerobic bacteria*; TPAB: Toplam psikrofilik aerobik bakteri, *Total psychrophilic aerobic bacteria*; TMK: Toplam maya- küf, *Total yeast-mold*; TKB: Toplam koliform bakteri, *Total coliform bacteria*; TAB: Toplam anaerobik bakteri, *Total anaerobic bacteria*; *E. coli*: *Escherichia coli*; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; BrT: *B. thermosphacta*; *H₂S üreten bakteriler (*S. putrefaciens* dâhil).

SONUÇ

Su ürünleri mikrobiyal kontaminasyona karşı oldukça hassas gıdalardır. Yüksek nem içerikleri ve düşük bağ doku miktarları nedeniyle hızlıca bozulan su ürünlerinin raf ömrünü artırmak amacıyla pek çok yöntem denenmektedir. Son yıllarda artan hızlı ve hazır gıda tüketim alışkanlıkları ile birlikte hayatımıza giren MA paketlenme teknolojisi, su ürünlerinde çiğ ve pişmiş ürünlerde uygulanmaktadır. Çalışmamızda ise kırlangıç balığına ilk kez tüketime hazır “ısıt-ye MA paketlenme kırlangıç sote” olarak uygulanan bu yöntem yenilik arz etmektedir. Çalışma süresince yapılan tüm analizler dikkate alındığında kırlangıç balığının yüksek protein düşük yağ içeriği

ile diyet bir besin kaynağı olduğu, MA paketlenen “ısıt-ye kırlangıç sotenin” tüketici için tavsiye edilebilir raf ömrü, SSO'ların artışı göz önünde tutularak 16 gün olarak önerilebilir.

KAYNAKLAR

Adams, M.R., Moss, M.O. (2008). *Food Microbiology*. RSC Publishing. 463s. ISBN: 978-0-85404-284-5.

Anonim (2010a). http://www.arrowscientific.com.au/Brochothrix_thermosphacta.html. (Erişim tarihi: 22 Haziran 2010).

- Anonim (2010b). http://www.meat-ims.org/symposium_proceeding.pdf. 18p. (Erişim tarihi: 22 Haziran 2010).
- AOAC (1980). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp.
- AOAC (1980a). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp.
- AOAC (1980b). Official Methods of Analysis. In: Horwitz W, editor. Animal Feed. 13th ed. USA; 125 pp.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis. 17th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, USA.
- Banks, H., Nickelson, R., Finne, G. (1980). Shelf life studies on carbon dioxide packaged finfish from the Gulf of Mexico. *J. Food Sci.*, 45:157-162, doi:10.1111/j.1365-2621.1980.tb02566.x.
- Boudaya, L., Neifar, L., Rizzo, P., Badalucco, C. Bouain A., Fiorentino, F. (2008). Growth and reproduction of *Chelidonicichthys lucerna* (Linnaeus) (Pisces: Triglidae) in the Gulf of Gabe` s, Tunisia. *J. Appl. Ichthyol.*, 24:581–588, doi:10.1111/j.1439-0426.2008.01095.x.
- Carrión-Granda, X., Fernández-Pan, I., Rovira , J., Maté, J. I. (2018). Effect of antimicrobial edible coatings and modified atmosphere packaging on the microbiological quality of cold stored hake (*M. merluccius*) filets. *Hindawi Journal of Food Quality*. doi:10.1155/2018/6194906.
- Clucas, I.J., Ward, A.R. (1996). *Post-harvest fisheries development: a guide to handling, preservation, processing and quality*. Natural Resources Institute. 353 s. ISBN:0-85954-441-9.
- Costa, C., Conte, A., Del Nobile, M.A. (2014). Effective preservation techniques to prolong the shelf life of ready-to-eat oysters. *J Sci Food Agric.*, 94(13): 2661–2667, doi: 10.1002/jsfa.6605.
- Erkan, N., Üretener, G., Alpas, H., Selcuk, A., Özden, Ö., Buzrul, S. (2011). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on physicochemical properties of horse mackerel (*T. trachurus*). *Food Bioprocess Technol.*, 4(7):1322–1329, doi: 10.1007/s11947-010-0415-4.
- Ersoy, B. (2006). Kuzeydoğu Akdeniz (Adana/Karataş) bölgesinde avlanma mevsiminde tüketilen balıkların besin kompozisyonu ve ağır metal içerikleri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 155 s.
- Falch, E., Overrien, I., Solberg, C., Slizyte, R. (2010). Composition and calories. In: *Seafood and seafood product analysis*, Nollet, LML and Toldrá, F., eds, CRC Press, Florida. pp. 257-288.
- Fernandez, J., Perez-Alvarez, I.A., Fernandez-Lopez, J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.*, 59(3):345–53, doi:10.1016/S0308-8146(96)00114-8.
- Françoise, L. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiol.*, 27(6): 698-709, doi: 10.1016/j.fm.2010.05.016.
- Gitrakou, V., Kykkidou, S., Papavergou, A., Kontominas, M.G., Savvaidis, I.N. (2008). Potential of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A comparative study with ice storage. *J. Food Sci.*, 73(4):167-173, doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00729.x.
- Gram L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B., Givskov, M. (2002). Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *Int J Food Microbiol.*, 78(1-2):79-97, doi:10.1016/S0168-1605(02)00233-7.
- Hall, GM. (1992). *Fish Processing Technology*. Blackie Academic Professional, New York, USA. ISBN: 978-1-4613-1113-3.
- Halldorsdottir, S. M., Kristinsson, H. G., Sveinsdottir, H., Thorkelsson, G., Hamaguchi, P. Y. (2013). The effect of natural antioxidants on haemoglobin-mediated lipid oxidation during enzymatic hydrolysis of cod protein. *Food Chem.*, 141(2):914-919, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.03.101.

- Halkman, A.K. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi. 358 s. ISBN:975-00373-0-8.
- İlhan Uçkun, D., Toğulga, M. (2007). Age, growth and reproduction of tub gurnard *Chelidonichthys lucernus* Linnaeus, 1758 (Osteichthyes: Triglidae) from İzmir Bay, Aegean Sea, Eastern Mediterranean. *Acta adriat.*, 48(2): 173 – 184.
- İşmen, A., İşmen, P., Başusta, N. (2004). Age, Growth and reproduction of tub gurnard (*Chelidonichthys lucerna* L. 1758) in the Bay of İskenderun in the Eastern Mediterranean. *Turk J Vet Anim Sci.*, 28, 289-295.
- Jay, J.M. (2000). Food preservation with modified atmospheres. In: *Modern Food Microbiology*, Aspen publishers, pp 283-300.
- Jayasinghe, P.S., Rajakaruna, R.M.A.G.G. (2005). Bacterial contamination of fish sold in fish markets in the central province of Sri Lanka, *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka*, 33(3):219-221, doi:10.4038/jnsfsr.v33i3.2328.
- Kaba, N., Çorapçı, B. Eryaşar, K. (2013). Production of kokoreç from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) and determination of shelf life. *BIBAD*, 6(2): 6-10.
- Kaya Y., Kocatepe D. (2014). Chemical composition and nutritional quality of scorpion fish (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758) muscle. *Indian Journal of Anim. Research.*, 48(1):83-87, doi:10.5958/j.0976-0555.48.1.018.
- Kerim, M., Ayvaz, B., Kaya, D., Ustaoglu Tırl, S., Baki, B. (2014). Kırlangıç balığı (*Chelidonichthys lucerna* L., 1758)'nın kültür ortamına adaptasyonu üzerine bir çalışma. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 29(1):14-20.
- Kirtıl, E., Kilercioğlu, M., Oztop, M. H. (2016). Modified Atmosphere Packaging of Foods. In: *Reference Module in Food Sciences*. Elsevier. Amsterdam, Netherlands: ISBN: 9780081005965.
- Kocatepe D., Turan H. (2012). Proximate and fatty acid composition of some commercially important fish species from the Sinop region of the Black Sea. *Lipids*. 47(6):635-641, doi: 10.1007/s11745-012-3658-1.
- Kocatepe, D., Turan, H., Altan C.O., Keskin İ., Ceylan A. (2016). Effect of modified atmosphere packaging on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) mince. *Food Sci. Technol. Int.*, 22(4):343-352, doi: 10.1177/1082013215601771.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) filets. *Food Microbiol.*, 26(5):475-482, doi: 10.1016/j.fm.2009.02.008.
- Küçükgülmez A., Çelik M., Ersoy B., Yanar Y. (2010). Effects of season on proximate and fatty acid compositions of two mediterranean fish-the round herring (*E. teres*) and tub gurnard (*C. lucernus*). *J. Food Sci. Technol.* 45(5):1056-1060, doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02237.x.
- Lee, K.E., Kim, H.J., An, D.S., Eun Soon Lyu, E.S., Lee, D.S. (2008). Effectiveness of modified atmosphere packaging in preserving a prepared ready-to-eat food. *Packag. Technol. Sci.*, 21(7): 417–423, doi:10.1002/pts.821.
- Lerfall, J., Thomassen, G.M.B., Jakobsen, A.N. (2018). Quality of fresh saithe (*P. virens*) in modified atmosphere packages as affected by the gas composition. *Food Packaging and Shelf Life*, 18(4): 147–156, doi:10.1016/j.fpsl.2018.11.006.
- Ludorf, W., Meyer, V. (1973). *Fishe und fisherzeuge*. Z.Auflage. Verlag Paul Parey In Berlin und Hamburg; pp. 209-210.
- Masnıyom, P. (2011). Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 33 (2):181-192.
- McCarthy, I.D., Marriott, A.L. (2018). Age, growth and maturity of tub gurnard (*C. lucerna* Linnaeus 1758; Triglidae) in the inshore coastal waters of Northwest Wales, UK. *J Appl Ichthyol.*, 34(3):581–589, doi: 10.1111/jai.13614.
- Nollet, L.M.L., Toldrá, F. (2009). *Handbook of seafood and seafood product analysis*. CRC Press. Taylor& Francis Group. Boca Raton. New York, 928 p. ISBN: 13: 978-1420046335.

- Özoğul, F., Polat, A., Özoğul, Y. (2004). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*S. pilchardus*). *Food Chem.*, 85(1):49–57, doi:10.1016/j.foodchem.2003.05.006.
- Özoğul Y., Özoğul F., Alagöz S. (2007). Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chem.*, 103(1):217–223, doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.009.
- Polat, H., Çakmak, E. (2012). Kültür şartlarına adapte edilen kırlangıç balığı (*C. lucerna Linnaeus, 1758*)'ndan döl alımı. *Yunus Araştırma Bülteni*, (4):1-5, doi:10.17693/yunusae.v2012i21907.235428.
- Poli, M. B., Messini, A., Parisi, G., Scappini, F., Vigiani, V., Giorgi, G., Vincenzini, M. (2006). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*D. labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air of prepared from whole fish stored in ice. *Int J Food Sci Technol.*, 41(4):444–454, doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01094.x.
- Ravi-Sankar, C.N., Lalitha, K.V., Jose, L., Manju, S. and Gopal, T.K.S. (2008). Effect of packaging atmosphere on the microbial attributes of pearlspot (*E. Suratensis, Bloch*) stored at 0–2°C. *Food Microbiol.*, 25(3):518–528, doi:10.1016/j.fm.2007.12.003.
- Richards, W.J., Saksena, V.P. (1990). Triglidae. In: *Check-List of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic (CLOFETA)*. Quero, J. C., Hureau, J. C., Karrer, C.A.P., Saldanha, L. (Eds). JNICT, Lisbon: SEI, Paris and UNESCO, Paris, (2):680–684.
- Roncarati, A., Mariotti, F., Felici, A., Meligrana M., Melotti P. (2016). Suitability of artisanal fishery discards as feed for juvenile tub gurnard (*C. lucerna L.*) reared in sea bottom cages in the mid Adriatic Sea. *Medit. Mar. Sci.*, 17(3): 644–650, doi:10.12681/mms.1750.
- Roncarati, A., D'Andrea, M., Pilla, F., Felici, A., Melotti, P. (2013). Tub gurnard *Chelidonichthys lucerna L.*: a new fish species suitable for farming? First answers evaluating the growth of juveniles reared at different stocking densities, welfare and fillet quality. *Aquaculture Research*, 44:1140–1151, doi:10.1111/j.1365-2109.2012.03238.x.
- Rutherford, T.J., Marshall, D.L., Andrews, L.S., Coggins, P.C., Schilling, M.W., Gerard, P. (2007). Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. *Food Microbiol.*, 24(7-8): 703–710, doi: 10.1016/j.fm.2007.03.011.
- Sanjua's-Rey, M., Pourashouri, P., Velazquez, J.B., Aubourg, S.P. (2012). Effect of oregano and thyme essential oils on the microbiological and chemical quality of refrigerated (4°C) ready-to-eat squid rings. *Int J Food Sci Technol.*, 47(7): 1439–1447, doi:10.1111/j.1365-2621.2012.02991.x.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K., Rosnes, J.T. (2002a). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products—Significance of microbial growth, activities and safety. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 37(2):107–127, doi:10.1046/j.1365-2621.2002.00548.x.
- Sivertsvik, M., Rosnes, J.T., Bergslien, H. (2002b). Modified atmosphere packaging. In: *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, Ohlsson, T., Bengtsson, N. (ed.). CRC Press, Boston, New York Washington, DC, pp 61–86.
- Speranza, B., Corbo, M.R., Conte, A., Sinigaglia, M., Del Nobile, M.A. (2009). Microbiological and sensorial quality assessment of ready-to-cook seafood products packaged under modified atmosphere. *J Food Sci.*, 74(9):473–478, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01369.x.
- Stamatis, N., Arkoudelos, S.J. (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*, 18(4):292–300, doi:10.1016/j.foodcont.2005.10.009.
- Şengör, G.F., Çelik, U., Akkuş, S. (2000). Buzdolabı koşullarında depolanan istavrit balığı (*T. trachurus, L. 1758*)'nın tazelinin ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi. *Türk J Vet Anim Sci.*, 24(3):187–193.
- Tsironi, T.N., Taoukis, P.S. (2018). Current practice and innovations in fish packaging. *J*

- Aquat Food Prod T.*, 27(10):1024–1047, doi:10.1080/10498850.2018.1532479.
- Turan H., Kocatepe D. (2013). Different MAP conditions to improve the shelf life of sea bass. *Food Sci Biotechnol.*, 22(6):1589-1599, doi:10.1007/s10068-13-0255-x.
- Uyan, A, Turan, C. (2017). Genetic and morphological analyses of tub gurnard *C. lucerna* populations in Turkish marine waters. *Biochem. Syst. Ecol.*, 73:35-40, doi:10.1016/j.bse.2017.06.003.
- Vallisneri, M., Stagoni, M., Montanini, S., Tommasini, S. (2011). Body size, sexual maturity and diet in *C. lucerna* (Osteichthyes: Triglidae) from the Adriatic Sea, north eastern Mediterranean. *Acta adriat.*, 51(1): 141 – 148.
- Varlık, C., Ugur, M., Gokoglu, N., Gun, H. (1993). *Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 17, Ayrıntı Matbaası, Ankara. 174s.
- Velioğlu, H.M., Tümay Temiz H., Boyacı, İ.H. (2015). Differentiation of fresh and frozen-thawed fish samples using Raman spectroscopy coupled with chemometric analysis. *Food Chem.*, 172:283-290, doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.073.
- Walsh, H., Kerry, J. P. (2012). Packaging of ready-to-serve and retail-ready meat, poultry and seafood products. In: *Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging*. Kerry, J. P., (Ed.) Cambridge, UK: Woodhead Publishing, pp 406–436.
- Wang, Z.C., Yan, Y., Fang, Z., Nisar, T., Sun, L., Guo, Y. Xia, N., Wang, H., Chen, D.W. (2019). Application of nitric oxide in modified atmosphere packaging of tilapia (*O. niloticus*) fillets. *Food Control*, 98:209–215, doi:10.1016/j.foodcont.2018.11.043.
- Zhu, Z., Gao, H., Gao, T., Sun, D.W. (2018). Quality comparison of grass carp and salmon fillets packaged in modified atmosphere with different composite films. *J Food Process Eng.*, doi: 10.1111/jfpe.12803.



**THE EFFECT OF DIFFERENT ULTRASOUND POWERS TREATMENT
ON SOME QUALITY PARAMETERS OF SARDINES (*SARDINA PILCHARDUS*)
PACKED IN VACUUM PACKAGING**

Hatice Gündüz^{1*}, Şükriye Aras Hisar², Fethah Gündüz³

¹Fisheries Faculty, Izmir Katip Celebi University, Çiğli, İzmir, Turkey

²Faculty of Marine Sciences and Technology, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

³Graduate School of Natural and Applied Sciences, Izmir Katip Celebi University, Çiğli, İzmir, Turkey

Received / Geliş: 31.07.2019; Accepted / Kabul: 25.10.2019 Published online / Online baskı: 12.11.2019

Gündüz, H., Aras Hisar, Ş., Gündüz, F. (2019). The effect of different ultrasound powers treatment on some quality parameters of sardines (*Sardina pilchardus*) packed in vacuum packaging. *GIDA* (2019) 44 (6) 1071-1080 doi: 10.15237/gida.GD19114

Gündüz, H., Aras Hisar, Ş., Gündüz, F. (2019). Farklı güçte ultrases uygulamalarının vakum paketlenen sardalya balıklarının (*Sardina pilchardus*) bazı kalite parametreleri üzerine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (6) 1071-1080 doi: 10.15237/gida.GD191145

ABSTRACT

In this study, the effect of different ultrasound powers treatment (200 W/L, 300 W/L, 500 W/L) on the chemical, microbiological and physical quality parameters of sardine fillets (*Sardina pilchardus* W.,1972) packed in vacuum packaging were investigated. The determination of quality parameters were studied to be performed by using pH, TVB-N, TBAR's analyses and various microbiological analyses and by evaluating texture properties and water activity changes in 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, and 14th day of storage. Consequently, it was observed to use of 200 W/L ultrasound delayed microbial spoilage and gave better results compared to the other groups in terms of hardness of product ($P < 0.05$). The fact that use of ultrasound technology in seafood didn't effect negatively connective tissue of product and had positive effect on microbial load show that this technology can be developed and used in seafood.

Keywords: Ultrasound technology, sardine fish, vacuum packaging, TBARs, TVB-N.

**FARKLI GÜÇTE ULTRASES UYGULAMALARININ VAKUM PAKETLENEN
SARDALYA BALIKLARININ (*Sardina pilchardus*) BAZI KALİTE
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

ÖZ

Bu çalışmada farklı güçte ultrases uygulamalarının (200 W/L, 300 W/L, 500 W/L) vakum ambalajlanmış sardalya balığı filetolarının (*Sardina pilchardus* W.,1972) kimyasal, mikrobiyel ve fiziksel kalite parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12. ve 14. günlerde pH, TVB-N, TBAR's analizleri ile mikrobiyolojik analizler yapılmış ve su aktivitesi ile tekstür özelliklerinin değişimleri de değerlendirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlardan 200 W/L yoğunlukta ultrases kullanımının mikrobiyal bozulmayı geciktirdiği ve ürünlerin sertlik özelliği açısından diğer gruplara kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). Ultrases teknolojisinin su ürünlerinin bağ dokusunu olumsuz yönde etkilemediği ve mikrobiyel yük üzerine olumlu etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, ultrases teknolojisinin su ürünlerinde geliştirilerek kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Keywords: Ultrases teknolojisi, sardalya balığı, vakum paketlenme, TBARs, TVB-N

* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ hatice.gunduz1@ikcu.edu.tr

☎ + 90 (282) 232 329 3535/4215

☎ + 90 (282) 250 9929

INTRODUCTION

Increased consumer interest in a proper lifestyle in nutrition and attention to the quality of foods it contributed to them consumer's towards to seafood (Cortesi et al., 2009). Seafood meat is a great food in terms of protein quality and nutritional value (Göğüş and Kolsarıcı, 1992). However, seafoods are among the products that can deteriorate rapidly after death due to their rich nutrient content and high pH level and the high amount of water they contain (Li et al., 2011). The processing techniques have to be applied in these products to prevent spoilage and to consume them for a longer period. Methods such as drying, salting, smoking, cooling, freezing are used in the preservation of seafood from past to present (Hall, 2012).

Today, researchers are researching on new technologies that products can maintain properties for a longer period, do not harm the taste and nutritional properties of the products, and do not use heat treatment. These technologies, which do not use heat treatment (non-thermal); high pressure application, irradiation technology, pulsed electric field, pulsed white light technology, ultraviolet application and ultrasound technology (Ohlsson and Bengtsson, 2002). High intensity ultrasound offers an alternative to traditional methods of food preservation, and is considered as a green and promising emerging technology. Ultrasound is an acoustic energy; it is a non-invasive, non-ionized, and non-polluting form of mechanical energy. It is considered an emerging method with a great potential to control, improve, and accelerate processes without damaging the quality of food (Alarcon-Rojo et al., 2019).

High intensity ultrasound waves can be used alone and in combination with other preservation methods to prevent microbial growth in foods and to ensure inactivation of enzymes (Ulusoy and Karakaya, 2011). There are many studies investigating the effect of ultrasound on the structure of products such as vegetables, fruits and meat products (Aday et al., 2013; Anese et al., 2013; Lagnika et al., 2013; Kordowska-Wiater and Stasiak, 2011; Cárcel et al., 2007; Pohlman et al.,

1997). While there are a limited number of studies on processed seafood (Ayvaz et al., 2019), any study has not been found investigating the effect of this technology on the quality of raw seafood in the literature. In this study, it is aimed to investigate the effect of ultrasound technology on quality parameters of vacuum packed sardine fillets (*Sardina pilchardus* W., 1972). In this context, microbiological, physical and chemical analyzes were carried out to determine the changes in the structure of the product.

MATERIALS AND METHODS

Fish and packaging material

In this study, sardines fish (*Sardina pilchardus* W., 1972) used as material was obtained from Çanakkale fish market in March 2015. They were approximately 15.96 ± 0.52 cm length 29.03 ± 1.14 g weigh. The internal organs and their blood of the fish were removed then filleted. 70 g sardine fillet in vacuum packaging material that 50 μm thickness and 160 $\text{cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$ oxygen permeability using was vacuumed. Approximately 7 kg of sardine fillet were used in the study.

Application of ultrasound process

For the ultrasound treatments (Hielscher/UIP1000hd, Germany), vacuum packaged sardine fillets were immersed in 1000 ml glass beaker which was filled with distilled water for per treatment to form an acoustic cavitation by vibrating the molecules. Vacuum packaged sardine were treated with 20 kHz ultrasound at powers of 200 W/L, 300 W/L, and 500 W/L for 2 min.

Four different experimental groups were designed formed in this study and treatments can be summarized as follows:

-Control: Control group; Raw sardine fish fillets are vacuum packed.

-200-U: Raw sardine fish fillets were vacuum packed and applied ultrasound (20 kHz, 200 W/L, 2 min).

-300-U: Raw sardine fish fillets were vacuum packed and applied ultrasound (20 kHz, 300 W/L, 2 min).

-500-U: Raw sardine fish fillets were vacuum packed and applied ultrasound (20 kHz, 500 W/L, 2 min).

Measurement of water activity

The water activities of sardine fillet were measured with a water activity meter (Aqua Lab Series/4 TE-USA) at 25 °C. After the samples were homogenized and placed in the measuring chamber of the device, when the moisture content was equilibrated, the water activity value was read.

Lipid oxidation

Lipid oxidation, measured as Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values, was determined according to Kılıç ve Richards (2003).

Total volatile base nitrogen (TVB-N)

A vapour distillation method was used for total volatile bases nitrogen (TVB-N) estimation (Anonymous, 1988). The results were expressed as mg TVB-N/100g.

pH value

The pH values were recorded by using a pH meter (Hanna/Hi 8314-USA) after homogenization of each 10 g fish muscle sample in 100 ml distilled water (Gökalp et al., 2001).

Microbiological analysis

Total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), yeast-mould and *Enterobacteriaceae* analyses were made for microbiological analysis, 10 g sardine fillet sample was aseptically placed in a stomacher bag containing 90 mL of physiological saline water and homogenized for 30 sec in a stomacher (Seward stomacher/400 Circulator-England). Plate Count Agar (PCA, Merck) was used for TMAB count and incubated at 30 °C for 48 h. For the *Enterobacteriaceae* count, Violet Red Bile Agar (VRB, Merck) was used and incubated at 37 °C for 24 h. For the yeast and mould count, Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) was used and incubated at 30 °C for 72 h. Standard microbiological methods were applied in the analyses. Results were expressed as colony forming units per gram (CFU/g) (Harrigan, 1998; Anonymous, 2000; Öztürk and Gündüz, 2018a; Öztürk and Gündüz, 2018b). The microbiological analyses were performed in duplicate.

Texture profile analysis (TPA)

Texture is a kinesthetic property of food (Szczeniak, 2002). Texture profile analysis was performed to determine hardness, springiness, cohesiveness, adhesiveness, and chewiness of sardine fillets (Aday et al., 2013). Samples were analyzed with TA-XT Plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK) using a 10 mm diameter cylinder plunger probe (SMS-P/10 CYL Delrin). Analyses were performed under the following conditions:

Test speed : 0.80 mm/s
Strain : 55.00 %
Time : 5.00 sn
Trigger force : 3.0 g

Acquired data's were processed with Texture Exponent 32 by using PC software (Caner et al., 2008).

Statistical analysis

The experimental data were subjected to One-way analysis of variance (ANOVA). The means comparison was performed by Duncan Multiple Comparison with the level of significant set at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical analysis results

TVB-N is a method used to determine the quality and amount of spoilage of fish meat during storage (Kılınc, 1998). TVB-N is one of the most important deterioration criteria in seafood. In terms of TVB-N, seafood products are evaluated as "very good" up to 25 mg/100 g, "good" up to 30 mg/100 g, "marketable" up to 35 mg/100 g and "spoiled" for more than 35 mg/100 g (Varlık et al., 1993). Changes in the TVB-N values of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 1a. TVB-N was 20.22 mg N/100 g in fresh sardine fillets. The TVB-N increased in all groups during storage ($P < 0.05$), and all groups exceeded the consumable limit of TVB-N (35 mg N/100 g) on the 6th day of storage. Similar to this study, Gökoğlu et al. (1998) and Özden (1995) stated that TVB-N in sardine fish exceeded the consumption limit of 35 mg/100 g on the 6th day of storage.

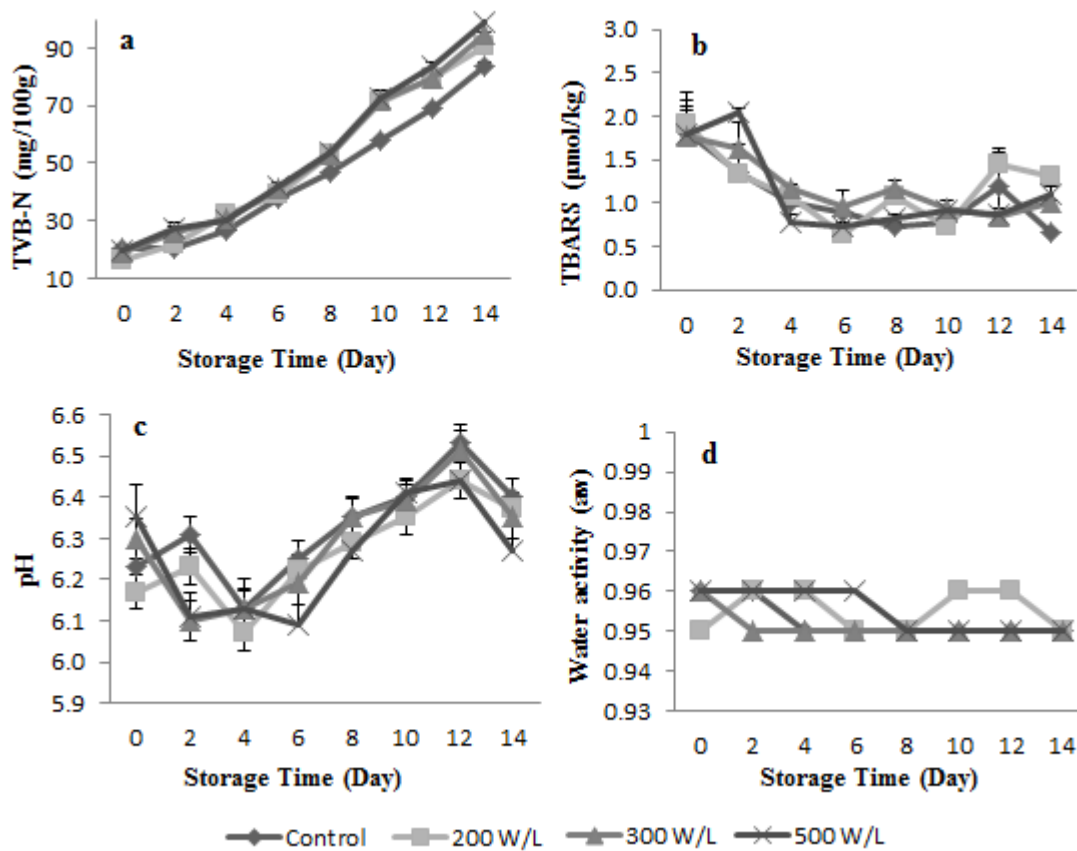


Figure 1. Effect of different ultrasound powers treatment on chemical parameters [TVB-N (a), TBARS values (b), pH (c) and Water activity (d)] of the sardine fillet stored at +4 °C during storage.

However, the results of our study showed that the use of ultrasound increases the amount of TVB-N. Similar results were obtained from Ayvaz et al. (2019). Researchers have reported that this is related to the easier breakdown of compounds found in muscles by the effect of cavitation.

TBARS are an indicator of lipid oxidation. Changes in the TBARS values of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 1b. TBARS showed fluctuations between 0.64-2.04 µmol/kg in all groups. Kenar et al. (2010) investigated the effects of natural antioxidants in vacuum packed sardine fish fillets. The researchers observed fluctuations in TBARS in the control and antioxidant groups.

The researchers stated that the highest TBARS value was 2.4 mg malonaldehyde kg⁻¹ in all groups. At the end of the study, they stated that the decrease in TBARS values could be related to the removal of oxygen from the package. Kenar et al. (2010) as determined in their study, fluctuations were observed in TBARS values of all groups in this study. The highest TBARS determined in our study were 2.04 µmol/kg. Kenar et al. (2010) as stated in their study, it is thought that removal of oxygen from the packages in vacuum packed packages prevents oxidation.

Changes in the pH values of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented

in Figure 1c. At the start of storage, while the lowest pH was observed in 200-U group (6.17), the highest pH was observed in 500-U group (6.35) ($P > 0.05$). On the 14th day of storage, the lowest pH was observed in 500-U group (6.27), the highest pH was observed in control group (6.40) ($P > 0.05$). The data obtained in the pH measurement were in parallel with the other analyzes.

The start of deterioration, the occurrence of chemical changes and the increase of microbial activities caused an increase in the pH value on the 6th day of storage and following storage days. Also, it was observed that increase in pH value occurred during storage due to microbial degradation.

The pH value required for fresh fish is between 6.0-6.5. The consumption limit value for raw fish meat is between pH 6.8 and 7.0. But, the pH value alone is not adequate for the determination of the product quality and must be supported by other analyses (Varlık et al., 1993).

El Marrakchi et al. (1990) found that pH value of sardine fish stored in ice was 5.83, 6.36 and 6.57 on day 0, 9., and 18th day of storage, respectively. The researchers stated that the pH measurement was not effective in determining the amount of deterioration of sardine fish. In the study, an increase in pH was observed during storage however, El Marrakchi et al. (1990) and Varlık et al. (1993) as stated that it is considered that the measurement of pH alone is not a criterion that determines deterioration in fish.

Changes in the water activity of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 1d.

At the beginning of storage, the water activity value was determined as 0.95 in 200-U group, while the water activity value was measured as 0.96 in the other groups. Water activity values between the groups varied between 0.95 and 0.96. It was observed that the application of ultrasound had no effect on the water activity of sardine fish

($P > 0.05$). Similar results were obtained from Ayvaz et al. (2019) that applied ultrasound to marinated anchovy.

Microbiological analysis results

Changes in the total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) counts of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 2a. In result of the study, it was observed that there was an increase in the TMAB during storage. In terms of TMAB, in Control and 500-U group, the consumption limit value 6 log CFU/g was exceeded at 10th day of storage. While limit value was exceeded in 300-U at 12th day of storage, this value was exceeded in 200-U at 14th day of storage. The 200-U group appears to be more effective in improving microbial quality than other groups. Kordowska-Wiater and Stasiak (2011) also stated that US applications have an effect on microbiological load. Pohlman et al. (1997) 20 kHz, 1.55 W/L intensity ultrasound process applied to vacuum packaged meat samples. The researchers reported that ultrasound was effective in reducing total bacterial load in meat samples, but there was no statistically significant difference between the control group and the ultrasound group. They also observed a decrease in the number of microorganisms in the samples after the ultrasound procedure and this decrease continued until the 5th day of storage. Choulira et al. (2010) observed a decrease in the total number of bacteria and the number of psychophilic bacteria when applied ultrasound treatment on untreated, heat treated, and pasteurized milk samples.

Changes in the *Enterobacteriaceae* counts of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 2b. It was observed that the number of *Enterobacteriaceae* was increased during storage. In terms of *Enterobacteriaceae*, in 500-U group, 5 log CFU/g was exceeded at 4th day of storage. While this value was exceeded in control and 300-U at 6th day of storage, this value was exceeded in 200-U at 8th day of storage.

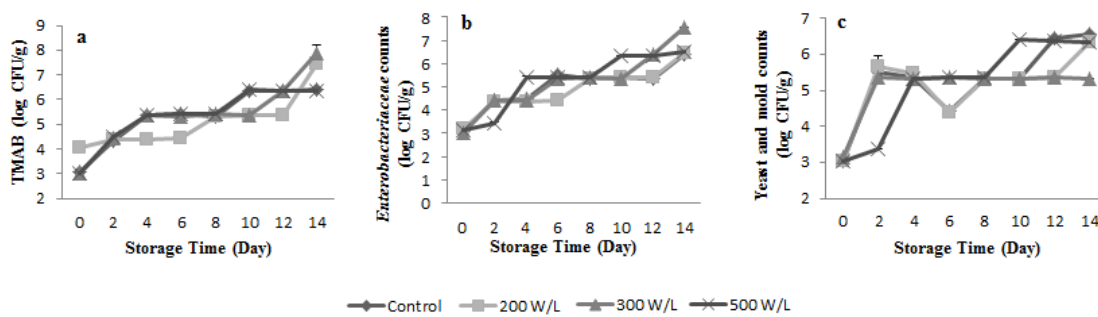


Figure 2. Effect of different ultrasound powers treatment on TMAB count (a), *Enterobacteriaceae* counts (b) and yeast and molds counts (c) of the sardine fillet stored at +4 °C during storage.

The number of *Enterobacteriaceae* was similar to the results in TMAB, and the application of 200 W/L ultrasound delayed the development of *Enterobacteriaceae* bacteria compared to other groups. Changes in the yeast and mould counts of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 2c. The number of yeasts and molds is an important quality indicator for products that in open marketed, in contact with air prior to packaging and contamination of packaging material. The number of yeasts and molds in all groups varied between 3.03 and 6.56 log CFU/g.

Texture profile analysis (TPA)

The texture includes quality characteristics closely related to the mechanical and structural properties of a food. One of the most important criteria in the acceptance of a product by the consumer is its textural properties (Szczesniak, 2002). Changes in the texture parameters (hardness, chewiness, cohesiveness, springiness, adhesiveness) of sardine fillets that applied different ultrasound powers treatment during the storage period at +4 °C are presented in Figure 3a, 3b, 3c, 3d, 3e, respectively.

The hardness, which is the maximum force measured during the first compaction, is also defined as the force that must be exerted to achieve a certain deformation in the structure of the foods (Szczesniak, 2002).

One of the most important textural properties for seafood is the hardness of the product. Decreases in hardness values were observed from 2th day of storage. The data obtained from TVB-N analysis showed that the deterioration started on the 6th day; hardness values in the 200-U group were still high on the 6th, 8th and 10th days of storage. It was observed that microbial deterioration occurred later in the 200-U group compared to the other groups. It is thought that, this situation cause delayed softening of muscles, leading to the later occurrence of chemical and enzymatic activities in the muscles. Lyng et al. (1997) and Pohlman et al. (1997) reported that ultrasound application on red meat had not effect on hardness. Zayde et al., (2019) stated that short-term ultrasound application increases the hardness of fish. Differences between studies may be caused by frequency, intensity, time of application and temperature factors (Zayde et al., 2019).

Chewiness is defined as the energy required breaking down a solid food until it is ready to swallow. Also, the chewiness value of the food, which is a feature related to the number and duration of chewing in the mouth (Szczesniak, 2002). This value increased in all groups on the second day and decreased in later storage days. The chewiness value decreased in connection with the decrease in hardness. It was observed that the highest chewiness value was in 200-U group on the 6th, 8th and 10th days of storage.

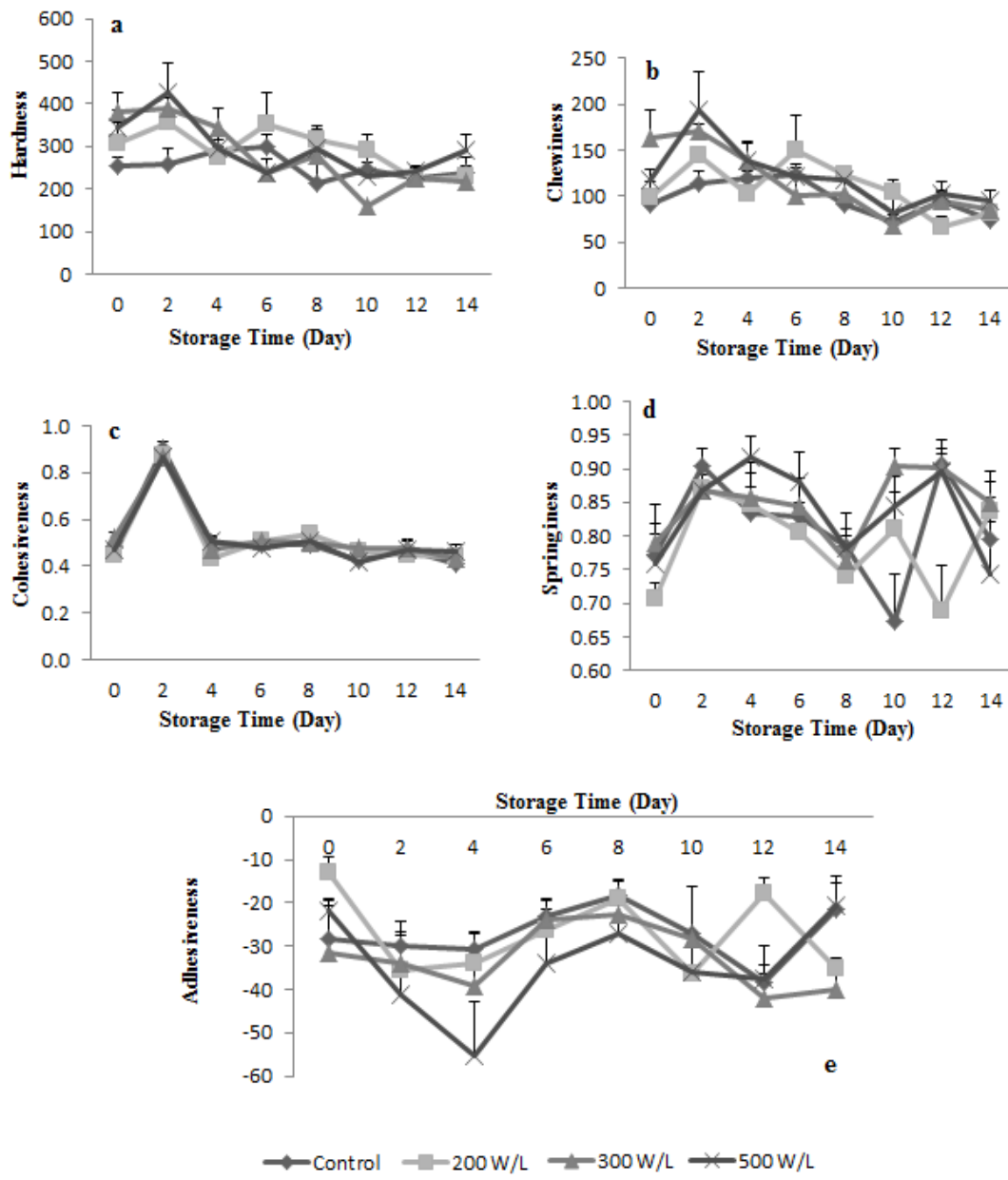


Figure 3. Effect of different ultrasound powers treatment on texture parameters [hardness (a), chewiness (b), cohesiveness (c), springiness (d), adhesiveness (e)] of the sardine fillet stored at +4 °C during storage.

In general, low powers ultrasound treatment decreased the chewiness value, but the chewiness value increased with increasing power. Similar results were also reported by Zayde et al. (2019). The cohesiveness shows the strength of the internal bonds that form the structure of the food.

It is the ratio of the positive force observed in the second compression to the positive force observed in the first compression in the texture profile analysis (Szczesniak, 2002).

The cohesiveness value, which gives information about the deformation of the product and the strength of the internal bonds, was determined in the group of 0.52 to 500-U highest on 0. day of storage and statistically significant difference was found between the 200-U and 500-U groups ($P < 0.05$). However, there was no statistically significant difference between the groups on the other days ($P > 0.05$). The fact that there is a significant difference in the cohesiveness of sardine fish between the control group and the ultrasound group shows us that the ultrasound process does not adversely affect the bond strength.

Springiness is defined as the rate of return to the state prior to deformation after the deforming force on the food is removed. In the texture profile analysis, it corresponds to the time interval between the end of the first compression and then the beginning of the second compression (Szczeniak, 2002). The application of ultrasound did not have a statistically significant effect on the springiness of sardine fish ($P > 0.05$). In terms of days, there is not statistically significant difference between the groups. It has been determined that ultrasound technology has no effect on the springiness, which is the speed of rotation before the deformation applied to the products. Unlike our study, Aday et al. (2013) stated that high powers ultrasound treatment on strawberries reduced springiness value compared to low powers ultrasound treatment.

The adhesiveness value is defined as the work required overcoming the gravitational force between the surface of the foods and the surface it contacts (tooth, tongue, palate or prop). It is the negative area observed in the first compression in the texture profile analysis (Szczeniak, 2002).

At the start of storage, while the lowest adhesiveness value was observed in 200-U group, the highest adhesiveness value was observed in 300-U group. At the end of storage, while the lowest adhesiveness value was observed in 500-U group, the highest adhesiveness value was observed in 300-U group. Fluctuations were observed during storage at the adhesiveness value.

CONCLUSIONS

In this study, it is aimed to investigate the effect of different ultrasound powers treatment (200 W/L, 300 W/L, 500 W/L) on quality properties of vacuum packed sardine fillets (*Sardina pilchardus* W., 1972). During the storage period, microbiological, chemical and physical analyzes were carried out to determine the changes in the structure of the product. It was observed from the results that the use of 200 W/L ultrasound in vacuum packed sardine fish fillets delayed microbial deterioration and gave better results in terms of hardness properties of the products compared to other groups. The determination that ultrasound technology does not adversely affect the connective tissue of sardine fish shows that this technology can be applied in seafood. Using different processing times, the effect of less than 200 W/L ultrasound power treatments on microbial growth and fish quality should be investigated with new studies.

ACKNOWLEDGMENTS

This study is the part of the master thesis of Hatice GÜNDÜZ. This study has been supported by Çanakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Project Coordination (Project number: FYL-2014-379).

REFERENCES

- Aday, M.S., Temizkan, R., Büyükcan, M.B., Caner, C. (2013). An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. *Lwt- Food Sci Technol.* 52(2): 93-101. doi: 10.1016/j.lwt.2012.09.013
- Alarcon-Rojo, A.D., Carrillo-Lopez, L.M., Reyes-Villagrana, R., Huerta-Jiménez, M., Garcia-Galicia, I.A. (2019). Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrason-Sonochem.* 55: 369–382. doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.09.016
- Anese, M., Mirolo, G., Beraldo, P., Lippe, G. (2013). Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. *Food Chem.* 136(2): 458-463. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.08.013
- Anonymous. (1988). Untersuchung von lebensmitteln bestimmung des gehaltes von flüchtigen stickstoffhaltigen basen (TVB-N) in

- fischen und fischerzeugnissen referenzerfahren. *Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach 35 LMBG*, 80.
- Anonymous, 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, Türkiye, 522 s.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis. 17 th Edition Vol II. Assoc. Off. Anal. Chem., Wash. D. C., USA.
- Ayvaz, Z., Çakır, F., Gündüz, H., Erdağ, M. (2019). Determination of the effect of different frequency ultrasound waves on the color and shelf life of vacuum packaged marinated anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Turk J Agric For*. 7(3): 405-416. doi: 10.24925/turjaf.v7i3.405-416.2341
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid ekstraktion and purification. *Can J Biochem Physiol*. 37(8): 911-917
- Carcel, J.A., Benedito, J., Bon, J., Mulet, A. (2007). High intensity ultrasound effects on meat brining. *Meat Sci*. 76(4):611-619. doi: 10.1016/j.meatsci.2007.01.022
- Caner, C., Aday, M., Demir, M. (2008). Extending the quality of fresh strawberries by equilibrium modified atmosphere packaging. *Eur Food Res Technol*. 227(6): 1575e1583. doi: 10.1007/s00217-008-0881-3
- Chouliara, E., Georgogianni, K.G., Kanellopoulou, N., Kontominas, M.G. (2010). Effect of ultrasonication on microbiological, chemical and sensory properties of raw, thermized and pasteurized milk. *Int Dairy J*. 20(5): 307-313. doi:10.1016/j.idairyj.2009.12.006
- Cortesi, M.L., Panebianco, A., Giuffrida, A., Anastasio, A. (2009). Innovations in seafood preservation and storage. *Vet Res Commun*. 33(1): 15-23. doi:10.1007/s11259-009-9241-4
- Dolatowski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 6(3): 89-99.
- Durmuş, M. (2010). Farklı mevsimde avlanan sardalya (*Sardinella Aurita Valenciennes*, 1847)'nın 4°C'de vakum paketli olarak depolanmasında oluşan duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Türkiye, 81 s.
- El Marrakchi, A., Bennour, M., Bovchritt, N., Hamama, A., Tagafait, H. (1990). Sensory, chemical and microbiological assessments of moroccan sardines (*Sardine pilchardus*) stored in ice. *J Food Protect*. 53(7): 600-605. doi: 10.4315/0362-028X-53.7.600
- Göğüş, A.K., Kolsarıcı, N. (1992). Su ürünleri teknolojisi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1243 Ders kitabı*: 358, Ankara, s. 38-42.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö. (2001). Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu (4. Basım), *Atatürk Üniversitesi Yayınları*, Erzurum.
- Gökoğlu, N., Özden, Ö., Erkan, N. (1998). Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4 °C. *J Aquat Food Prod T*. 7(2): 5-15. doi: 10.1300/J030v07n02_02
- Hall, G.M. (2012). Fish processing technology. *Springer Science & Business Media*.
- Harrigan, WF. (1998). Laboratory methods in food microbiology. Academic Press, San Diego, USA.
- Jayasooriya, S.D., Bhandari, B.R., Torley, P., D'Arcy, B.R. (2004). Effect of high power ultrasound waves on properties of meat: a review. *Int J Food Prop*. 7(2): 301-319. doi: 10.1081/JFP-120030039
- Kenar, M. (2009). Aromatik bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların balık filetosu üzerindeki duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Türkiye, 92 s.
- Kılıç B., Richards M.P. (2003). Lipid oxidation in poultry Döner Kebab : Pro-oxidative and anti-oxidative factors. *J Food Sci*. 68 (2): 690-696.
- Kılınç, B. (1998). Dondurularak depolanmış sardalya balıklarında (*Sardina pilchardus*, W., 1992) kimyasal, fiziksel, duyuusal ve mikrobiyolojik

- değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Türkiye, 75 s.
- Kordowska-Wiater, M., Stasiak, D.M. (2011). Effect of ultrasound on survival of gram-negative bacteria on chicken skin surface. *B Vet I Pulawy*. 55, 207-210.
- Lagnika, C., Zhang, M., Mothibe, K.J. (2013). Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biol Tec.* 82: 87-94. doi:10.1016/j.postharvbio.2013.03.006
- Lyng, J.G., Allen, P., McKenna, B.M. (1997). The influence of high intensity ultrasound baths on aspects of beef tenderness. *J Muscle Foods*. 8(3): 237-249. doi: 10.1111/j.1745-4573.1997.tb00630.x
- Li, X., Li, J., Zhu, J., Wang, Y., Fu, L., Xuan, W. (2011). Postmortem changes in yellow grouper (*Epinephelus awoara*) fillets stored under vacuum packaging at 0 °C. *Food Chem*. 126(3): 896-901. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.071
- Ohlsson, T., Bengtsson, N. (2002). Minimal processing technologies in the food industry (1th. ed.). Woodhead Publishing, p. 288.
- Öztürk, F., Gündüz, H. (2018a). Determination of microbiological quality of ready-to-eat stuffed mussels. *GIDA*. 43 (5): 745-750 doi: 10.15237/gida.GD18077
- Öztürk, F., Gündüz, H. (2018b). The incidence and antibiotic resistance of coagulase positive *Staphylococcus aureus* in seafoods marketed in İzmir. *GIDA*. 43 (2): 313-320 doi: 10.15237/gida.GD17106
- Özden, Ö. (1995). Sardalya balığının (*Sardina pilchardus* W, 1972) soğukta depolanması sırasında yağında oluşan bozulmaların belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Türkiye, 45 s.
- Özoğul, F., Polat, A., Özoğul, Y. (2004). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem*. 85: 49–57. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.006
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M.E., Villegas-Ozuna, R.E., Robles-Burgueno, R. (1998). Histamine quantification in monterey sardine muscle and canned products from Northwestern Mexico. *J Food Compos Anal*. 11: 188–195. doi:10.1006/jfca.1998.0574
- Pohlman, F.W., Dikeman, M.E., Zayas, J.F. (1997). The effect of low-intensity ultrasound treatment on shear properties, color stability and shelf-life of vacuum-packaged beef semitendinosus and biceps femoris muscles. *Meat Sci*. 45(3): 329-337. doi:10.1016/S0309-1740(96)00106-4
- Raso, J., Palop, A., Pagan, R., Condon, S. (1998). Inactivation of bacillus subtilis spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. *J Appl Microbiol*. 85(5): 849–854. doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00593.x
- Stamatis, N., Arkoudelos, J.S. (2007). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbial, chemical and sensory quality indicators of fresh, filleted *Sardina pilchardus* at 3 °C. *J Sci Food Agr*. 87(6): 1164-1171. doi:10.1002/jsfa.2858
- Szczesniak, A.S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Qual Prefer*. 13: 215–225.
- Ulusoy, K., Karakaya, M. (2011). Gıda endüstrisinde ultrasonik ses dalgalarının kullanımı. *GIDA*. 36 (2): 113-120.
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., Gün, H., (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. *Gıda Teknol Der*. 17: 16-17.
- Zheng, L., Sun, D.W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes-a review. *Trends Food Sci Tech*. 17(1): 16-23. doi:10.1016/j.tifs. 2005.08.010

THE EFFECT OF IRRIGATION ON OLIVE AND OLIVE OIL CHARACTERISTICS

Aslı Yorulmaz¹, Hakan Erinç^{2*}, Abidin Tatlı³, Aziz Tekin⁴

¹Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Aydın, Turkey

²Nigde Omer Halisdemir University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Nigde, Turkey

³Zer Group, Akhisar, Manisa, Turkey

⁴Ankara University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 17.07.2019; Accepted / Kabul: 17.10.2019 Published online / Online baskı: 12.11.2019

Yorulmaz, A., Erinç, H., Tatlı, A., Tekin, A. (2019). The effect of irrigation on olive and olive oil characteristics. GIDA (2019) 44 (6): 1081-1091 doi: 10.15237/gida.GD19104

Yorulmaz, A., Erinç, H., Tatlı, A., Tekin, A. (2019). Sulama işleminin zeytin ve zeytinyağının özelliklerine etkisi. GIDA (2019) 44 (6): 1081-1091 doi: 10.15237/gida.GD19104

ABSTRACT

The aim of the study was to identify the changes in olive and corresponding olive oil characteristics in response to irrigation. Five olive cultivars (Halhalı, Sarı ulak, Nizip Yağlık, Kilis Yağlık and Karamanı) from Turkish origin were harvested from their own traditional growing region (Mardin, Mersin, Gaziantep, Kilis and Hatay respectively) from both irrigated and non-irrigated trees (rain-fed) for two consecutive crop years. Olives were processed to oil with a laboratory scale system. Olive fruits were analyzed for their physico-chemical properties and phenolic composition and olive oils were analysed for fatty acid, triacylglycerol and sterol composition. Results have shown that average weight, flesh/pit ratio of olives were lower and dry matter and oil content were higher in rain-fed trees than irrigated ones. Phenolic content and composition of fruits were cultivar dependent and responded differently to water supplement. Fatty acid composition of olive oils mainly remained unchanged, however the concentration of individual triacylglycerols behaved in distinct ways. Total sterol and β -sitosterol contents increased and decreased for various cultivars whereas Δ -5-avenasterol increased in all cases. Sarı ulak variety was well separated from other varieties by principal component and hierarchical cluster analysis both in rain-fed and irrigated treatments.

Key words: Irrigation, fatty acid, olive oil, phenolic, sterol, triacylglycerol

SULAMA İŞLEMİNİN ZEYTİN VE ZEYTİNYAĞININ ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

ÖZ

Çalışmanın amacı zeytin ve bu zeytinlerden elde edilen zeytinyağının özellikleri üzerine sulama işleminin etkisinin belirlenmesidir. Çalışmada Türkiye orijinli 5 farklı zeytin çeşidi (Halhalı, Sarı ulak, Nizip Yağlık, Kilis Yağlık and Karamanı), ard arda gelen 2 hasat yılı boyunca, sulanmış ve sulanmamış (yağmur suyuyla beslenmiş) ağaçlardan, yetiştirildikleri bölgelerden (sırasıyla Mardin, Mersin, Gaziantep, Kilis ve Hatay) hasat edilmişlerdir. Zeytinler laboratuvar ölçekli bir sistem ile yağa işlenmişlerdir. Zeytin meyveleri fiziko-kimyasal özellikleri ve fenolik kompozisyonları yönünden, zeytinyağları ise yağ asidi, trigliserit ve sterol bileşimleri yönünden analiz edilmişlerdir. Sonuçlar sulama yapılmamış örneklerde sulanan örneklere göre, zeytin ortalama ağırlıkları ile et/çekirdek oranının daha düşük, kuru madde ve yağ içeriğinin ise daha yüksek olduğunu göstermiştir. Fenolik madde içeriği ve kompozisyonunun çeşide bağlı olduğu görülmüş ve sulama işlemi ile farklı sonuçlar elde edilmiştir. Zeytinyağlarının yağ asidi bileşimleri değişmemiştir, ancak her bir trigliserit konsantrasyonunda farklı değişiklikler gözlenmiştir. Toplam sterol ve β -sitosterol miktarlarında çeşitler arasında artış azalışlar gözlenmiş, ancak Δ -5-avenasterol miktarı tüm durumlarda artmıştır. Sarı ulak çeşidi sulama yapılmamış ve sulanmış diğer çeşitlerden temel bileşen ve hiyerarşik kümeleme analizi ile net bir şekilde ayrılmıştır.

Anahtar kelimeler: Sulama, yağ asidi, zeytinyağı, fenolik, sterol, triaçilgliserol

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉ herinc@ohu.edu.tr,

☎ (+90) 388 225 4005

☎ (+90) 388 225 0112

INTRODUCTION

Olive (*Olea europaea* L.) is a characteristic crop of Mediterranean basin, covering 96 % of the trees in the area. It is grown in subtropical climate with dry summers and wild winters. Olive trees are drought resistant and well adapted to arid and semi-arid regions with low water availability. Olive orchards have traditionally been dry farmed, however there has been increasing interest in water use during olive cultivation due to positive yield response of plantations to complementary irrigation. In olive trees, three main fruit development stages namely flowering, pit hardening, and post pit hardening periods show different tolerances to water stress; bloom and post pit hardening are the water sensitive stages whereas pit hardening is known to be a drought resistant phase (Goldhamer, 1999). Hence, supplemental irrigation during water sensitive phases of phenological plant cycle provides better vegetative growth and increases olive production. The increase in total oil production in response to irrigation is generally achieved by increment in size and quantity of drupes per tree rather than significant oil accumulation in fruit. Some contradictory and variety dependent results have been reported about the influence of water application on oil content in drupe mesocarps; positive (Stefanoudaki et al, 2001), negative (Dabbou et al, 2010) and invariable (Patumi et al, 1999; Zeleke et al, 2012) outcomes complicate to reach consistent conclusions.

Changes in quality, composition and sensory attributes of olive oil in response to irrigation have also been studied by several authors. Free acidity and peroxide value have been generally found to remain constant (Berenguer et al, 2006; Servili et al, 2007; Dabbou et al, 2010;), whereas ultraviolet spectrophotometric indices (K_{232} , K_{270}) have been determined to decrease with irrigation (Gómez-Rico et al., 2007). Phenolic compounds are important constituents for oxidative stability and organoleptic characteristics such as bitterness and pungency attributes of oils. Total phenol content and individual phenolics have been reported to be influenced and generally inversely correlated by irrigation both for olives and

resulting olive oils (Motilva et al, 2000; Tovar et al, 2001), as hydric stress encourages the synthesis of phenolic compounds (Parr and Bolwell, 2000). Fatty acid composition was slightly altered or determined to be unchanged in the majority of the early papers (Inglese et al, 1996; Tovar et al, 2002; Berenguer et al, 2006), nevertheless there are some results indicating the adverse effect of water application on oleic acid and unsaturated fatty acid concentration (Gómez-Rico et al, 2007). The triglyceride composition is an important measure to determine the origin, purity and quality of olive oil and normally follow consistent trends with fatty acid composition (Yorulmaz et al, 2014). The major triglyceride of olive oil, triolein, was found either to fall (Stefanoudaki et al, 2001) or raise (Stefanoudaki et al, 2009) with irrigation. Sterols are the major components of the unsaponifiable part of lipids and they are important agents for evaluating the authenticity of virgin olive oil. Conflicting results have been reported about the tendency of individual sterols in response to irrigation, nonetheless, considerable number of studies have pointed the higher amount of total sterols of oils from water stressed trees when compared to irrigated ones (Inglese et al, 1996; Stefanoudaki et al, 2001; Stefanoudaki et al, 2009).

Turkey is one of the largest olive producer country in the world and olive tree population has increased recently with government support. While the trees are conventionally rain-fed, new orchards have mostly been planted with modern cultivation methods adopted to irrigation systems. However, little information is available on the influence of water supply on the quality and chemical properties of olives and corresponding olive oils. Hence, the current study investigates the fruit characteristics and chemical composition of virgin olive oils from irrigated and non-irrigated trees of five different varieties grown in Southern Anatolia, collected for two consecutive crop years.

MATERIALS AND METHODS

Reagents and standards

Methanol, hexane, pyridine, β -sitosterol, chloroform and formic acid were obtained from Merck (Darmstadt, Germany); stigmasterol, campesterol, 5α -cholestan- 3β -ol (cholestanol),

luteolin, *p*-coumaric acid, and rutin were purchased from Sigma (St-Louis, USA); 4-(2-hydroxyethyl)phenol (tyrosol), cyanidin 3-*O*-glucoside, cyanidin 3-*O*-rutinoside and apigenin were supplied from Fluka (Buchs, Switzerland); verbascoside (acteoside), luteolin-7-*O*-glucoside and oleuropein were purchased from Applichem (Darmstadt, Germany); *trans*-cinnamic acid was obtained from Aldrich (St-Louis, USA); while 37 fatty acid methyl ester (FAME) mix and N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA)+trimethyl chlorosilane (TMSC) were from Supelco (Bellefonte, USA). Hydroxytyrosol was synthesized from oleuropein as reported by Owen et al. (2000).

Olive sampling and oil extraction

Olea europaea L. fruits of five different cultivars were obtained from commercial orchards in five separate districts: Halhalı, Sarı ulak, Nizip Yağlık and Kilis Yağlık varieties were harvested from Mardin, Mersin, Gaziantep and Kilis provinces respectively in both crop years. Karamani cultivar was obtained from Hatay province in the first year of the experiment. The climate of the region is Mediterranean and annual rainfall was 317 mm and 809 mm for 2008 and 2009 respectively. Olive fruits of each variety were collected from both irrigated and rain-fed (non-irrigated) trees grown in the same environmental conditions and agricultural applications. Olive trees were irrigated by drip irrigation system with compensating emitters placed around trees. Four, eleven, eight, six and ten irrigation treatments were imposed for Halhalı, Karamani, Sarı ulak, Nizip Yağlık and Kilis Yağlık varieties respectively. Each of the treatments received 250, 50, 80, 30 and 50 L of water in the same order. All irrigation treatments ended in September for all cultivars. The fruits were picked in October-November, at appropriate harvest time for table olive production.

A representative batch of drupes were transported to laboratory and processed to olive oil. 2 kg of fruits were first washed, then crushed with a laboratory scale crusher. The resulting paste was kneaded for 30 minutes at 25°C. The oily paste was pressed to obtain the liquid phase and oil was separated from the liquid by

centrifugation at 6000 rpm. Virgin olive oil samples were kept in nitrogen atmosphere at 4°C until analyses.

Analyses

Average weight, flesh/pit ratio, dry matter and oil content of fruits

Average weight and flesh/pit ratio of fruits were determined by weighing 10 individual olives and their stones. The dry matter content was measured by drying 10 g of olive paste in an oven at 105 °C to constant weight. Oil content was determined according to AOCS Official Method Am 2-93 (AOCS, 2003) by Soxhlet apparatus using *n*-hexane as solvent and expressed as percentage of dry weight basis.

Phenolic profile of olive samples

Phenolic compound analysis of olives were performed according to the method described in Yorulmaz et al. (2012). High performance liquid chromatography (HPLC) (Shimadzu, Kyoto, Japan) apparatus equipped with Inertsil (250 mm x 4.6 mm, ODS-3, 5-µm particle size, GL Sciences, Tokyo, Japan) column was used for chromatographic analysis.

Fatty acid composition

Fatty acid methyl esters were prepared according to International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (1987) and analyzed with Shimadzu GC-2010 (Shimadzu, Kyoto, Japan) gas chromatograph. DB-23 fused silica capillary column (60m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness) (J&W) was employed for chromatographic separation. Injector, column and detector temperatures were 230, 195 and 240°C respectively. The carrier gas was helium with a flow rate of 1 ml/min and the split ratio was 80:1.

Triglyceride composition

Chromatographic analysis of triacylglycerols was achieved by HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) according to the method proposed by Herslöf (1981) and monitored with differential refractometer detector. Olive oil samples were dissolved (3%) in acetonitrile:2-propanol:hexane (2:2:1) prior to analysis. Nucleosil 100 C18 (25x0.46, 5µm particle size, Teknochroma,

Barcelona, Spain) column was employed for separation and mobile phase was acetonitril:2-propanol:hexan (500:118:100) with a flow rate of 1 ml/min. Oven temperature was 25°C. Triacylglycerols were separated according to the equivalent carbon number (ECN) and expressed as the percentage of each triacylglycerol. The peaks were identified by comparing the data given in literature (Ollivier et al, 2006).

Sterol composition

Sterol composition was determined according to AOCS Official Method Ch 6-91 (2003). Silyl ethers of the sterols were analyzed by GC 2010 gas chromatograph (Shimadzu, Kyoto, Japan). HP-5 fused silica capillary column (30m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness) (Chrom Tech., Apple Valley, MN, USA) was used for chromatographic elution. Injector, column and detector temperatures were 280, 260 and 290 °C respectively. Helium was the carrier gas with a flow rate of 0.8 ml/min and split ratio was 50:1.

Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out using SPSS 9 statistical software (SPSS Inc., Chicago, USA). Data were evaluated by Students's t-test test to determine any significant differences between irrigation treatments. A *p*-value of less than 0.05 was considered significant. Data were also evaluated by principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) using XLSTAT 2014 version (Addinsoft, New York, NY).

RESULTS

Olive Characteristics

Physical and chemical characteristics together with phenolic composition of olives from irrigated and rain-fed trees is listed in Table 1. Average fruit weight, flesh/pit ratio were lower and dry matter content were higher in rain-fed trees for all cultivars confirming former works (Gómez-Rico et al, 2007). The increase in water content of fruits due to irrigation resulted in higher average drupe weights. Oil contents of olives on dry weight basis, decreased with drip irrigation by 5.73% for Nizip Yağlık, 4.86 % for Kilis Yağlık, 4.44 % for Halhalı, 4.51 % for Karamani and 7.33% for Sarı ulak variety. Oil

content results are in accordance with some previous works (Gómez-Rico et al, 2007; Dabbou et al., 2010), nonetheless there are a moderate number of studies indicating the positive effect of irrigation on oil content of fruit mesocarp (Inglese et al., 1996; Stefanoudaki et al, 2001). The higher oil content may be possibly because of the lower fruit load of rain-fed trees. Total phenol content of olive fruits were determined by adding up each individual phenolic compounds and ranged between 1526.39-11778.21 mg/kg. Irrigation increased phenolic contents of Nizip Yağlık, Kilis Yağlık and Halhalı but decreased that of Karamani and Sarı ulak varieties. The major phenolic, secoiridoid oleuropein, had similar respond to irrigation with total phenol content and determined between 201.15-8082.66 mg/kg. It increased in Nizip Yağlık, Kilis Yağlık, Halhalı but decreased in Karamani and Sarı ulak by extra water application. *Trans* cinnamic acid, a marker for Turkish olive cultivars grown in Anatolia (Yorulmaz et al., 2012), is the second predominant phenolic of olives and varied between 98.06-2372.18 mg/kg. Its concentration was higher than oleuropein in drip-irrigated Karamani variety. Similar to *trans* cinnamic acid, luteolin-7-glycoside and verbascoside also increased in Nizip Yağlık, Kilis Yağlık and Halhalı but decreased in Karamani and Sarı ulak fruits in response to irrigation. Hydroxytyrosol and tyrosol were two phenolic alcohols of olives, and both showed different attitudes by water treatment for various cultivars where statistically significant descents were observed for Karamani. Tyrosol had lower concentrations than hydroxytyrosol for all analyzed samples. Concentrations of two cyanidin glycosides, cyanidin-3-*O*-glucoside and cyanidin-3-*O*-rutinoside, responsible for black color of drupes increased with irrigation, except for Karamani cultivar. *p*-coumaric acid increased in all cultivars and the remaining flavonoids (rutin, apigenin and luteolin) did not have a common tendency by water supplement. There are very limited number of papers revealing the influence of irrigation to phenolic distribution of olives. Patumi et al (2002) reported higher values for tyrosol, vanillic acid, 3,4-dihydroxyphenylglycol, oleuropein aglycones, oleoside-11-methyl ester

and oleuropein but lower values for hydroxytyrosol in irrigated trees.

Table 1. Physical and chemical characteristics of olives from rain fed and irrigated trees

	Nizip yağlık		Kilis yağlık		Halhalı		Karamani		Sarı Ulak	
	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation
Average weight (g)	1.64	2.70	2.43	2.86	1.65 ^X	2.63 ^Y	3.37 ^X	4.56 ^Y	1.95	2.20
Flesh/Pit ratio	3.74	4.27	3.53 ^X	4.25 ^Y	4.47	4.59	5.14 ^X	6.37 ^Y	2.45	2.72
Dry matter (%)	71.83 ^X	54.41 ^Y	59.59	56.17	55.53	55.20	48.88	45.78	58.32	56.71
Oil (% d.b.)	41.30	35.57	26.62	21.76	33.10	28.66	26.75 ^X	22.24 ^Y	31.93	24.60
Hydroxytyrosol (mg/kg)	234.52	637.35	159.09	164.69	143.46	131.52	341.20 ^X	197.57 ^Y	532.63	478.73
Tyrosol (mg/kg)	60.95	113.27	97.39	95.57	60.13	127.46	75.80 ^X	11.25 ^Y	200.08	212.84
Cyanidin 3-O-glucoside (mg/kg)	6.20	48.29	118.38	118.60	1.69	4.47	15.48 ^X	0.37 ^Y	2.13	0.80
Cyanidin 3-O-rutinoside (mg/kg)	53.62	214.19	224.10	296.34	14.06	42.36	69.18 ^X	1.62 ^Y	32.98	2.35
<i>p</i> -coumaric acid (mg/kg)	1.86	2.42	0.34	1.35	0.53	1.63	1.41 ^X	3.17 ^Y	1.64	1.90
Verbascoside (mg/kg)	69.93	90.22	41.39	81.10	14.54	33.63	41.15 ^X	4.17 ^Y	87.71	42.82
Luteolin-7-glucoside (mg/kg)	265.35	1383.42	110.15	265.70	117.38	267.30	438.26 ^X	110.07 ^Y	1684.95	1193.91
Rutin (mg/kg)	49.37	149.63	32.28	63.81	31.04	80.35	226.06 ^X	15.50 ^Y	405.66	278.22
Oleuropein (mg/kg)	890.58	3666.82	628.20	1053.24	1969.48	6046.92	3968.60 ^X	201.15 ^Y	8082.66	6741.13
<i>trans</i> -cinnamic acid (mg/kg)	890.53	2372.18	98.06	244.18	864.63	1465.16	1122.70 ^X	658.53 ^X	661.79	364.09
Luteolin (mg/kg)	22.74	57.33	16.67	39.21	115.29 ^X	57.27 ^Y	17.66 ^X	434.40 ^Y	84.74	61.00
Apigenin (mg/kg)	0.66	0.17	0.34	0.25	2.81	3.86	3.78	2.38	1.24	0.51
Total phenolic compounds (mg/kg)	2551.35 ^X	8735.36 ^Y	1526.44	2423.10	3335.41	8254.98	6331.31	1640.22	11778.26	9378.33

†Different superscript letters (X-Y) indicate significant differences ($P < 0.05$) between water availabilities of each single cultivar.

Olive Oil Characteristics

The fatty acid composition of oils from dry-farmed and irrigated trees is presented in Table 2. Myristic (C14:0), palmitic (C16:0), palmitoleic (C16:1), heptadecanoic (C17:0), heptadecenoic (C17:1), stearic (C18:0), oleic (C18:1), linoleic (C18:2), linolenic (C18:3), arachidic (C20:0), gadoleic (C20:1), behenic (C22:0) and lignoceric (C24:0) acids were monitored in oil samples. Fatty acid ratios of all cultivars were within the limits established by Turkish Food Codex (2018), EU (2013) and IOC (2015) regulations except for C 17:1 ratios of Sarı ulak (both rain-fed and irrigated) and C20:0 percentage of rain-fed Halhalı samples. The main fatty acid was oleic acid ranging between 62.15 (Karamani)- 72.05 % (Halhalı). The prevailing polyunsaturated fatty

acid was linoleic acid which had the values between 6.73 (Halhalı)- 15.38 % (Karamani). Palmitic acid, the major saturated fatty acid, varied between 12.12 (Sarı ulak) – 16.55 % (Karamani); whereas stearic acid existed between 3.14 (Karamani)- 3.78 % (Halhalı). The sum of the remaining fatty acids were lower than 4 %.

Only few fatty acids, namely, palmitic acid of Kilis Yağlık and gadoleic acid of Kilis Yağlık and Halhalı, were affected significantly by irrigation. The other fatty acids did not exhibit a constant relation with irrigation, approving some previous works (Inglese et al., 1996; Motilva et al., 2000; Ayton et al, 2007). Several studies stating the significant influence of water application on fatty

acid composition have also been reported (Stefanoudaki et al., 2001; Salas et al. 1997).

Table 2. Fatty acid composition of oils from rain fed and irrigated trees (%)

	Nizip yağlık		Kilis yağlık		Halhalı		Karamani		Sarı Ulak	
	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation
C14:0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01 ^x	0.02 ^y	0.01	0.01	0.01	0.01
C16:0	14.25	15.60	14.04 ^x	15.00 ^y	14.86	14.77	15.12	16.55	12.55	12.12
C16:1	1.08	1.01	0.91	1.04	0.98	1.15	1.58	0.96	0.92	0.88
C17:0	0.12	0.10	0.14	0.11	0.11	0.11	0.15	0.13	0.20	0.26
C17:1	0.18	0.17	0.20	0.19	0.19	0.14	0.20	0.18	0.32	0.35
C18:0	3.48	3.49	3.57	3.61	3.78	3.47	3.46	3.14	3.33	3.36
C18:1	67.86	69.48	71.50	68.49	71.39	72.05	66.21	62.15	69.50	70.64
C18:2	11.54 ^x	8.48 ^y	8.07	10.13	7.04	6.73	11.66	15.38	11.40	10.59
C18:3	0.60	0.53	0.64	0.60	0.57	0.58	0.69	0.68	0.89	0.91
C20:0	0.50	0.43	0.49	0.48	0.62	0.59	0.52	0.44	0.49	0.46
C20:1	0.22	0.16	0.25 ^x	0.21 ^y	0.28 ^x	0.23 ^y	0.25	0.24	0.27	0.29
C22:0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01
C24:0	0.11	0.08	0.08	0.10	0.12	0.14	0.13	0.11	0.07	0.08
MUFA/PUFA	5.70 ^x	7.87 ^y	8.69	6.84	9.67	10.06	5.52	3.96	5.94	6.66

†Different superscript letters (X-Y) indicate significant differences ($P < 0.05$) between water availabilities of each single cultivar.

Triacylglycerol composition of olive oils obtained from rain fed and irrigated trees is shown in Table 3. Main triacylglycerols were triolein (OOO), palmitodiolein (OOP), dioleolinolein (OOL), palmitooleolinolein (PLO), dipalmitoolein (POP) and stearodiolein (SOO). Additionally palmitoleodiolein (OOPo), palitoleopalmitoolein (PoOP), trilinolein (LLL), oleodilinolein (OLL), oleolinoleolinolenin (OLLn), palmitodilinolein (PLL), palmitolinoleolinolenin (PLLn), dioleolinolenin (OOLn), palmitooleolinolenin (POLn), dipalmitolinolein (PPL) and palmitostearoolein (POS) were found in lower ratios. The main triglyceride, triolein, ranged between 27.29 (Karamani) – 38.69 % (Kilis Yağlık). Irrigation increased OOO ratio of Nizip and Kilis Yağlık, but decreased that of Halhalı, Karamani and Sarı ulak oils. OOP, existed as the second important triglyceride and varied between 23.36 (Sarı ulak) – 28.91 % (Nizip Yağlık). OOP values decreased in all cultivars' oils by water treatment except for Nizip Yağlık oils. Stefanoudaki et al (2001) reported higher values for OOO and lower percentages for POO(+SOL) in oils of water stressed trees than irrigated ones. OOL (+PPLn) was between 10.18 (Kilis Yağlık) – 17.15 % (Karamani) and decreased with additional water supply for Nizip

Yağlık and Sarı ulak varieties, although statistically significant differences were not observed.

Sterol content and erythrodiol-uvaol ratio of olive oils from dry farmed and irrigated trees is tabulated in Table 4. Total sterol content of oil samples were all above the minimum established limit of 1000 mg/kg determined by national and international regulations for virgin olive oil. Total sterol content of the oils decreased in Nizip Yağlık and Kilis Yağlık by 25.74 %, 1.94 % but increased in Halhalı, Karamani, Sarı ulak varieties by 10.70 %, 16.19 % and 10.61 % respectively. Inglese et al (1996), Stefanoudaki et al (2001) and Stefanoudaki et al (2009) reported higher total sterol contents for the oils from water stressed trees, whereas Berenguer et al (2006) figured increments and invariable results respectively in a two year assay. β -sitosterol, Δ -5-avenasterol and campesterol were the main sterols, while cholesterol, brassicasterol, 24-methylene-cholesterol, campestanol, stigmasterol, Δ -7-campesterol, clerosterol, sitostanol, Δ -5,24-stigmastadienol, Δ -7-stigmastenol, Δ -7-avenasterol were also determined in small amounts. β -sitosterol existed between 934.44 (Nizip Yağlık)- 1316.00 mg/kg (Karamani) and had similar respond to irrigation with total sterol content since it covers the major part of sterol

fraction. Δ -5-avenasterol was between 50.96 (Karamani) – 166.66 mg/kg (Kilis Yağlık) and increased with irrigation for all cultivars in contrast with the results obtained by Inglese et al. (1996) and Stefanoudaki et al. (2009). β -sitosterol and Δ -5-avenasterol percentages were strong and inversely correlated ($r = -0.93$) probably because of desaturase enzyme activity altering β -sitosterol to Δ -5-avenasterol. Campesterol varied between 21.83 (Kilis Yağlık) – 52.92 mg/kg (Sarı ulak), below the established upper limit of 4.0 %. Stigmasterol ratios were lower than campesterols'

for all samples compatible with regulation requirements. Increases in campestanol were recorded in all cultivars by water supplement. Individual sterols excluding campestanol and Δ -5-avenasterol did not reveal a common tendency in response to irrigation. The sum of two triterpene dialcohols (erythrodiol and uvaol) were below the regulatory limit of 4.5 % for all cultivars and increased only in Nizip Yağlık oils and decreased for the rest of the varieties by water treatment.

Table 3. Triacylglycerol composition of oils from rain fed and irrigated trees (%)

	Nizip yağlık		Kilis yağlık		Halhali		Karamani		Sarı ulak	
	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation
LLL	0.17	0.06	0.05	0.11	0.06	0.22	0.17 ^X	0.52 ^Y	0.04	0.01
OLLn+PoLL	0.08	0.07	0.10	0.07	0.07	0.18	0.17	0.34	0.13	0.07
PLLn	0.02	0.04	0.01	0.03	0.05	0.04	0.08	0.08	0.02	0.04
OLL+OLPo	2.78 ^X	1.38 ^Y	1.20	1.24	0.89	2.42	2.72 ^X	4.30 ^Y	1.68	1.68
OOLn	0.90	0.64	0.72	0.71	0.42 ^X	0.96 ^Y	0.94	0.84	0.77	1.90
PLL	0.56 ^X	0.29 ^Y	0.18	0.27	0.13 ^X	0.60 ^Y	0.60 ^X	1.18 ^Y	0.36	0.55
POLn	0.08	0.02	0.04	0.04	0.03	0.05	0.04	0.11	0.03	0.05
OOL+PPLn	12.96	11.35	10.18	10.98	10.42	12.27	14.76	17.15	13.82	13.27
OOPo	0.74	1.55	1.25	0.83	2.91	1.35	0.71	0.92	1.53	1.46
PLO+SLL	9.87	7.17	7.13	7.13	5.64	8.26	8.91 ^X	11.87 ^Y	9.08	7.41
PoOP	0.48	0.62	0.32	0.54	0.37	0.72	0.56	1.82	1.59	1.48
PPL	0.16	0.30	0.16	0.38	0.10	0.14	0.16	0.85	0.13	0.18
OOO	33.02	35.13	36.08	38.69	36.77	32.88	33.52 ^X	27.29 ^Y	36.29	35.38
OOP	27.69	28.91	28.20	27.23	28.42	28.02	26.70	24.03	25.97 ^X	23.36 ^Y
POP	3.51	4.38	5.41	5.76	4.57	4.81	4.27	3.32	3.17	2.12
SOO	5.37	5.77	5.43	5.79	6.95	5.28	4.06	4.04	4.82	8.51
POS	1.51	2.23	0.85	2.72	2.10	1.70	1.56	1.26	0.50	2.55

†Different superscript letters (X-Y) indicate significant differences ($P < 0.05$) between water availabilities of each single cultivar.

Table 4. Sterol content (mg/kg) and eritrodiol-uvaol ratio (%) of oils from rain fed and irrigated trees

	Nizip yağlık		Kilis yağlık		Halhali		Karamani		Sarı ulak	
	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation	Rain-fed	Drip Irrigation
Cholesterol	9.42	5.15	5.50	4.15	6.35 ^X	5.30 ^Y	6.66	6.07	7.44	7.79
Brassicasterol	1.33 ^X	0.61 ^Y	0.71	0.32	0.56	0.16	0.71	0.61	0.53	0.54
24-methylene-cholesterol	0.66	1.11	0.85	1.58	1.70	0.98	0.88	0.42	1.36	1.61
Campesterol	48.69 ^X	33.97 ^Y	25.11	21.83	36.37	38.18	31.63	35.16	47.32	52.92
Campestanol	9.33	2.83	3.50	1.39	2.23	2.19	2.35	1.57	3.27	2.86
Stigmasterol	21.49	19.69	17.34 ^X	13.51 ^Y	11.74	14.57	13.43 ^X	17.40 ^Y	11.84	12.07
Δ -7-campesterol	2.06 ^X	0.96 ^Y	1.32 ^X	0.54 ^Y	0.40	0.43	0.24	0.61	1.24	1.03
Clerosterol	13.63 ^X	9.90 ^Y	11.93	11.10	10.27	11.03	12.41	14.34	11.67	13.59
β -sitosterol	1282.93 ^X	934.44 ^Y	1013.13	961.00	1052.49	1170.62	1134.62	1316.00	1014.82	1147.14
Sitostanol	19.91	8.79	9.57 ^X	6.38 ^Y	9.62	14.83	6.50	11.70	8.23	8.81
Δ -5-avenasterol	107.86	111.67	127.03	166.66	72.17	86.07	50.96	93.99	55.88	56.27
Δ -5,24-stigmastadienol	7.52 ^X	5.43 ^Y	6.94	7.30	4.88	6.59	5.08	5.59	5.53	5.63
Δ -7-stigmasterol	9.68 ^X	5.72 ^Y	3.30	3.41	5.02	7.49	4.37	9.06	6.42	5.08
Δ -7-avenasterol	14.54 ^X	9.89 ^Y	5.91	9.02	7.13	8.87	4.63	8.28	5.76	6.23
Total sterols	1549.07 ^X	1150.19 ^Y	1232.18	1208.16	1220.96	1367.35	1274.48	1520.82	1181.36	1321.62
Erythrodiol+uvaol	1.52	2.25	2.14	1.57	3.72 ^X	2.01 ^Y	2.96 ^X	0.52 ^Y	2.27	1.96

†Different superscript letters (X-Y) indicate significant differences ($P < 0.05$) between water availabilities of each single cultivar.

Multivariate analysis

Principal component analysis was performed to identify the differences between cultivars based on their attitudes in response to irrigation. Analytical data with adequate selected variables (average weight, flesh/pit ratio, dry matter, oil, hydroxytyrosol, tyrosol, *p*-coumaric acid, luteolin-7-glucoside, rutin, oleuropein, *trans* cinnamic acid, luteolin content of olives; C14:0, C 16:0, C 16:1, C17:0, C17:1, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0, C20:1, C22:0, C24:0, LLL, PLLn, OLL+OLPo, OOLn, PLL, OOL+PPLn, PLO+SLL, PoOP, PPL, OOO, OOP, POP, SOO, cholesterol, brassicasterol, campesterol, campestanol, Δ -7-campesterol, Δ -7-stigmasterol, Δ -7-avenasterol and erythrodiol+uvaol ratio of corresponding

oils) were arranged in a matrix. The first (F1), second (F2) and third (F3) principal components had eigen values of 14.42, 11.11, 6.59 and accounted for 32.04, 24.77 and 14.65 of the variance respectively. Loading and factor score plots are given in Figure 1 and 2. F1 showed high and positive correlations with average weight, LLL, OLL+OLPo, PLL, PPL; high and negative correlations with C18:1 and OOO. F2 was strong and positively correlated with C17:0, C18:3 and high and negatively correlated with POP. Score plot revealing the relations among variables showed that KI, KR, HI had positive scores on F1; while NI, KLI, KLR, HR had positive scores on both F1 and F2.

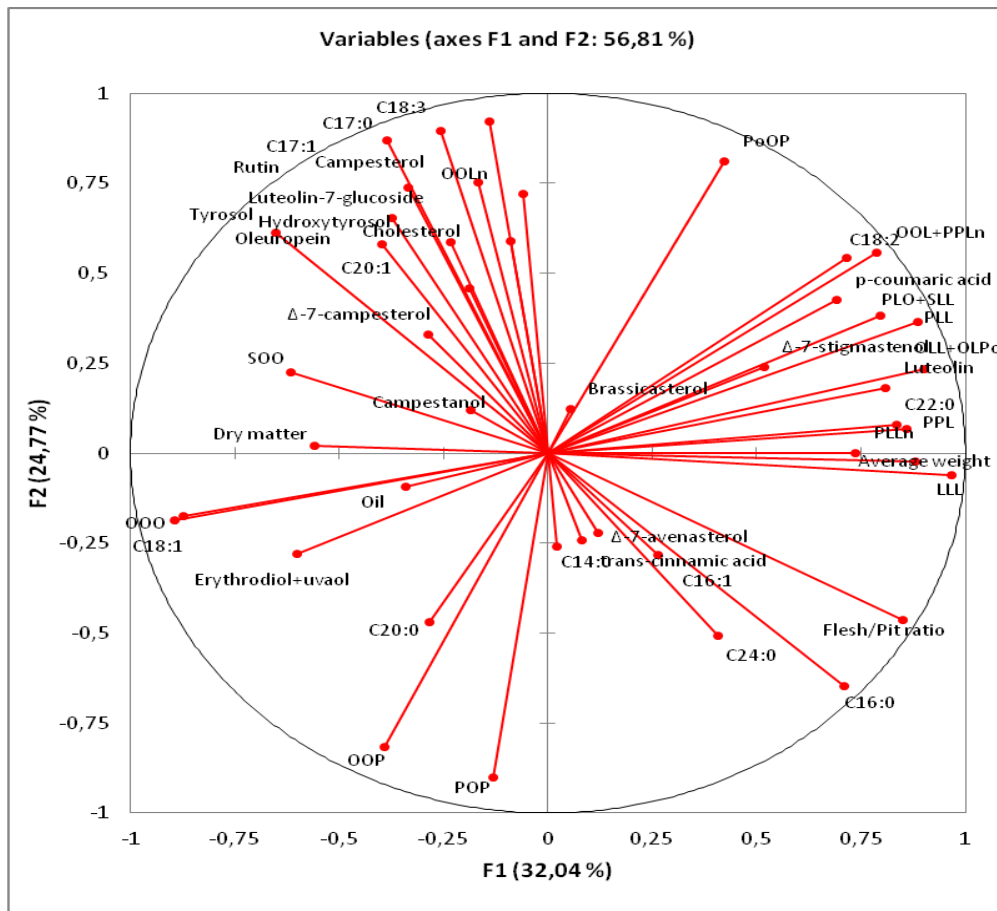


Figure 1. Loading plot of cultivars from rain-fed and irrigated trees obtained from PCA of data using selected variables on the plane identified by two principal components (Kilis Yağlık rain-fed: KLR, Kilis Yağlık irrigated: KLI, Nizip Yağlık rain-fed: NR, Nizip Yağlık irrigated: NI, Karamani rain-fed: KR, Karamani irrigated: KI, Halhalı rain-fed: HR, Halhalı irrigated: HI, Sarı ulak rain-fed: SR, Sarı ulak irrigated: SI)

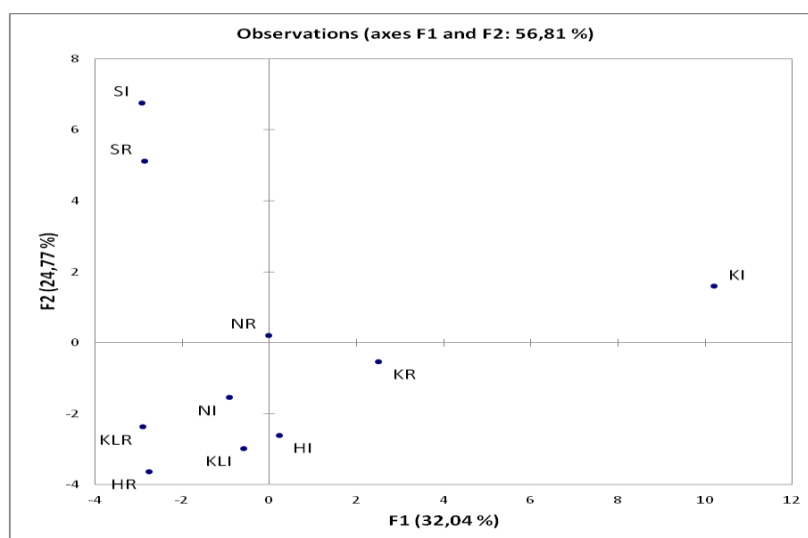


Figure 2. Factor score plot of cultivars from rain-fed and irrigated trees obtained from PCA of data using selected variables on the plane identified by two principal components (Kilis Yağlık rain-fed: KLR, Kilis Yağlık irrigated: KLI, Nizip Yağlık rain-fed: NR, Nizip Yağlık irrigated: NI, Karamani rain-fed: KR, Karamani irrigated: KI, Halhalı rain-fed: HR, Halhalı irrigated: HI, Sarı ulak rain-fed: SR, Sarı ulak irrigated: SI)

Olive and the oil samples were also subjected to further PCAs using i) all physical and chemical parameters, ii) olive phenolics, iii) fatty acids, iv) triacylglycerols, v) sterols as variables. All PCAs revealed that Sarı ulak variety (both rain-fed and irrigated samples) were well separated from other cultivars. Fatty acids were more evident than sterols and triacylglycerols in discriminating the samples.

Hierarchical cluster analysis was carried out to differentiate olive oils according to their response

to water treatment utilizing the selected variables, as in PCA. Euclidean distance between samples and Ward algorithm were used to perform the analysis. A dendrogram obtained from HCA is given in Figure 3, where 3 main groups were identified. The first group contained NR, KLR, KLI, HR, KI where a high similarity between KLR and KLI was observed. The second group consisted of NI and KR. The third group was built by HI, SR, SI where SR and SI formed a couple being surrounded by HI.

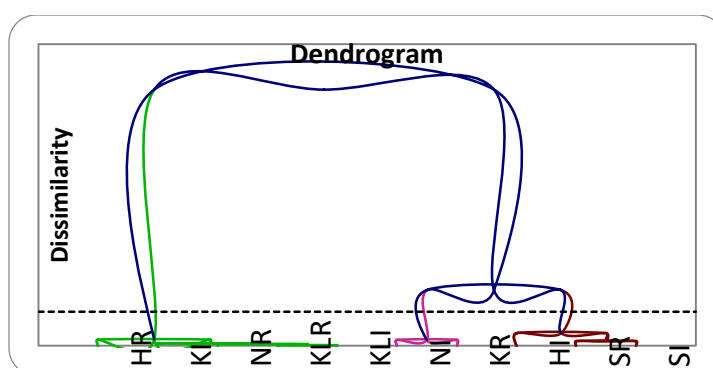


Figure 3. Hierarchical cluster analysis dendrogram of cultivars from rain-fed and irrigated trees obtained using selected variables (Kilis Yağlık rain-fed: KLR, Kilis Yağlık irrigated: KLI, Nizip Yağlık rain-fed: NR, Nizip Yağlık irrigated: NI, Karamani rain-fed: KR, Karamani irrigated: KI, Halhalı rain-fed: HR, Halhalı irrigated: HI, Sarı ulak rain-fed: SR, Sarı ulak irrigated: SI)

CONCLUSION

Thus, in conclusion, the results indicate that drip irrigation affects the characteristics of both olives and olive oils, however various cultivars respond differently to water application. So, further studies should be carried out for the other varieties cultivated in different regions of Turkey, including more parameters such as shelf life and sensorial quality. It is also important to determine the right amount and time of water supplement to increase the yield and quality of the products.

REFERENCES

- AOCS, (2003). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society AOCS Press, Champaign.
- Ayton, J., Mailer, R. J., Haigh, A., Tronson, D., Conlan, D. (2007). Quality and oxidative stability of Australian olive oil according to harvest date and irrigation. *J. Food Lipids* 14:138-156. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4522.2007.00076.x>
- Berenguer, M. J, Vossen, P. M., Grattan, S. R., Connell, J. H., Polito, V. S. (2006). Tree irrigation levels for optimum chemical and sensory properties of olive oil. *HortScience* 41: 427–432.
- Dabbou, S., Chehab, H., Faten, B., Dabbou, S., Esposto, S., Selvaggini, R., Taticchi, A., Servili, M., Montedoro, G. F., Hammami, M. (2010). Effect of three irrigation regimes on Arbequina olive oil produced under Tunisian growing conditions. *Agr. Water Manage.* 97: 763-768. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2010.01.011>
- European Community Regulation 1348/2013 (2013). No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis.
- Goldhamer, D. A. (1999). Regulated deficit irrigation for California canning olives. *Acta Hort.* 474: 373-375. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.474.76>
- Gómez-Rico, A., Salvador, M. D., Moriana, A., Perez, D., Olmedilla, N., Ribas, F., Fregapane, G. (2007). Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food Chem.* 100: 568-578. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.075>
- Herslöf, B. G. (1981). HPLC of triglycerides using UV detection. *J. High Resolut. Chromatogr.* 4: 471-473. <http://dx.doi.org/10.1002/jhrc.1240040911>
- Inglese, P., Barone, E., Gullo, G. (1996). The effect of complementary irrigation on fruit growth, ripening pattern and oil characteristics of olive (*Olea europaea* L.) cv. Carolea. *J. Hort. Sci.* 71: 257–263.
- International Olive Oil Council (2015). Trade Standard applying to olive oil and olive pomace oils. COI/T.15/NC No 3/Rev.
- IUPAC, (1987). Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivates, International Union of Pure and Applied Chemistry, 7 th ed., IUPAC Method 2.301, Blackwell Scientific Publications.
- Motilva, M. J., Tovar, M. J., Romero, M. P., Alegre, A., Girona, J. (2000). Influence of regulated deficit irrigation strategies applied to olive trees (Arbequina cultivar) on oil yield and oil composition during the fruit ripening. *J. Sci. Food Agr.* 80: 2037–2043. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0010\(200011\)80:14<2037::AID-JSFA733>3.0.CO;2-0](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0010(200011)80:14<2037::AID-JSFA733>3.0.CO;2-0)
- Ollivier, D., Artaud, J., Pinatel, C., Durbec, J.P., Guère, M. (2006) Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. *Food Chem.* 97:382–393. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-014-2554-7>.
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2000). Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clin. Chem.* 46: 976-988.
- Parr, J., Bolwell, G. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agr.* 80: 985–1012. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<985::AID-JSFA572>3.0.CO;2-7](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<985::AID-JSFA572>3.0.CO;2-7)

- Patumi, M., d'Andria, R., Fontanazza, G., Morelli, G., Giorio, P., Sorrentino, G. (1999). Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olive (*Olea europaea* L.) under different irrigation regimes. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 74: 729-737.
- Patumi, M., d'Andria, R., Marsilio, V., Fontanazza, G., Morelli, G., Lanza, B. (2002). Olive and olive oil quality after intensive monocone olive growing (*Olea europaea* L. cv. Kalamata) in different irrigation regimes. *Food Chem.* 77: 27-34. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00317-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00317-X)
- Salas, J., Pastor, M., Castro, J., Vega, V. (1997). Influencia del riego sobre la composition y características organolépticas del aceite de oliva. *Grasas Aceites* 48: 74–82.
- Servili, M., Esposto, S., Lodolini, E., Selvaggini, R., Taticchi, A., Urbani, S., Montedoro, G., Serravalle, M., Gucci, R. (2007). Irrigation effects on quality, phenolic composition, and selected volatiles of virgin olive oils Leccino. *J. Agric. Food Chem.* 55: 6609–6618. <http://dx.doi.org/10.1021/jf070599n>
- Stefanoudaki, E., Chartzoulakis, K., Koutsaftakis, A., Kotsifaki, F. (2001). Effect of drought stress on qualitative characteristics of olive oil of cv Koroneiki. *Grasas Aceites* 52: 202-206. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.2001.v52.i3-4.358>
- Stefanoudaki, E., Williams, M., Chartzoulakis, K., Harwood, J. (2009). Effect of irrigation on quality attributes of olive oil. *J. Agric. Food Chem.* 57: 7048-7055. <http://dx.doi.org/10.1021/jf900862w>
- Tovar, M. J., Romero, M. P. J., Motilva, M. J. (2001). Changes in the phenolic composition of olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under linear irrigation strategies. *J. Agric. Food Chem.* 49: 5502–5508. <http://dx.doi.org/10.1021/jf0102416>
- Tovar, M. J., Romero, M. P., Alegre, S., Girona, J., Motilva, M. J. (2002). Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europaea* L.) trees under deficit irrigation. *J. Sci. Food Agric.* 82: 1755–1763. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1246>
- Turkish Food Codex, Communique on olive oil and pomace oil (2018). The Official Gazette of Republic of Turkey, Number 27665, Ankara.
- Yorulmaz, A., Poyrazoglu, E. S., Ozcan, M. M., Tekin, A. (2012). Phenolic profiles of Turkish olives and olive oils. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 114: 1083-1093. <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201100186>
- Yorulmaz, A., Yavuz, H., Tekin, A. (2014). Characterization of Turkish olive oils by triacylglycerol structures and sterol profiles. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 91: 2077–2090. <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-014-2554-7>
- Zelege, K., Mailer, R., Eberbach, P., Wünsche, J. (2012). Oil content and fruit quality of nine olive (*Olea europaea* L.) varieties affected by irrigation and harvest times. *New Zeal. J. Crop Hort.* 40: 241-252. <http://dx.doi.org/10.1080/01140671.2012.662159>.

MATHEMATICAL MODELING OF CONCENTRATIONS OF GRAPE, POMEGRANATE AND BLACK CARROT JUICES BY VARIOUS METHODS

Cüneyt Dinçer^{1,2,*}, İhsan Burak Çam¹, Mehmet Torun³,
Handan Başüenal Gülmez³, Ayhan Topuz³

¹ Akdeniz University, Food Safety and Agricultural Research Center, Antalya, Turkey

² Akdeniz University, Finike Vocational School, Department of Food Processing, Antalya, Turkey

³ Akdeniz University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Antalya, Turkey

Received / Geliş: 22.05.2019; Accepted / Kabul: 16.10.2019 Published online / Online baskı: 13.11.2018

Dinçer, C., Çam, İ.B., Torun, M., Başüenal-Gülmez, H., Topuz, A. (2019). Mathematical modeling of concentrations of grape, pomegranate and black carrot juices by various methods. GIDA (2019) 44 (6) 1092-1105 doi: 10.15237/gida.GD19080

Dinçer, C., Çam, İ.B., Torun, M., Başüenal-Gülmez, H., Topuz, A. (2019). Üzüm, nar ve kara havuç sularının farklı yöntemlerle konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi. GIDA (2019) 44 (6) 1092-1105 doi: 10.15237/gida.GD19080

ABSTRACT

In the present study, grape, pomegranate and black carrot juices were concentrated to 65 °Brix (Bx) from initial concentrations of 15.93, 13.91 and 11.23 °Bx respectively. The concentration kinetics of the juices were investigated using a rotary vacuum evaporator at 80°C, a microwave vacuum evaporator at 180 W and 300 W and osmotic distillation (OD) at room temperature. Experimental data were compared according to three statistical parameters: the correlation coefficient (R^2), reduced chi-squared (χ^2) value, and root mean-square error (RMSE), with values predicted by 13 models. Midilli model exhibited a better fit for the concentration kinetics ($R^2 \geq 0.9990$; $\chi^2 \leq 0.4588$; $RMSE \leq 0.5350$) than the other models, in general. This model was followed by the logarithmic, Page and two-term exponential models. The logarithmic model exhibited slightly better fitting for the thermal concentration method than Midilli model. The lowest energy consumption (1.334-1.540 kWh) was determined for the OD technique.

Keywords: Juice concentration, mathematical modeling, microwave vacuum evaporation, osmotic distillation.

ÜZÜM, NAR VE KARA HAVUÇ SULARININ FARKLI YÖNTEMLERLE KONSANTRASYONUNUN MATEMATİKSEL MODELLENMESİ

ÖZ

Bu çalışmada başlangıç °Briks değerleri sırasıyla 15.93, 13.91 ve 11.23 olan üzüm, nar ve siyah havuç suları 65 °Briks değerine kadar konsantrasyon edilmiştir. Meyve sularının konsantrasyon kinetik değerleri rotary vakum evaporatörde 80 °C’de, mikrodalga vakum evaporatörde 180 ve 300 W’da, ozmotik distilasyonda ise oda sıcaklığında çalışılarak belirlenmiştir. Elde edilen deneysel verilerin 13 farklı modele uygunluğu, korelasyon katsayısı (R^2), azaltılmış ki-kare (χ^2) değeri ve hata kareler ortalamasının karekökü (RMSE) olmak üzere 3 istatistiksel parametreye göre karşılaştırılmıştır. Konsantrasyon kinetiği açısından Midilli modeli ($R^2 \geq 0.9990$; $\chi^2 \leq 0.4588$; $RMSE \leq 0.5350$) diğer modellerden genel olarak daha uyumlu bulunmuş olup, bu modeli logaritmik, Page ve iki terimli eksponansiyel modelleri izlemiştir. Termal konsantrasyon yöntemi için logaritmik modelin Midilli modeline göre daha uyumlu olduğu görülmüştür. En düşük enerji tüketimi (1.334-1.540 kWh) ise ozmotik distilasyon tekniğinde belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Meyve suyu konsantrasyonu, matematiksel modelleme, mikrodalga vakum evaporasyonu, ozmotik distilasyon.

* Corresponding author /Yazışmalardan sorumlu yazar;

✉: cdincer@akdeniz.edu.tr

☎:(+90) 242 227 2057/2598

☎:(+90) 242 310 6506

INTRODUCTION

In the food industry, fruit juices are widely concentrated by thermal evaporation at high temperatures, to reduce storage, transport and packaging costs, and to achieve longer storage times. This process results in loss of fresh juice flavors, color degradation, reduction of nutritional value and formation of a cooked taste and of harmful compounds such as hydroxymethylfurfural (HMF) or furan compounds in the fruit juices. An additional drawback of thermal evaporation is the high energy cost, despite the use of energy-saving techniques. These disadvantages lead to a requirement for alternative methods (Jiao et al. 2004; Bánvölgyi et al. 2009; Dincer et al. 2016; Bozkir and Baysal 2017). Recently, vacuum microwave evaporation and osmotic distillation (OD) have been shown to be promising juice concentration methods for reducing energy costs and improving product quality.

Vacuum microwave evaporation provides quicker mass and energy transfer over a short time. It is known to be successful in concentrating many juice types, such as apple juice (Bozkir and Baysal 2017), pineapple juice (Assawarachan and Noomhorm 2008; 2011), black mulberry juice (Fazaeli et al. 2013a; Fazaeli et al. 2013b) and pomegranate juice (Yousefi et al. 2012). Microwave energy has the advantage of higher penetration into the material and preferential absorption by water molecules. Heat is generated within the food material by reorientation of the dipoles, which in turn causes water molecular friction and generates heat (Assawarachan and Noomhorm 2008; 2011).

On the other hand, osmotic distillation process is carried out at atmospheric pressure and room temperature. The osmotic distillation process involves the use of a microporous hydrophobic membrane to separate two circulating aqueous solutions at different solute concentrations. The difference between the two solute concentrations, i.e., the difference between the water activities, generates a vapor-pressure difference at the vapor–liquid interface, causing a vapor transfer from the dilute solution towards the stripping

solution. This technique can be used to selectively extract the water from aqueous solutions at atmospheric pressure and room temperature, thus avoiding thermal degradation of the juice (Jiao et al. 2004; Bánvölgyi et al. 2009; Dincer et al. 2016).

Knowing the concentration characteristics of the concentrated samples is critical for equipment design, process optimization and product quality improvement. For this reason, the use of mathematical models is necessary for the control and optimization of the concentration process. In addition, the mathematical model descriptions are important for enabling performance improvements in the concentration process (Assawarachan and Noomhorm 2010).

Many researchers have used various mathematical models, (e.g., Lewis, Page, logarithmic, two-term, Midilli, etc.) to describe the drying process for different foods (Yaldyz and Ertekyn, 2001; Delgado et al. 2014; Demiray and Tulek 2014; Doymaz and Karasu, 2018; Karabacak et al. 2018). These models have also been used by a few researchers for the description of the concentration process for fruit juices (Assawarachan and Noomhorm, 2008; 2010; 2011; Goula et al. 2014; Bozkir and Baysal 2017).

To date, osmotic distillation and vacuum microwave concentration studies have mainly focused on operating conditions and their effects on the concentrates. There are also limited studies on mathematical modeling of the osmotic distillation and vacuum microwave concentrations of juices. However, to the best of our knowledge, there is no comparative study of mathematical modeling of osmotic distillation, thermal vacuum evaporation and microwave vacuum concentration for different juice types. Thus, the aim of the present study was to compare the mathematical models describing osmotic distillation, thermal vacuum concentration and microwave vacuum concentration for grape, pomegranate and black carrot juices.

MATERIALS AND METHODS

Sample Preparation

Commercial pasteurized clear grape and pomegranate juices (Dimes AS, Izmir, Turkey) were purchased from a local market in Antalya, Turkey. Black carrot juice concentrate was obtained from Meykon AS, Antalya, Turkey. Concentrated black carrot samples were diluted to the initial concentration of black carrot juice (≈ 11 °Bx) with deionized water prior to concentration. Then, the black carrot juice was pasteurized (at 85°C for 15 minutes (min.)) as described by Kırca et al. (2006).

Analyses

The °Brix value of the samples was measured using a refractometer (PAL- α ATAGO, Tokyo, Japan). Color analysis of the juice samples was carried out using a colorimeter (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan). Color parameters were expressed as L (darkness/whiteness), a (greenness/redness) and b (blueness/yellowness) on the Hunter scale. The instrument was standardized against a white tile where $L = 95.24$, $a = -0.31$ and $b = 3.02$. Turbidity was determined using a turbidimeter (Hach 2100N Turbidimeter, Loveland, CO) using a sample cell (95 mm high \times 25 mm in diameter). The values read from the turbidimeter were expressed as nephelometric turbidity units (NTU) (Tajchakavit et al. 2001). The pH of the samples was measured with a pH meter (Orion 4-Star pH meter, Thermo Scientific, USA).

Concentration

Thermal evaporation of the juices (400 mL) was performed to 65 °Bx by rotary evaporator (IKA RV 10 rotary evaporator with HB 10 bath, Germany) at 75 rpm rotation speed and a pressure of 270 mbar in a water bath maintained at 80°C.

The microwave vacuum evaporation was performed using a programmable microwave oven (Samsung ME86V, 100-800W, 2450 MHz). An autoclavable glass bottle containing the juice sample (400 mL) was placed in the center of the microwave oven, which was connected to a vacuum pump (KNF Vacuum Pump N 022 AN.18, Germany) at a pressure of 270 mbar.

Microwave (MW) studies were performed at 180 W and 300 W (10 s on and 20 s off) because these power settings do not cause undesirable results such as foaming and sample charring.

Osmotic distillation (OD) processes were performed as described by Dincer et al. (2016). Two laboratory-size hollow fiber membrane modules (MD 020 CP 2N, Microdyn, Germany) connected in series were used for osmotic distillation. Grape, pomegranate and black carrot juices (1,400 mL), at 15.93, 13.91 and 11.23 °Bx respectively, were pumped into the tube side. Brine solution (calcium chloride dihydrate at 65% w/w) was pumped into the shell side of the membrane. Both solutions were circulated in countercurrent mode using two peristaltic pumps (Heidolph PD 5006, Germany). The recycle flow rate was 20 L/hour (h) on both sides. The final grape, pomegranate and black carrot juice concentration of 65 °Bx was achieved in ≈ 560 , 640 and 647 min. respectively. The initial weight of the brine solution was three times higher than that of the juice, in order to prevent significant dilution, which would decrease the driving force during the experiments. After osmotic distillation, the membrane module was cleaned as described.

MW 300W samples were taken at 10 min. intervals, thermal and MW 180W samples at 30 min. intervals and OD samples at 60 min. intervals and replaced after measurements were taken. All processes were performed in triplicate. The mean results were given.

Energy Consumption

Energy consumption during concentration of the samples was measured using an energy meter (PeakTech 9035, Germany).

Mathematical Model of Concentration

The 13 drying models given in Table 1 were used to describe the concentration kinetics of the juices. Parameters in all models were determined using SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., USA). Evaluation of the models was assessed using the coefficient of determination (R^2), reduced chi-squared (χ^2) value and root mean-square error (RMSE). These three parameters were calculated

using the following equations (1-3), as reported by Assawarachan and Noomhorm (2011).

$$R^2 = 1 - \frac{\text{Residual Soluble Solid}}{(\text{Corrected Residual Soluble Solid})} \quad (1)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum(\Delta B_{exp,i} - \Delta B_{pred,i})^2}{N - n_p} \quad (2)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\Delta B_{exp,i} - \Delta B_{pred,i})^2} \quad (3)$$

where $\Delta B_{exp,i}$ and $\Delta B_{pred,i}$ are the experimentally observed and predicted concentration changes in terms of °Bx respectively. N is the number of observations and n_p is the number of constants in the model.

Table 1. Mathematical models applied to concentration of juice.

Model name	Model equation	Reference
Lewis	$B-B_0 = \exp(-k.t)$	Goula et al. 2014
Henderson and Pabis	$B-B_0 = a.\exp(-k.t)$	Goula et al. 2014
Page	$B-B_0 = \exp(-kt^n)$	Goula et al. 2014
Two-term	$B-B_0 = a.\exp(-k_0.t) + b.\exp(-k_1.t)$	Delgado et al. 2014
Two-term exponential	$B-B_0 = a.\exp(-k.t) + (1-a).\exp(-k.a.t)$	Delgado et al. 2014
Logarithmic	$B-B_0 = a.\exp(-k.t) + c$	Delgado et al. 2014
Wang and Singh	$B-B_0 = 1 + a.t + b.t^2$	Goula et al. 2014
Modified Henderson and Pabis	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + b.\exp(-g.t) + c.\exp(-ht)$	Delgado et al. 2014
Midilli	$B-B_0 = a.\exp(-kt^n) + b.t$	Midilli et al. 2002
Verma	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + (1-a).\exp(-g.t)$	Swain et al. 2012
Diffusion approach	$B-B_0 = a.\exp(-kt) + (1-a).\exp(-k.b.t)$	Swain et al. 2012
Root of B-B ₀	$B-B_0 = (n + k.t)^2$	Vega-Gálvez et al. 2008
Modified Page 2	$B-B_0 = \exp(-(kt)^n)$	Delgado et al. 2014

t: concentration time (min); B: soluble solid concentration of juice at any time (Brix), B₀: soluble solid concentration of juice at initial (Brix), k, a, b, c, g, h, n, k₀, k₁ are model constants.

RESULTS AND DISCUSSION

Physicochemical Properties of the Initial Juices

Some physicochemical properties of the juices are shown in Table 2. The °Brix and pH values of all samples ranged from 11.23-15.93 and 3.94-4.81 respectively. The highest turbidity value was

recorded in pomegranate juice, at 24.88 NTU, while the lowest turbidity value was in black carrot juice at 0.64 NTU. The color parameters of the samples were found to be very close to one another. L, a and b values of the samples varied between 18.62-18.81, -0.05-2.31 and 1.55-2.43 respectively.

Table 2. Initial physicochemical properties of the juice samples.

	Grape juice	Pomegranate juice	Black carrot juice
Brix	15.93±0.04	13.91±0.04	11.23±0.04
pH	4.40±0.03	3.94±0.01	4.81±0.02
Turbidity (NTU)	12.99±0.03	24.88±0.15	0.64±0.02
Color			
L	18.81±0.01	18.63±0.11	18.62±0.07
a	2.31±0.04	1.69±0.09	-0.05±0.00
b	2.43±0.03	2.26±0.03	1.55±0.03

Results are means ± standard error.

Energy Consumption During Concentration Process

Minimizing energy consumption in the concentration of fruit juices is important in order to reduce the cost of the method used. Therefore, energy consumption during the concentration process is also shown in Table 3. In the OD method, 1400 mL of fruit juice was used to ensure sufficient sampling, while 400 mL samples were used in the other methods. Calculations for the comparison of energy consumption were carried out on a 1-L sample. The lowest energy consumption (1.334-1.540 kWh) was measured

for the OD technique, for all juice types. In fact, it has previously been stated that the osmotic distillation process at moderate temperatures and pressures results in lower energy consumption than thermal methods (Cissé et al. 2011). The energy consumption for grape juice concentration via the thermal method was found to be 3.628 kWh, while that for pomegranate juice was 3.930 kWh and that for black carrot juice was 4.370 kWh. In addition, the energy consumed decreased as the microwave power increased from 180 W to 300 W, for all juice types.

Table 3. Concentration time and energy consumption of various concentration techniques applied to juices samples.

Sample	Concentration process	Initial sample volume (mL)	Concentration time (min)	Energy consumption (kWh)/L
Grape juice (15.93 Bx)	Thermal	400	114.7	3.628
	MW 180 W	400	136.0	2.268
	MW 300 W	400	72.7	1.818
	OD	1400	560.0	1.334
Pomegranate juice (13.91 Bx)	Thermal	400	124.3	3.930
	MW 180 W	400	141.7	2.363
	MW 300 W	400	75.7	1.893
	OD	1400	640.0	1.524
Black carrot juice (11.23 Bx)	Thermal	400	138.2	4.370
	MW 180 W	400	148.0	2.468
	MW 300 W	400	80.0	2.000
	OD	1400	646.7	1.540

Concentration Changes During the Process

The concentration curves (time versus °Brix values) obtained using the various techniques (thermal, MW 180 W, MW 300 W and OD) for the grape, pomegranate and black carrot juice concentrates, are presented in Fig. 1, Fig. 2 and Fig. 3 respectively. The experimental data from all techniques show exponential-type concentration behavior in grape, pomegranate and black carrot juice. This is in agreement with the results reported in many studies on different materials (Assawarachan and Noomhorm, 2010; Onsekizoglu, 2013; Goula et al. 2014; Bozkir and Baysal, 2017). Grape, pomegranate and black carrot juice samples were concentrated to 65 °Bx by thermal methods for 114.7, 124.3 and 138.2

min. respectively. The same time ranking was also observed for the OD and MW methods. In addition, the concentration time decreased as the microwave power increased from 180 W to 300 W for all the juice types, as expected.

Modeling of Concentration Kinetics

The regression coefficients (R^2), reduced chi-squared (χ^2) values and root mean-square error (RMSE) values, calculated in order to observe the accuracy of the models, are presented in Tables 4, 5 and 6 for the grape, pomegranate and black carrot juice concentration processes respectively. The R^2 values of the models varied between 0.9156 and 0.9999 for grape juice, between 0.9600 and 0.9995 for pomegranate juice and between

0.9677 to 0.9997 for black carrot juice. The χ^2 and RMSE values of the models varied between 0.0351 and 33.1441 and between 0.1495 and 5.422 respectively. The higher R^2 and the lower χ^2 and

RMSE values indicate better fitting of the model to the data. The kinetic parameters of the four best-fit models were estimated as shown in Tables 7, 8 and 9.

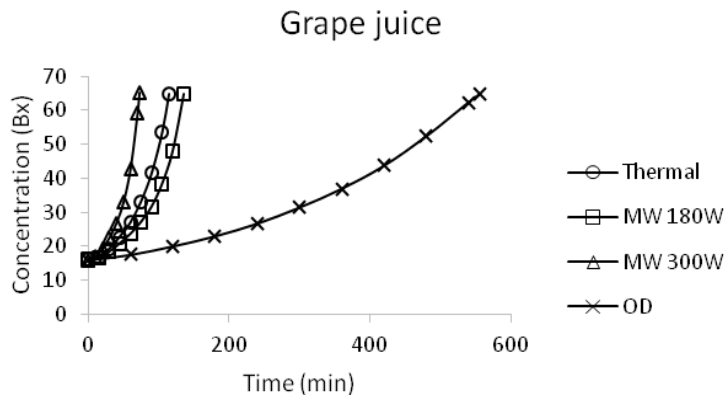


Fig. 1. The concentration curves for grape juice concentrated using the various techniques.

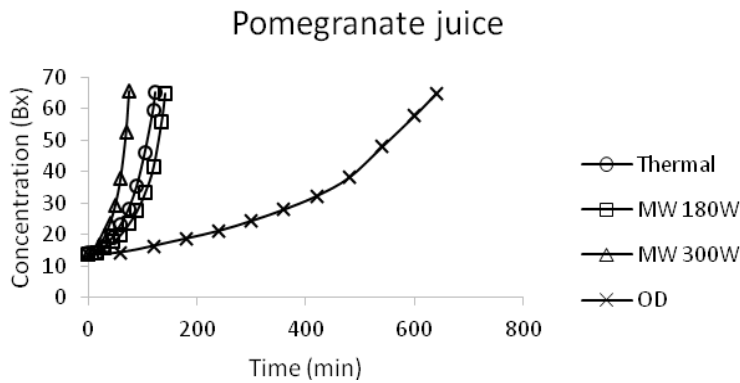


Fig. 2. The concentration curves for pomegranate juice concentrated using the various techniques.

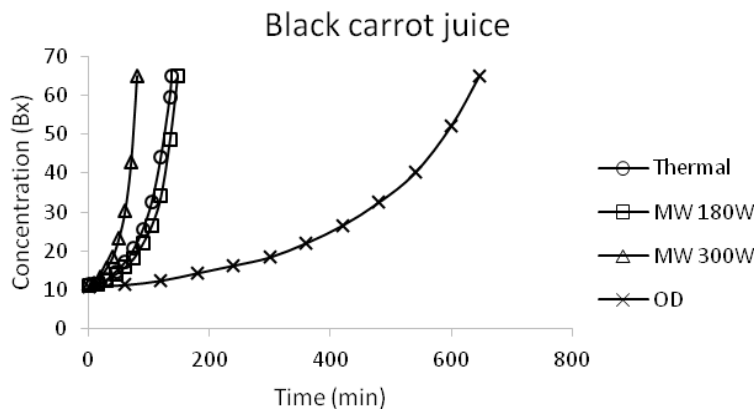


Fig. 3. The concentration curves for black carrot juice concentrated using the various techniques.

Table 4. Parameters of the kinetic models used to fit concentration data for grape juice concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	R ²	χ^2	RMSE
Lewis	Thermal	0.9794	6.2082	2.3491
	MW 180W	0.9904	2.4211	1.4761
	MW 300W	0.9936	2.1815	1.3925
	OD	0.9156	26.5153	4.9097
Henderson and Pabis	Thermal	0.9943	1.9539	1.2327
	MW 180W	0.9969	0.8824	0.8402
	MW 300W	0.9980	0.7634	0.7705
	OD	0.9883	4.0902	1.8294
Page	Thermal	0.9978	0.7746	5.4220
	MW 180W	0.9980	0.5710	0.6759
	MW 300W	0.9990	0.4023	0.5594
	OD	0.9985	0.5233	0.6543
Two-term	Thermal	0.9943	2.7354	1.2327
	MW 180W	0.9969	1.1766	0.8402
	MW 300W	0.9980	1.0687	0.7705
	OD	0.9883	5.2589	1.8294
Two-term exponential	Thermal	0.9960	1.3928	1.0408
	MW 180W	0.9904	2.7238	1.4762
	MW 300W	0.9936	2.4932	1.3925
	OD	0.9983	0.5897	0.6946
Logarithmic	Thermal	0.9995	0.1923	0.3581
	MW 180W	0.9987	0.4067	0.5336
	MW 300W	0.9996	0.1910	0.3569
	OD	0.9998	0.0697	0.2252
Wang and Singh	Thermal	0.9941	2.0249	1.2550
	MW 180W	0.9837	4.6305	1.9247
	MW 300W	0.9892	4.1731	1.8016
	OD	0.9991	0.3246	0.5154
Modified Henderson and Pabis	Thermal	0.9943	4.5590	1.2327
	MW 180W	0.9969	1.7649	0.8402
	MW 300W	0.9989	1.0251	0.5846
	OD	0.9883	7.3624	1.8294
Midilli	Thermal	0.9993	0.3613	0.4480
	MW 180W	0.9993	0.2726	0.4045
	MW 300W	0.9997	0.1552	0.2936
	OD	0.9999	0.0351	0.1495
Verma	Thermal	0.9954	1.8438	1.1087
	MW 180W	0.9975	0.8251	0.7600
	MW 300W	0.9990	0.4427	0.5432
	OD	0.9917	3.2681	1.5417
Diffusion approach	Thermal	0.9794	8.2776	2.3491
	MW 180W	0.9904	3.1129	1.4761
	MW 300W	0.9936	2.9087	1.3925
	OD	0.9156	33.1441	4.9097
Root of B-B0	Thermal	0.9939	2.1021	1.2787
	MW 180W	0.9835	4.6807	1.9351
	MW 300W	0.9893	4.1340	1.7931
	OD	0.9990	0.3392	0.5268
Modified Page	Thermal	0.9794	7.0951	2.3491
	MW 180W	0.9904	2.7237	1.4761
	MW 300W	0.9936	2.4932	1.3925
	OD	0.9156	29.4614	4.9097

Modeling of concentrations of juice by various methods

Table 5. Parameters of the kinetic models used to fit concentration data for pomegranate juice concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	R ²	χ^2	RMSE
Lewis	Thermal	0.9844	5.5449	2.2339
	MW 180W	0.9969	0.9316	0.9203
	MW 300W	0.9963	1.2360	1.0482
	OD	0.9600	12.0568	3.3245
Henderson and Pabis	Thermal	0.9943	2.2999	1.3564
	MW 180W	0.9977	0.7940	0.8060
	MW 300W	0.9976	0.9220	0.8468
	OD	0.9935	2.1434	1.3365
Page	Thermal	0.9973	1.0881	0.9330
	MW 180W	0.9979	0.7141	0.7644
	MW 300W	0.9982	0.7018	0.7388
	OD	0.9982	0.6125	0.7144
Two-term	Thermal	0.9943	3.0666	1.3564
	MW 180W	0.9977	1.0209	0.8060
	MW 300W	0.9976	1.2908	0.8468
	OD	0.9935	2.6792	1.3365
Two-term exponential	Thermal	0.9962	1.5119	1.0998
	MW 180W	0.9978	0.7416	0.7790
	MW 300W	0.9980	0.7691	0.7734
	OD	0.9942	1.9375	1.2707
Logarithmic	Thermal	0.9995	0.2114	0.3847
	MW 180W	0.9985	0.5907	0.6554
	MW 300W	0.9992	0.3400	0.4761
	OD	0.9990	0.3585	0.5185
Wang and Singh	Thermal	0.9959	1.6332	1.1430
	MW 180W	0.9813	6.3386	2.2773
	MW 300W	0.9861	5.3008	2.0305
	OD	0.9939	2.0350	1.3022
Modified Henderson and Pabis	Thermal	0.9943	4.5998	1.3564
	MW 180W	0.9977	1.4293	0.8060
	MW 300W	0.9976	2.1514	0.8468
	OD	0.9935	3.5723	1.3365
Midilli	Thermal	0.9995	0.2408	0.3801
	MW 180W	0.9990	0.4497	0.5350
	MW 300W	0.9991	0.4588	0.5049
	OD	0.9991	0.3821	0.5047
Verma	Thermal	0.9949	2.3293	1.2769
	MW 180W	0.9978	0.8444	0.7836
	MW 300W	0.9978	0.9826	0.8094
	OD	0.9950	1.8506	1.1781
Diffusion approach	Thermal	0.9844	7.1291	2.2339
	MW 180W	0.9969	1.1644	0.9203
	MW 300W	0.9963	1.6480	1.0482
	OD	0.9600	14.7361	3.3245
Root of B-B0	Thermal	0.9959	1.6380	1.1447
	MW 180W	0.9820	6.0886	2.2319
	MW 300W	0.9864	5.1854	2.0083
	OD	0.9930	2.3319	1.3940
Modified Page	Thermal	0.9844	6.2380	2.2339
	MW 180W	0.9969	1.0351	0.9203
	MW 300W	0.9963	1.4126	1.0482
	OD	0.9600	13.2625	3.3245

Table 6. Parameters of the kinetic models used to fit concentration data for black carrot juice concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	R ²	χ^2	RMSE
Lewis	Thermal	0.9980	0.7535	0.8277
	MW 180W	0.9960	1.2057	1.0470
	MW 300W	0.9976	0.7647	0.8245
	OD	0.9944	1.7088	1.2515
Henderson and Pabis	Thermal	0.9982	0.7719	0.7947
	MW 180W	0.9987	0.4399	0.5999
	MW 300W	0.9988	0.4455	0.5887
	OD	0.9979	0.7070	0.7676
Page	Thermal	0.9984	0.6665	0.7385
	MW 180W	0.9984	0.5453	0.6679
	MW 300W	0.9985	0.5441	0.6505
	OD	0.9987	0.4536	0.6148
Two-term	Thermal	0.9982	0.9924	0.7947
	MW 180W	0.9987	0.5656	0.5999
	MW 300W	0.9988	0.6237	0.5887
	OD	0.9979	0.8838	0.7676
Two-term exponential	Thermal	0.9985	0.6183	0.7113
	MW 180W	0.9983	0.5616	0.6778
	MW 300W	0.9985	0.5570	0.6582
	OD	0.9981	0.6423	0.7316
Logarithmic	Thermal	0.9997	0.1589	0.3400
	MW 180W	0.9989	0.4169	0.5507
	MW 300W	0.9992	0.3241	0.4648
	OD	0.9994	0.2431	0.4270
Wang and Singh	Thermal	0.9862	5.7769	2.1741
	MW 180W	0.9677	10.8922	2.9853
	MW 300W	0.9716	10.4286	2.8480
	OD	0.9839	5.4373	2.1286
Modified Henderson and Pabis	Thermal	0.9982	1.3893	0.7947
	MW 180W	0.9987	0.7918	0.5999
	MW 300W	0.9988	1.0395	0.5887
	OD	0.9979	1.1784	0.7676
Midilli	Thermal	0.9995	0.2662	0.4116
	MW 180W	0.9993	0.3217	0.4524
	MW 300W	0.9994	0.2843	0.3974
	OD	0.9995	0.2187	0.3819
Verma	Thermal	0.9982	0.8451	0.7840
	MW 180W	0.9985	0.5535	0.6345
	MW 300W	0.9976	1.0196	0.8245
	OD	0.9982	0.6831	0.7158
Diffusion approach	Thermal	0.9980	0.9419	0.8277
	MW 180W	0.9960	1.5072	1.0470
	MW 300W	0.9976	1.0196	0.8245
	OD	0.9944	2.0885	1.2515
Root of B-B0	Thermal	0.9867	5.6039	2.1413
	MW 180W	0.9687	10.5396	2.9365
	MW 300W	0.9718	0.9718	0.9718
	OD	0.9846	5.1969	2.0810
Modified Page	Thermal	0.9980	0.8372	0.8277
	MW 180W	0.9960	1.3397	1.0470
	MW 300W	0.9976	0.8740	0.8245
	OD	0.9944	1.8796	1.2515

Modeling of concentrations of juice by various methods

Table 7. Kinetic parameters of selected models for grape juice concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	Model constants				
		a	k	n	b	c
Midilli	Thermal	0.0159	-1.1821	0.3997	0.0618	
	MW 180W	0.0390	-0.3599	0.6009	0.0772	
	MW 300W	0.0320	-0.6736	0.5504	0.1276	
	OD	0.0003	-3.0816	0.2109	0.0217	
Logarithmic	Thermal	3.6320	-0.0233			-4.0064
	MW 180W	2.1864	-0.0231			-1.8918
	MW 300W	2.2203	-0.0431			-2.0341
	OD	9.2099	-0.0033			-9.5478
Page	Thermal		-0.1025	0.7667		
	MW 180W		-0.0591	0.8519		
	MW 300W		-0.1007	0.8528		
	OD		-0.0995	0.5806		
Two-term exponential	Thermal	1.2532	-0.0418			
	MW 180W	1.0000	-0.0288			
	MW 300W	1.0000	-0.0539			
	OD	-4.9996	0.0008			

Table 8. Kinetic parameters of selected models for pomegranate concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	Model constants				
		a	k	n	b	c
Midilli	Thermal	0.0081	-1.7762	0.3292	0.0169	
	MW 180W	0.0578	-0.2244	0.6818	0.0648	
	MW 300W	0.0476	-0.5555	0.5801	0.0924	
	OD	0.00003185	-3.0661	0.2350	0.0212	
Logarithmic	Thermal	3.4807	-0.0222			-4.2504
	MW 180W	1.5498	-0.0247			-1.2589
	MW 300W	1.8339	-0.0444			-1.8946
	OD	4.6185	-0.0039			-4.6526
Page	Thermal		-0.0863	0.7920		
	MW 180W		-0.0376	0.9383		
	MW 300W		-0.0753	0.9144		
	OD		-0.0435	0.6978		
Two-term exponential	Thermal	-0.9930	0.0263			
	MW 180W	-0.2005	0.1317			
	MW 300W	1.2246	-0.0583			
	OD	1.2556	-0.0079			

Table 9. Kinetic parameters of selected models for black carrot juice concentrated by various concentration techniques.

Mathematical Model	Concentration method	Model constants				
		a	k	n	b	c
Midilli	Thermal	0.0320	-0.5512	0.5249	0.0327	
	MW 180W	0.0344	-0.2574	0.6674	0.0439	
	MW 300W	0.0540	-0.3426	0.6810	0.0775	
	OD	0.0450	-0.1563	0.5855	0.0133	
Logarithmic	Thermal	1.5950	-0.0256			-1.8504
	MW 180W	0.8302	-0.0282			-0.5209
	MW 300W	0.9887	-0.0500			-0.8054
	OD	1.9495	-0.0052			-1.7613
Page	Thermal		-0.0354	0.9580		
	MW 180W		-0.0164	1.0995		
	MW 300W		-0.0382	1.0601		
	OD		-0.0131	0.8835		
Two-term exponential	Thermal	1.2056	-0.0313			
	MW 180W	0.4890	-0.0311			
	MW 300W	0.5787	-0.0552			
	OD	1.2328	-0.0071			

The Midilli model exhibited the best fit for the concentration kinetics ($R^2 \geq 0.9990$; $\chi^2 \leq 0.4588$; $RMSE \leq 0.5350$) in general, among the 13 models. Additionally, as seen from Figs 4-6, the Midilli model presented a successful prediction for the concentration characteristics of the grape, pomegranate and black carrot juices when the

experimental concentration ratios were compared with those predicted by the model. This was followed by the logarithmic, Page and two-term exponential models. However, the logarithmic model exhibited better fitting for the thermal concentration method at 80°C than the Midilli model.

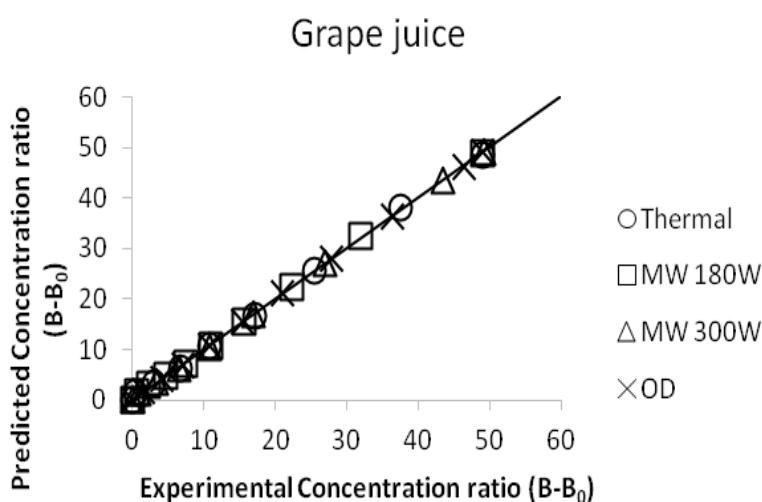


Fig. 4. Experimental and predicted values of total soluble solids concentration change in grape juice for the Midilli model, using various concentration techniques.

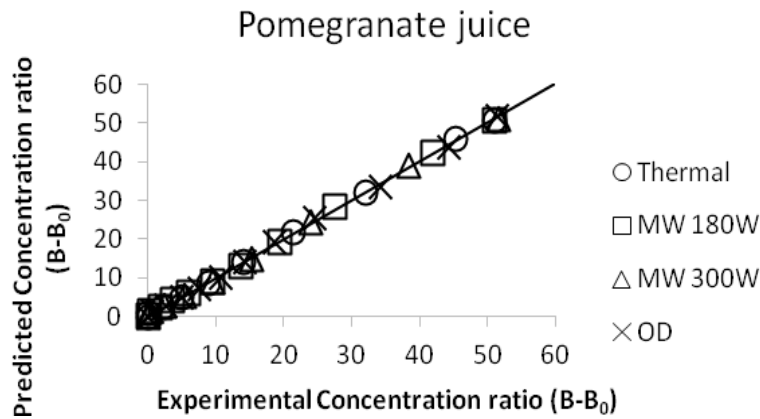


Fig. 5. Experimental and predicted values of total soluble solids concentration change in pomegranate juice for the Midilli model, using various concentration techniques.

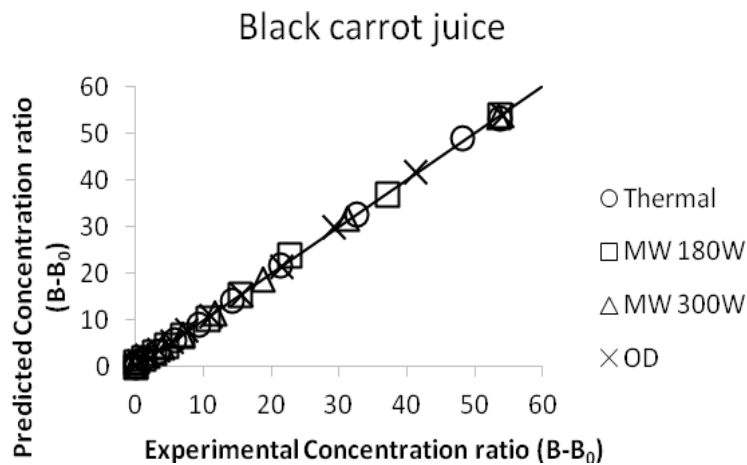


Fig. 6. Experimental and predicted values of total soluble solids concentration change in black carrot juice for the Midilli model, using various concentration techniques

Goula et al. (2014) reported that the logarithmic model was the best descriptive model for rotary vacuum evaporation of pomegranate juice, whereas Assawarachan and Noomhorm (2011) stated that the modified Page model gave better predictions for vacuum microwave concentration of pineapple juice. On the other hand, Yousefi et al. (2012) used a first-order reaction model to describe the concentration of pomegranate juice during microwave and conventional concentration processes. However, the authors

did not test the Midilli model for describing the concentration process for the juice.

The k -value of the Midilli model varied between -3.0816 and -0.1563, whereas the k -value of the logarithmic model varied between -0.0500 and -0.0033 in the present study (Tables 7-9). On the other hand, the k -value of the logarithmic model varied between -0.120 and -0.0003 in pomegranate juice (Goula et al. 2014) and between 0.0422 and 0.0742 in pineapple juice (Assawarachan and Noomhorm, 2011).

The lowest R² value (91.56) among the established models was calculated for the grape juice samples that were concentrated using OD in the Lewis, modified Page and diffusion approach models. However, the fitting for these models is better in samples with lower initial Brix values (black carrot juice (11.23 °Bx) > pomegranate juice (13.91 °Bx) > grape juice (15.93 °Bx)) concentrated using OD.

In processes where liquid foods are concentrated by membranes, such as osmotic distillation, modeling studies have focused on the mass transfer flux in addition to the concentration level. The mass transfer flux of water can be estimated by Knudsen and molecular diffusion models (Romero et al. 2003; Valdés et al. 2009; Onsekizoglu Bagci, 2015). However, in this study, it was determined that using osmotic distillation, the concentration fits well with the selected models (Tables 1, 2 and 3).

CONCLUSION

In conclusion, it has been shown that the models used to calculate drying kinetics are quite compatible with the concentration process for various fruit juices. Midilli model exhibited a better fit for predicting concentration changes in grape, pomegranate and black carrot juice, than the other established models. Knowledge of modeling the concentration process for vacuum microwave and osmotic distillation processes may provide control and optimization of concentration processes in the industry. In addition, determination of the mathematical models may improve the efficiency of concentration processes. However, another important parameter is the quality of the product. Therefore, further studies should focus on comparing the quality parameters of juices concentrated using different methods, together with the mathematical modeling.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by The Scientific Research Projects Coordination Unit of Akdeniz University (Antalya, Turkey) (Project Number: FBA-2017-2810)

REFERENCES

- Assawarachan, R., Noomhorm, A. 2008. Effect of operating condition on the kinetic of color change of concentrated pineapple juice by microwave vacuum evaporation. *Int J Food Agric Dev*, 6 (3&4), 47-53.
- Assawarachan, R., Noomhorm, A. 2010. Changes in color and rheological behavior of pineapple concentrate through various evaporation methods. *Int J Agric Biol Eng*, 3(1), 74-84.
- Assawarachan, R., Noomhorm, A. 2011. Mathematical models for vacuum-microwave concentration behavior of pineapple juice. *J Food Process Eng*, 34(5), 1485-1505.
- Bánvölgyi, S., Horváth, S., Stefanovits-Bányai, É., Békássy-Molnár, E., Vatai, G. 2009. Integrated membrane process for blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) juice concentration. *Desalination*, 241(1-3), 281-287.
- Bozkir, H., Baysal, T. 2017. Concentration of apple juice using a vacuum microwave evaporator as a novel technique: Determination of quality characteristics. *J Food Process Eng*, 40(5), e12535.
- Demiray, E., Tulek, Y. 2014. Drying characteristics of garlic (*Allium sativum* L) slices in a convective hot air dryer. *Heat Mass Transfer*, 50(6), 779-786.
- Cissé, M., Vaillant, F., Bouquet, S., Pallet, D., Lutin, F., Reynes, M., Dornier, M. 2011. Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 12(3), 352-360.
- Delgado, T., Pereira, J. A., Baptista, P., Casal, S., Ramalhosa, E. 2014. Shell's influence on drying kinetics, color and volumetric shrinkage of *Castanea sativa* Mill. fruits. *Food Res Int*, 55, 426-435.
- Dincer, C., Tontul, I., Topuz, A. 2016. A comparative study of black mulberry juice concentrates by thermal evaporation and osmotic distillation as influenced by storage. *Innovative Food Sci Emerg Technol*, 38, 57-64.
- Doymaz, İ., Karasu, S. 2018. Effect of air temperature on drying kinetics, colour changes

- and total phenolic content of sage leaves (*Salvia officinalis*). *Qual. Assur. Saf. Crops Food*, 10(3), 269-276.
- Fazaeli, M., Hojjatpanah, G., Emam-Djomeh, Z. 2013a. Effects of heating method and conditions on the evaporation rate and quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *J. Food Sci. Technol*, 50(1), 35-43.
- Fazaeli, M., Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z. 2013b. Investigation on the effects of microwave and conventional heating methods on the phytochemicals of pomegranate (*Punica granatum* L.) and black mulberry juices. *Food Res Int*, 50(2), 568-573.
- Goula, A. M., Tzika, A., Adamopoulos, K. G. 2014. Kinetic Models of Evaporation and Total Phenolics Degradation during Pomegranate Juice Concentration. *Int J Food Eng*, 10(3), 383-392.
- Jiao, B., Cassano, A., Drioli, E. 2004. Recent advances on membrane processes for the concentration of fruit juices: a review. *J Food Eng*, 63(3), 303-324.
- Karabacak, A. Ö., Suna, S., Tamer, C. E., Çopur, Ö. U. 2018. Effects of oven, microwave and vacuum drying on drying characteristics, colour, total phenolic content and antioxidant capacity of celery slices. *Qual. Assur. Saf. Crops Food*, 10(2), 193-205.
- Kırca, A., Özkan, M., Cemeroglu, B. 2006. Stability of black carrot anthocyanins in various fruit juices and nectars. *Food Chem*, 97(4), 598-605.
- Midilli, A., Kucuk, H., Yapar, Z. 2002. A new model for single-layer drying. *Drying Technol*, 20(7), 1503-1513.
- Onsekizoglu Bagci, P. 2015. Potential of membrane distillation for production of high quality fruit juice concentrate. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55(8), 1098-1113.
- Onsekizoglu, P. 2013. Production of high quality clarified pomegranate juice concentrate by membrane processes. *J Membr Sci*, 442, 264-271.
- Romero, J., Rios, G. M., Sanchez, J., Bocquet, S., Savedra, A. 2003. Modeling heat and mass transfer in osmotic evaporation process. *AIChE J*, 49(2), 300-308.
- Swain, S., Samuel, D. V. K., Bal, L. M., Kar, A., Sahoo, G. P. 2012. Modeling of microwave assisted drying of osmotically pretreated red sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *Food Sci Biotechnol*, 21(4), 969-978.
- 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.
- Valdés, H., Romero, J., Saavedra, A., Plaza, A., Bubnovich, V. 2009. Concentration of noni juice by means of osmotic distillation. *J Membr Sci*, 330(1-2), 205-213.
- Vega-Gálvez, A., Lemus-Mondaca, R., Bilbao-Sáinz, C., Yagnam, F., Rojas, A. 2008. Mass transfer kinetics during convective drying of red pepper var. Hungarian (*Capsicum annum* L.): mathematical modeling and evaluation of kinetic parameters. *J Food Process Eng*, 31(1), 120-137.
- Yaldyz, O., Ertekyn, C. 2001. Thin layer solar drying of some vegetables. *Drying Technol*, 19(3-4), 583-597.
- Yousefi, S., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M. A., Askari, G. R. 2012. Comparing the effects of microwave and conventional heating methods on the evaporation rate and quality attributes of pomegranate (*Punica granatum* L.) juice concentrate. *Food Bioprocess Technol*, 5(4), 1328-1339.



GIDA PATOJENLERİNİN BİYOKONTROLÜNDE BAKTERİYOFAJ UYGULAMALARI*

Merve Akpınar **, A. Kadir Halkman

Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

Geliş / *Received*: 06.08.2019; Kabul / *Accepted*: 09.11.2019; Online baskı / *Published online*: 15.11.2019

Akpınar, M., Halkman, A. K. (2019). Gıda patojenlerinin biyokontrolünde bakteriyofaj uygulamaları *GIDA* (2019) 44 (6): 1106-1120 doi: 10.15237/gida.GD19133

Akpınar, M., Halkman, A. K. (2019). Application of bacteriophages for biocontrol of food pathogens GIDA (2019) 44 (6): 1106-1120 doi: 10.15237/gida.GD19133

ÖZ

Gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojenlerin antibiyotiklere gittikçe direnç kazanması, gıda kaynaklı vakaların sayısının artması ve gıda endüstrisindeki kullanılan klasik yöntemlerin yetersiz hale gelmesiyle birlikte yeni alternatif arayışlara başlanmıştır. Bu arayışların sonucunda doğada oldukça yaygın olarak bulunan ve kendilerine özgü konakçıları enfekte edip lize edebilen bakteriyofajlar “faj terapisi” adı altında alternatif çözümleri oluşturmaktadır. Bakteriyofajlar, bakterilerin hücre içi zorunlu parazitleri olup konakçıdan ayrıldıklarında metabolik faaliyetlerini gerçekleştiremezler. Ayrıca sadece hedef konakçısı üzerinde etkili oldukları için doğal flora zarar vermezler. Bu nedenle antimikrobiyel ajan olarak önem kazanırlar. Bu derlemede, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 gibi gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel ajan olarak yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan bakteriyofajlar hakkında bilgi verilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, faj terapisi, antimikrobiyel ajan

APPLICATION OF BACTERIOPHAGES FOR BIOCONTROL OF FOOD PATHOGENS

ABSTRACT

As the pathogens causing foodborne diseases become increasingly resistant to antibiotics, the number of foodborne cases increased and the traditional methods used in the food industry became insufficient, new alternatives were started to be searched. As a result of these searches; bacteriophages, which are very common in nature and capable of infecting and lysing their own hosts, constitute alternative solutions called “phage therapy”. Bacteriophages are intracellular obligatory parasites of bacteria and can not perform metabolic activities when separated from the host. In addition, they do not harm the natural flora as it only acts on the target host. Therefore, they become important as antimicrobial agents. In this review, it is aimed to give information about bacteriophages which are widely used as antimicrobial agents against food pathogens such as *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157: H7.

Keywords: Bacteriophages, phage therapy, antimicrobial agent

* Bu çalışma, sorumlu yazarın YL tezinin bir bölümüdür / *This paper is a part of corresponding author's M.Sc thesis*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉ merveakpinar@ankara.edu.tr

☎ (+90) 312 203 3300/3631

☎ (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

Gıda zincirine patojen mikroorganizmaların girişinin engellenmesi ve salgınlara önlenmesi için işlem ve hasat öncesi patojenlerin eliminasyonu önemli bir rol oynar. Her yıl milyonlarca insanın patojen bulaşmış gıdaları tüketmesi nedeniyle hastalanmadan ölüme kadar giden vakalar meydana gelmektedir. Örneğin WHO (2019), tahminen 600 milyon kişi yani dünyadaki yaklaşık her 10 kişiden 1'inin patojen bulaşması olmuş gıdaları tükettikten sonra hastalandığını ve her yıl yaklaşık 420 bin kişinin öldüğünü bildirmiştir. Ayrıca sadece ABD'de yıllık olarak yaklaşık 48 milyon hastalık, 128 bin hastaneye yatış ve 3 bin ölümün meydana geldiği yine kayıtlarla bildirilmiştir (Pires vd., 2017). Hasat, kesim, sağım, işleme, paketlenme, depolama gibi aşamalarda gıdalara bulaşan *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakterilerin neden oldukları gıda kaynaklı enfeksiyonlar, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (García vd., 2008). Son yıllarda gelişen teknoloji, doğru (iyi) hijyen uygulamaları (GMP), HACCP ve risk değerlendirme gibi uygulamalara rağmen gıda kaynaklı hastalıklarda artış görülmektedir (Seçkin ve Baladura, 2010). Çiftlik hayvanlarında hijyenik kontrol, aşılama, antibiyotikler, prebiyotikler, probiyotikler ve simbiyotikler gibi yem takviyeleri içeren mevcut önleyici yöntemlerden hedeflenen başarılı sonuçlar alınamamıştır ve gıdalarda özellikle bakteriyel sayının indirgenmesi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanlara dayalı bir çok yöntem geliştirilmiştir. Ancak bu uygulamalar sonucunda toksisite, kaliteyi olumsuz yönde değiştirme, yüksek maliyet gibi dezavantajlar ortaya çıkmıştır (Wong vd., 2014; Duc vd., 2018). Örneğin yapılan araştırmalarda piliç karkası dekontaminasyonunun önemini anlaşılmasıyla, laktik asit çözeltisi yanında kalsiyum hipoklorit, hidrojen peroksit ve radyasyon kullanımlarının yanı sıra greyfurt çekirdeği ekstraktı gibi doğal ürünlerin kullanımı gibi fiziksel ve kimyasal yöntemler denenmiştir. Ancak kimyasal koruyucular kullanılmadan gıda güvenliği endişelerini tamamen dindirecek bir yöntem geliştirilememiştir (Woolston ve Sulakvelidze, 2015).

Bunun yanı sıra, çeşitli antibiyotiklerin uygun olmayan kullanımı nedeni ile antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkması, oldukça büyük endişe yaratmaktadır ve kullanımı daha kısıtlı ilaçların geliştirilmesiyle birlikte özellikle Gram negatif patojenlere karşı kullanılan antibiyotik devrinin sonuna yaklaşıldığı bildirilmektedir (Hanlon, 2007; Shin vd., 2012). Bu nedenle antibiyotiğe dirençli patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların önüne geçebilmek adına da alternatif arayışlara başlanmıştır (Hanlon, 2007; Yıldızlı, 2015).

Tüketicilerin minimum işlem görmüş ve kimyasal madde içermeyen ürün talebi doğrultusunda gıdaların patojenlerden arındırılması için ve hem tüketici talepleri hem de halk sağlığını korumak için alternatif kontrol yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır (Zinno vd., 2014; Cufaoglu ve Ayaz, 2019).

Bu derlemenin amacı patojenlere karşı biyokontrol amacıyla kullanılan ve son zamanda yaygın kullanım alanı bulan bakteriyofajlar hakkında güncel bilgi vermektir.

BIYOKONTROL

Biyokontrol ya da biyolojik kontrol, genel anlamıyla insan dışındaki organizmalarla patojenlerin etkisini ve/veya popülasyon yoğunluğunun azaltarak hastalığın kontrolü anlamına gelir. Uygulamada yüzlerce farklı örnek vardır. Asıl olarak bitkisel üretim aşamasında yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bunların en çok bilineni *Bacillus thuringiensis* olup sinekler, kovan zararlıları ve hatta orman zararlıları gibi pek çok istenmeyen türe karşı başarıyla kullanılmaktadır. Bu bakterinin zararlılara karşı toksik olan kristal protein üreten geni, mısır bitkisine aktararak mısır koçan kurduna karşı büyük başarı elde edilmiştir (Genetiği değiştirilmiş organizma). Kimi kaynaklar tarafından istilacı olarak tanımlanmasına karşı *Gambusia* türü balıklar, sivrisinek larvalarını yiyerek sıtmanın kontrol altına alınmasına destek olmaktadır (Coşkuntuncel Öztemiz, 2008; Uygun vd., 2010).

Gıda patojenlerine karşı umut vadeden bir başka mikroorganizma olan *Bdellovibrio bacteriovorus*,

Gram negatif, obligat aerop ve çok sayıda insan patojenin de dâhil olduğu diğer Gram negatif bakterilere karşı predatör karakterli bir bakteridir. İnsan bağırsak sistemi de dâhil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunur. Hücre içine girdikten sonra hücre bileşenleri ile beslenir, orada çoğalır ve lizis sonunda ortama yayılır (Im vd., 2018).

Her ne kadar başta peynir olmak üzere laktik starter kültürlerin kullanıldığı çeşitli süt ürünleri üretiminde, bakteriyofajlar (fajlar) starter kültüre saldırarak ürün kayıplarına yol açsa da (Tunail, 2009), *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* gibi gıda patojenlerinin baskılanmasında bakteriyofaj uygulamaları giderek yaygınlaşmaktadır. Gıda güvenliğinin sağlanması için gıdalarda patojen bakterilere karşı bakteriyofajların kullanılması, en umut verici sistemlerden biri olmasının yanında bakteriyofajlar, gıda teknolojisinde engeller teknolojisinin daha karmaşık ve istenen uygulamalarında kullanımına da açıktır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, hem sıvı hem de katı gıdalarda patojenleri kontrol etmede başarıyla kullanılması bu uygulamanın umut verici olduğunu göstermiştir (Ataman vd., 2019; El-DougDoug vd., 2019).

BAKTERİYOFAJLAR

Bakteriyofajlar, ilk kez 1915 yılında Frederick Twort tarafından keşfedilmiş, ardından 1917'de Félix Hubert d'Herelle tarafından tam olarak tanımlanmış olan konakçı hücrelerini enfekte edebilen bakteriyel virüslerdir (Summers, 2016). Küfleri enfekte eden virüsler ise mycophage olarak adlandırılır. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) tarafından belirlenmiş kurallara göre sınıflandırılırlar (Chibani vd., 2019).

Fajlar, doğada en çok bulunan biyolojik varlıklardan biri olmakla birlikte izole edilen fajların toplam faj topluluğunun oldukça küçük bir kısmını temsil ettiği kabul edilmektedir. Spesifik konakçısı mevcut olduğu sürece amplifikasyonları doğal olarak gerçekleşir ve kendi kendilerini çoğaltıp sınırlarlar (Wong vd., 2014). Potansiyel terapötik (tedavi edici) ajan olarak kullanımları 20. yüzyılın ortalarına kadar

dayanmaktadır ve bunun yanı sıra moleküler biyoloji de dâhil olmak üzere birçok bilim alanına katkı sağlamıştır (Mahony vd., 2011; Grant vd., 2016). Ancak 1940'lı yıllarda faj terapisinin, tekrar edilebilirliğinin düşük olması ve değişken sonuçlar vermesi, faj biyolojisi hakkındaki bilgi eksikliği ve ayrıca daha fazla antimikrobiyel kimyasalların geliştirilmesi ve kullanımının tercih edilmesiyle fajların terapötik amaçla kullanımları azalmıştır (Kropinski, 2018). Günümüzde ise ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile birlikte faj uygulamaları tekrar gündeme taşınıp son zamanlara ait çalışmaların konusu olmuştur (Nobrega vd., 2015; Grant vd., 2016).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarla, fajların insanlarda toksik olmadığı, güvenilir olduğu ve yüksek seviyelerde bile oral olarak tüketiminin zararsız olduğu kanıtlanmıştır (Miedzybrodzki vd., 2012). Fajların insanlar üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmaları ilk olarak başlatan d'Herelle olmuştur. d'Herelle hazırladığı faj preparatını çevresindeki insanlar üzerinde denemiş ve hiçbir denek üzerinde hastalık belirtisine rastlamamıştır (Tayyarcı, 2017). Bundan başlayarak fajların güvenliği üzerine pek çok geniş çaplı araştırmanın devamı gelmiş ve olumsuz etki oluşturduğuna dair bir veri bulunamamıştır. Aynı zamanda insan ağız florasyndan içme sularına, gıdalardan memelilerin dışkı florasına kadar doğal olarak bulunması şüpheleri azaltmaktadır. Yine yapılan çalışmalarda, *E. coli* fajlarının hem insanlarda hem de farelerde anlamlı bir etki göstermediği bildirilmiştir (Hagens ve Loessner, 2010). Fajlar, insan dâhil memeli hayvanları enfekte edememekle birlikte her bir fajın büyük bir özgüllükle spesifik hedef bakteriyi enfekte ettiği bilinmektedir. Bakteriyofajlar yalnızca kendine özgü bakterileri hedef alır ve normal bağırsak mikroflorasını etkilemez. Örneğin *Salmonella*'ya spesifik olan ST27, ST29 ve ST35 fajları, *Salmonella* serovarlarının dış yüzeyinde bulunan TolC reseptörleriyle bağlandığı ve bu reseptörlerin diğer *Enterobacteriaceae* türlerine karşı aktivite göstermediği literatürde yer almaktadır (Grant vd., 2016). Etki mekanizmaları mevcut tüm antibiyotiklerden tamamen farklıdır ve bu nedenle çoklu antibiyotik direnci sergileyen bakterilere karşı bile etki gösterirler (Hanlon,

2007). Bu özelliklerinden dolayı günümüzde kullanılan geniş spektrumlu antibiyotik yaklaşımların tam tersine doğal mikrofloraya zarar vermeyen, çevresel olarak zararsız ve gıdaların organoleptik özelliklerine zarar vermeyen yapılarıdır (Guenther vd., 2012).

Fajların, bakterilerin genom dizilimlerinde farklılığa neden olabilecekleri ve patojeniteyi etkileyebilecekleri de ortaya konulmuştur (Hanlon, 2007). Gıda zincirinde bakteriyofajların uygulanması “çiftlikten sofraya” başlığı altında canlı hayvan uygulamalarında hastalıkların önlenmesinden, işleme sırasında kontaminasyonun önlenmesi amacıyla temas yüzeylerinin dezenfeksiyonuna ve doğal biyokoruyucu olarak kullanım ile raf ömrünün artırılmasına kadar her aşamada gerçekleştirilebilmektedir (Şanlıbaba ve Uymaz, 2015). Etkin bir biçimde biyokontrolün sağlanması için her bir hedef patojene özgü fajın belirlenmesi gereklidir. Her biri bir veya daha fazla bakteri türünü enfekte edebilen binlerce faj vardır (Rogers, 2019). Örneğin Komora vd. (2018) çalışmasında, FGCSSa1 fajının sekiz farklı *Salmonella* serovarında litik etki gösterirken *E. coli* üzerinde litik etki göstermediğini; FGCSSa2 fajının ise sekiz farklı *Salmonella* serovarından sadece üçünde litik etki gösterirken yine *E. coli* üzerinde etki göstermediğini bildirmiştir.

Fajlar, bakterilerin gelişebildiği, insan ve hayvan intestinal sistemi de dâhil olmak üzere yeraltı ve yüzey suları, toprak, atık sular, okyanus suları ve birçok gıda matrisinde gelişebilir ve böylece doğadan kolayca izole edilebilirler (Salmond ve Fineran, 2015; Pires vd., 2017). Örneğin Son vd. (2018) çalışmasında, sığır bağırsaklarından *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı 4 farklı litik faj (PE31, PE37, PE128, ve PE160) izole etmiştir. Wong vd. (2014), kanatlı dışkılarından litik etkiye sahip ve sadece *S. Typhimurium* üzerinde değil diğer serotipler üzerinde de litik etki gösteren Φ st1 fajını izole etmiştir. Bunların yanı sıra izolasyonları ile ilgili yapılan çalışmalarda kanatlı ve diğer et ürünleri, soğutulmuş ve dondurulmuş yengeç eti, peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünleri ile marul gibi gıdalardan da izole edildiği bildirilmiştir. Atık sulardan *S. Typhimurium*, *S.*

Enteritidis, *S. Kentucky* ve *S. Typhi* serovarları üzerinde etkili ve aynı morfolojiye sahip 3 farklı faj izole edilmiştir (Mahmoud vd., 2018). Duc vd. (2018) çalışmasında *Salmonella* serotipleri üzerinde litik etki gösteren 18 farklı fajı çığ kanatlı etinden izole etmiştir. LISTEXTM P100 ticari faj preparatı Almanya'daki süt işletmesinden izole edilmiş olup bütün çığ ve tüketime hazır gıdalarda 10^9 POB/g (plak oluşturan birim; plaque forming unit: PFU) düzeyini aşmamak kaydıyla kullanılmasına izin verilmektedir. Yine ticari bir ürün olan ListShield™ ise Amerika'da Baltimore kıyı sularından izole edilmiş olup altı adet farklı *Listeria* fajı kokteylden oluşmaktadır (Şanlıbaba ve Uymaz, 2015).

Taze ve/veya işlenmiş et ve et ürünlerinde 10^8 POB/g kadar faj bulunduğu ve bunların gıdalarla birlikte tüketildiği gösterilmiştir. Bu nedenle bakteriyofajlar, gıdaların doğal mikroflorası olarak görülmektedir (Carlton vd., 2005). *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* gibi patojenlere karşı litik aktivite gösteren fajların izolasyonu kolaylıkla gerçekleştirilse bile bazı türlere spesifik fajların izolasyonlarının zor olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (Nobrega vd., 2015).

Bakteriyofajların Yapısı

Virüslerin genel özelliklerini taşıyan bakteriyofajlar, genetik materyal olarak DNA veya RNA içerirler ve proteinden oluşurlar ve sadece bir kısmı lipit içerir. Kendi metabolik sistemleri olmadığı için hiçbir genetik bilgiyi üretmezler, ribozomları bulunmadığı için protein sentezleyemezler ve konakçı hücreden ayrıldıktan sonra metabolik faaliyetlerini gerçekleştiremezler. Bütün virüsler gibi sadece enfeksiyon durumunda çoğalabilirler (Gökçe, 2010; Jończyk vd., 2011; Gümüştaş 2015).

Genel olarak bir faj baş, boyun, kuyruk ve kuyruk uzantılarından oluşur. Fajların hepsinde çift sarmallı (ds) veya tek sarmallı (ss) genom (DNA veya RNA), kapsit adı verilen protein veya lipoprotein yapısındaki kılıf içerisinde bulunur. Ağırlıklarının yaklaşık olarak %60'ı protein ve %40'ı nükleik asittir. Farklı morfolojik özelliklerde olan fajlar, farklı protein yapılarına sahip olup her canlı gibi antijenik özellikleri, bu

proteinlere bağlıdır (Salmond ve Fineran, 2015). Faj, konakçısına rastladığında protein, oligosakarit, teikoik asit, peptidoglikan ve lipopolisakarit dahil olmak üzere çok çeşitli hücre yüzey bileşenlerinden herhangi biri olan spesifik reseptör bölgeleri aracılığıyla konakçısına bağlanır (Hanlon, 2007). Faj kuyruk ucu proteinleri (Tsp) ile konakçı reseptörleri arasındaki etkileşim spesifikliği sağlamaktadır (Hodgson, 2013). Faj enfeksiyonu, konakçı içerisinde fajların amplifikasyonu ile başlayıp bakteri hücresinin lize olması ve yeni fajların ortama salınmasıyla tamamlanır. Ortama salınan hücre içi içerik birçok bileşen içermekle birlikte seçici olanları bakteri tespitinde de kullanılabilir (Richter vd., 2018).

Bakteriyofajların Yaşam Döngüleri

Bakterilerin zorunlu hücre içi parazitleri olan fajlar, litik ve lizogenik olmak üzere iki farklı yaşam döngüsüne sahiptirler. Litik yaşam döngüsünü gerçekleştiren fajlara virulent faj, lizogenik yaşam döngüsünü gerçekleştiren fajlara ise ılımlı faj denilmektedir. Fajın penetrasyon aşamasından sonra gösterdiği çoğalma stratejisi, yaşam döngüsünü belirler (Salmond ve Fineran, 2015). Adsorbsiyon aşamasıyla başlayıp konakçının hücre duvarının lizin enzimleriyle zedelenip yeni fajların ortama salınmasıyla tamamlanan döngüye litik döngü denilmektedir. Penetrasyon aşamasından sonra fajın genetik materyalinin konakçının kromozomuna rekombinasyon yoluyla girdiği yani hem fajın hem bakteri DNA'sının eş zamanlı olarak replike olduğu ve lizis aşamasının meydana gelmediği döngü ise lizogenik döngü olarak anılır (Gökçe, 2010; Seçkin ve Baladura, 2010).

Fajlar çoğalabilmek için konakçısına ihtiyaç duyarlar. Çoğalmaları adsorbsiyon, penetrasyon, latent dönem ve lizis olmak üzere dört aşamadan oluşur. Fajların konakçıları üzerinde meydana getirdikleri enfeksiyon, fajın hedef bakterinin yüzeyine bağlandığı adsorbsiyon aşamasıyla başlar. Eğer adsorbsiyon aşaması engellenirse enfeksiyon gerçekleşemez ve konakçı gelişmeye devam eder. Konakçıya olan özgüllüğün belirlendiği en önemli aşama olmakla beraber gerçekleşmesi için triptofan gibi organik

kofaktörlerin ortamda olması, iyonik ortam, sıcaklık ve pH gibi faktörlerin etkisi bulunmaktadır. Ayrıca Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi spesifik kofaktörlerin hem bakteri hem de fajın negatif elektrik yüklerini nötralize edip adsorbsiyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir. Kuyruklu fajlar için fibril, kuyruk plağı gibi adsorbsiyon yapıları konakçı hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanır ve bunlardan herhangi birinin mutasyonu, belirli bir fajın adsorbe edilme kabiliyetini olumsuz etkiler. Bu proses, büyük ölçüde fajlarda bulunan RBPs (receptör-binding proteins) özgüllüğüne bağlıdır (Adams, 1959; Acar Soykut, 2007; Gümüştas, 2015; Yüksel vd., 2016). O'Flynn vd. (2004), çalışmasında, konakçının reseptör modifikasyonuna bağlı olarak *E. coli* O157:H7 için spesifik üç fajın diğer *E. coli* suşları üzerinde etkili olmadığını göstermiştir. Bütün bakteriyofajlar için spesifik olarak genetik materyalin konakçıya aktarılması penetrasyon aşamasında gerçekleştirilir. Konakçı ribozom ve mitokondrisinin kullanılarak faj genetik materyalinin ve koruyucu protein kılıfının çoğaltılması latent dönemde gerçekleştirilir. Bu dönemde konakçı içerisindeki faj partikülü sayısı zamanla artar. Sadece virulent fajlarda gerçekleşen ve endolizin enzimlerinin konakçının hücre duvarındaki peptidoglikan tabakasını parçalaması ve yeni enfeksiyon oluşturma yeteneğine sahip fajların ortama salındığı aşama lizis olarak tanımlanır (Wong vd., 2014). Holinin hücre zarını bozması, endolizinin ise hücre duvarını sindirmesinin etkisiyle fajlar konakçılarından ayrılır (Hodgson, 2013). Terapötik uygulamalarda başlangıçtaki faj-konakçı konsantrasyonunun belirlenmesi için döngünün tek bir aşamasındaki büyüme eğrilerinin oluşturulması önem kazanmaktadır (Acar Soykut, 2007).

GIDA GÜVENLİĞİNDE ALTERNATİF ARAYIŞ

Gıda zincirinde, gıda güvenliğini artırabilen ürünler talep edilmektedir. Fajlar üretim, depolama ve dağıtım sırasında biyolojik bir alternatiftir. Bu nedenle patojenlerle kontamine olmuş gıdalarda faj uygulamaları ilgili bazı yaklaşımlar bulunmaktadır (Ramirez vd., 2018). İlk olarak kesim sırasında patojenlerin karkasa bulaşmasını önlemek ya da önemli ölçüde

azaltabilmek için hayvanlara kesim öncesi faj uygulamaları önerilmektedir. Konuyla ilgili olarak literatürde kümes hayvanlarının intestinal sistemlerinde yaklaşık 2 log indirgemenin piliç eti tüketimiyle ilişkili *Campylobacter* enfeksiyonlarında yaklaşık 30 kat azalma meydana getireceği yer almaktadır (Pires vd., 2017). Sklar ve Joerger (2001), piliç etlerinde *Salmonella* enfeksiyonunu kontrol altına almak için faj uygulamış ve etlerde 0.3-1.3 log birim bir indirgeme sağlamıştır. Benzer şekilde patojenik *E. coli* kaynaklı ishali buzağı ve domuzlarda faj uygulamalarından sonra 8 saat içinde iyileşme görülmüş ve elde edilen sonuçlar, umut verici olarak yorumlanmıştır (O'Flynn vd., 2004).

Bir diğer yaklaşım ise işletmelerde çapraz kontaminasyon kaynaklı tehlikeleri önlemek için kullanılan kimyasal dezenfektanların ekipmanları aşındırması, kimyasal kalıntıların toksik etkileri gibi dezavantajlarına alternatif olarak yüzeylerde faj biyosanitasyonunu sağlamaktır. *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 de dâhil olmak üzere çeşitli patojenlerin indirgenmesinde önemli sonuçların elde edildiği bildirilmiştir (Duc vd., 2018).

Ayrıca endüstriyel üretim sırasında taze ürünler, etler hatta çiğ sütlere doğrudan uygulanmasıyla biyokontrolün oldukça yüksek oranlarda sağlanabildiği bildirilmektedir. Bir çalışmada, henüz *L. monocytogenes* ile kontamine olmayan kavunlara 0-1 saat arası faj uygulamasının etkili bir yöntem olduğu, doğrama sırasında veya sonrasında paketlenme aşamasında oluşabilecek kontaminasyonlara karşı etkisinin olduğu kanıtlanmış ve böylece faj uygulamasının doğru zamanının önemi gösterilmiştir. Fajın, kontaminasyon anında veya 0.5 saat önce uygulanması ile patojen gelişmesinin 10 °C'ta 7 günlük depolama süresinde bile inhibe edilebileceği de ifade edilmiştir (Leverentz vd., 2004).

ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention; CDC), gıda kaynaklı patojenlerden kaynaklı ölüm ve patojenlerin nedeni olarak en çok *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7'yi

göstermiştir. Yapılan son çalışmalara göre, bakteriyofajların indirgeyici etkisi belirlenmiş ve bu nedenle gıdalarda patojenlerin indirgenmesi ve yok edilmesine karşı bakteriyofajların kullanımı en çok bu bakterilerin üzerine yoğunlaşmıştır (CDC, 2019).

Gıda Patojenlerine Karşı Faj Uygulamaları

Fajların geniş spektrumlu antimikrobiyellere göre en önemli avantajı, karışık popülasyondaki belli bir tür veya cinse spesifik oluşudur. Sahip oldukları bu spesiflik sayesinde fajların gıda işleme ve paketlenmede kullanımları çekici hale gelmektedir. Ayrıca antimikrobiyel ajanlar birçok gıda ürünün tat, koku ve tekstürünü olumsuz bir şekilde etkilerken gıdaların yapısında doğal olarak da bulunan fajların herhangi bir olumsuz etkisi bulunmamaktadır (Leung vd., 2018).

Fajla muamelelerden önce hedef bakteriyi belirlemek önem kazanmaktadır. Ayrıca bazı *Salmonella* fajları da dâhil olmak üzere geniş konakçı aralığına sahip fajların da bulunduğu belirtilmiştir (Huang vd., 2018). Liu vd. (2015), farklı fajların *E. coli* O157:H7 üzerindeki lize edebilme kabiliyetleri arasında T5 fajının denenen tüm sıcaklıklarda en etkili olduğunu bildirmiştir. Hong vd. (2014) ise çalışmasında, T5 fajının benzeri olan FFH2, FFH1, FFH3 fajlarının hedef patojeni sırasıyla 4.48, 1.24 ve 0.48, 1.97 ve 0.56 log KOB/mL indirgediğini bildirmiştir.

Salmonella'nın tanımlanan 2600'den fazla serotipinden özellikle *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis* insan enfeksiyonuyla ilişkilendirilmekte ve faj tedavileri, hem tarımsal üretimde hem de gıda işletmelerinde bu serotipler için çalışılmaktadır (Pao vd., 2004). Örneğin *Salmonella* serotiplerine spesifik st104a ve st104b fajları konakçısına enfeksiyonundan 1 saat sonra hücre sayısını 2 log kadar düşürdüğü bildirilmiştir. Yine benzer olarak W25 fajının 24 saat içinde *S. Typhimurium* konakçısını 2.19 log indirdiği rapor edilmiştir (Shin vd., 2012). Modi vd. (2001) çedar peynirinde, Leverentz vd. (2001) kavunda, Pao vd. (2004) tavuk derisi ve hardal tohumlarında faj uygulamalarının *Salmonella* yükünde indirgeme meydana getirdiğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Fajlar en verimli olarak buldukları spesifik ortamlarda çoğalıp geliştikler ve adapte oldukları için biyokontrol uygulamalarında iyi bir faj performansının sağlanabilmesi için fajların ait oldukları ve bulunma olasılıkları yüksek olan spesifik ortamlardan izolasyonu önem kazanmaktadır (Boyd ve Brüssow, 2002). Fajlar çevreden izole edilmekle birlikte kullanılmadan önce bir takım optimizasyon ve karakterizasyon işlemlerinden geçirilir. Shin vd. (2012) çalışmasında, 25 yeni fajın izolasyonunu gerçekleştirip, reseptörlerini belirlemiş ve konakçı özgüllüklerini incelemiş ve flagella, O antijeni ve dış membran proteini BtuB olmak üzere sadece üç reseptör tanımlamıştır.

Duc vd. (2018), izole ettiği fajlardan SEG5 fajının 22 farklı *Salmonella* serovarı içinden 16'sını lize edip yaklaşık olarak %73'lük bir oranda geniş bir konakçı aralığı sergilediğini belirlemiştir. Yine izole ettiği fajların 2 ve 4 saatlik inkübasyonlar sonunda *S. Enteritidis* yükünde sırasıyla 2.2 ve 3.7 log indirgeme meydana getirdiği ve 24 saat sonunda ise tespit edilebilir limitin altında olduğunu, *S. Typhimurium* üzerinde ise sırasıyla 2.8, 4.9 ve 4.2 log indirgeme olduğunu göstermiştir. El-DougDoug vd. (2019), *S. Newport* üzerinde litik etki gösteren 4 fajı kanalizasyon sularından izole etmiş ve kokteyl halinde cherry domatesler üzerine uygulayarak *S. Newport*'un gelişme etkinliğini incelemiş, faj konsantrasyonuna göre 2-4 log kadar önemli bir indirgeme sağladığını göstermiştir. Wong vd. (2014) çalışmasında, Φ st1 fajının *S. Typhimurium* üzerinde 5-6 log, *S. Hadar* üzerinde de 1-2 log indirgeme sağladığını belirtmiştir. Böylece Φ st1'in sadece konakçı hücrelerine (*S. Typhimurium*) karşı değil aynı zamanda *S. Hadar* için de litik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Huang vd. (2018) ise, 2 saat inkübasyon sonunda LPST10, LPST18 ve LPST23 fajlarının LPST11, LPST13 ve LPST21 fajlarına göre daha yüksek bir litik kapasite göstermekle birlikte bu inkübasyon süresi sonunda *S. Typhimurium* gelişimini inhibe ettiğini belirtmiştir. Zinno vd. (2014) ise, P22 fajının *Salmonella*'ya karşı litik etkisini tüketime hazır gıdalar üzerinde incelemiş ve sütte tespit edilebilir limitin altına düştüğü, elma suyunda 3 log, enerji içecekleri ve sıvı yumurtada 2 log

indirgeme gösterdiğini kaydetmiştir. Modi vd. (2001), çedar peynirinde faj uygulamalarının *Salmonella* üzerine etkisini incelemiş ve 1.0-2.0 log indirgeme olduğunu görmüştür. Ayrıca, 89 günlük depolama sonunda test peynirlerindeki var/yok testlerinde *Salmonella* bulamamıştır. Leverentz vd. (2001), çalışmalarında taze doğranmış meyve dilimlerinde *Salmonella*'ya karşı faj uygulamalarının etkisini incelemiş ve 5 °C ile 10 °C'ta depolanan örneklerde 3.5 log indirgeme gerçekleştiğini ancak elma dilimlerinde *Salmonella* yükünde önemli bir indirgeme gerçekleşmediğini bildirmiştir. Galarce vd. (2014), çiğ ve tütülenmiş somon örneklerinde faj enfeksiyonunun *Salmonella* serotiplerine karşı indirgeme gücüne bakmış ve en büyük indirgemenin tütülenmiş somon örneklerinde depolama sıcaklığından bağımsız olarak 3.19 ve 2.82 log arası indirgeme olduğunu göstermiştir. Çiğ somon örneklerinde ise 1.96 ve 1.16 log indirgeme sağlamıştır. İki örnek arasındaki bu farkı gıda matrisindeki su içeriğine bağlı geliştiğini bildirmiştir. Geniş konakçı spektrumuna sahip F01-E2 fajının çikolata ve deniz ürünleri gibi tüketime hazır gıdalarda *Salmonella* serotiplerinin kontrolü için uygun olduğu gösterilmiş ve 24 saatlik inkübasyon sonunda 3 log indirgeme sağlanmıştır (Guenther vd., 2012).

Meyve ve sebzelerde de patojenlerin bulaşma risklerini azaltmak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ramirez vd. (2018) in vivo çalışmalarını mikrokapsüllenmiş fajların domateslerin yüzeylerine püskürtülmesiyle gerçekleştirmiştir. *E. coli* O157:H7 ile aşılınmış ve 5 gün boyunca 4 °C'ta depolanan örneklerde 24 saatlik depolama sürecinden başlayarak beşinci güne kadar konakçı hücrenin sayısında önemli indirimler olduğunu bildirmiştir. Amarillas vd. (2018) çalışmasında, vB_EcoMH2W bakteriyofajını içeren ve içermeyen kitosan yenilebilir filmleri domates yüzeylerinde kullanmış ve kontrol gruplarına göre konakçılarında yaklaşık 3 log indirgeme sağladığını ve fajların önemli bir antimikrobiyel aktivite sağladığını göstermiştir. Ayrıca vB_EcoMH2W fajının yenilebilir kitosan kaplamasıyla uygulanmasının, fajların gıda yüzeylerine depolanabildiğini ortaya koymuştur. Bir başka çalışmada 8 günlük depolama sonucunda karpuz ve armut dilimlerinde, elma

dilimlerine nazaran daha büyük bir indirgemenin sağlandığı gösterilmiştir. Fajla muamele edilmiş armut dilimlerinde *L. monocytogenes* sayısında 2, 5 ve 8 günlük depolama sonucunda sırasıyla 1.00, 1.15 ve 0.62 log indirgeme olduğu belirlenmiştir (Oliveira vd., 2014).

Çizelge 1’de çeşitli gıda matrislerinde farklı fajların hedef patojenleri üzerinde meydana getirdiği indirgemeler gösterilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli gıda matrislerinde bazı fajların hedef patojenleri üzerinde meydana getirdiği indirgeme

Faj	Hedef Patojen	Gıda Matrisi	İndirgeme (log KOB/mL(g))	Kaynak
A511	<i>L. monocytogenes</i>	Dilimlenmiş pişmiş hindi göğsü	1.5	(Guenther vd., 2009)
		Karışık deniz ürünleri	2.5	
		Lahana, marul, çikolatalı süt, mozzarella peyniri	2.3 - 5.0	
	<i>S. Enteriditis</i>	Çiğ süttten yapılan peynir, pastörize süttten yapılan peynir	2.0 - 3.0	(Modi vd., 2001)
	<i>Salmonella</i> spp.	Dana kıyma	2.29	(Yeh vd., 2018)
WT45Ø	<i>S. Typhimurium</i>	Marul	1.1 - 3.9	(Bai vd., 2019)
	<i>S. Typhimurium</i>	Hıyar	0.7 - 2.8	
	<i>S. Enteriditis</i>	Çin lahanası	3.0	(Bao vd., 2015)
	<i>S. Enteriditis</i>	Kavun	2.5	(Leverentz vd., 2001)
	<i>S. Newport</i>	Hıyar	1.83	(Sharma vd., 2017)
SalmoFresh	<i>L. monocytogenes</i>	Marul	0.5 - 1.1	(Perera vd., 2015)
Listex™ P100	<i>L. monocytogenes</i>	Yumuşak Peynir	2.0 -3.0	(Şanlıbaba ve Uymaz, 2015)

Bakteriyofajlar, konakçalarına göre olumsuz çevre koşullarına daha fazla direnç gösterebilirler de sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu veya bazı iyonların varlığı ve konsantrasyonları gibi faktörler çoğalmaları, depolanabilirlikleri ve enfeksiyon oluşturmaları üzerinde etkilidir. Ayrıca DNA gibi ana yapılarının kaybı veya değişikliğe uğraması da etkinliklerini değiştirebilir (Jończyk vd., 2011). Faj enfeksiyonunun en kritik noktası konakçının spesifik reseptörüne bağlanması olduğu için reseptörlerde meydana gelen mutasyon faj direncine giden en önemli nedendir. Bakteriyofaj terapisinin farmakokinetiği, konakçı içinde çoğalıp daha sonra salındığında başlangıç dozunun üssel olarak artacağı şekildedir (Shin vd., 2012; Huang vd., 2018)

Fajlar, konakçalarına kıyasla daha geniş bir sıcaklık aralığında çoğalabilirler ve canlı kalabilirler. Fajlar hakkında yapılan birçok çalışma hedef konakçının

optimum gelişme sıcaklığı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ancak optimum indirgeme hakkında daha doğru sonuçlar alabilmek için hammaddenin hazırlandığı, gıdaların işlendiği ve depolandığı sıcaklık değerleri göz önünde bulundurulmalıdır (Milho vd., 2018). Bir çalışmada *E. coli* O157:H7 aşılınmış çiğ et üzerinde 8 ve 25 °C sıcaklıkta ve farklı inkübasyon sürelerinde bu suşa özgü PE37 fajının etkisi incelenmiştir. 25 °C’ta gerçekleştirilen uygulamalarda 2, 4, 6, ve 24 saatlik inkübasyon sürelerinde sırasıyla 2.8, 3.2, 4.9 log KOB/mL ve kontrol grubuyla yakın sayıda indirgeme, 8 °C’ta ise sırasıyla 2.2, 2.3, 2.6 ve 2.1 log KOB/mL indirgeme gözlemlendiği bildirilmiştir (Son vd., 2018).

Literatürde fajların konakçı üzerine adsorbe olup enfeksiyonu başlatabilmesi için bazı aminoasitlerle iyonların ortamda bulunması gerektiği belirtilmektedir. Fajların, konakçıya

adsorbsiyonunu gerçekleştirebilmesi için ortamda Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi katyonların ve L-triptofanın bulunması gerektiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Cufaoglu ve Ayaz, 2019). Bu maddeler adsorbsiyon sırasında fajın kuyruk iplikçiklerinin açılmasına ve hücre çeperine tutunmasına yardım ederler. Örneğin farklı iki aşamada reseptöre bağlanarak konakçısına adsorbe olan T4 fajları, ortamda L-triptofan olması durumunda konakçısına daha etkin şekilde bağlanabilirken λ fajı reseptörü, ancak maltoz varlığında aktive olmaktadır (Acar Soykut, 2007).

Terapötik faj uygulamalarının etkinliği, faj konsantrasyonunun bakteri konsantrasyonuna oranına önemli ölçüde bağlıdır. Bu oran genellikle enfeksiyon çokluğu (multiplicity of infection - MOI) olarak tanımlanır ve böylece konakçı patojen başına düşen enfektif faj sayısı belirlenir ve basitçe $MOI = PFU / \text{konakçı sayısı}$ formülü ile hesaplanır.

Terapötik uygulamaların düşük MOI değerinde gerçekleştirilmesi hem düşük maliyet hem de faj preparatlarının ticarileştirilmesi anlamında avantaj sağlamaktadır (Acar Soykut, 2007; Wong vd., 2014). Bir başka çalışmada yumuşak peynirler üzerinde *L. monocytogenes*'i kontrol etmek için P100 fajının etkileri incelenmiş ve etkisinin doza bağlı olduğu açıkça ortaya koyulmuştur. Düşük konsantrasyondaki faj uygulamalarının *Listeria* üzerinde yaklaşık olarak 2-3 log azalma meydana getirdiği ve bu, büyük bir indirgeme olarak görülsede tümüyle bir indirgeme sağlamadığı bildirmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonda (3×10^9 POB/mL) uygulandığında *L. monocytogenes* hücrelerinin tamamının elimine edildiği gözlemlenmiştir. Peynirlerin yüzeyine fajın daha yüksek hacimlerde sıvı ile uygulanmasıyla P100 fajların yüzeyde daha iyi yayıldığı ve *Listeria* hücrelerinin belirlenebilir limitin altında olduğu görülmüştür. (Carlton vd., 2005)

Fajlar, türe özgü ve hızlı çoğalan biyolojik varlıklar oldukları için her durumda çok sayıda biyolojik kontrol ajanları olarak avantaj ve diğer antimikrobiyellere kıyasla daha az dezavantaj sağlar (LeLièvre vd., 2019). Antimikrobiyel ajan olarak fajlar özgüllük, güvenlik, MDR (multi-

drug-resistant) patojenlere karşı geleneksel ajanlara kıyasla önemli avantajlar sağlar. Ayrıca, faj litik enzimleri (endolisinler ve peptidoglikan hidrolazlar), enzim biyotikleri adı verilen yeni bir antibiyotik sınıfı olarak kabul edilmektedir ve ayrıca gıda güvenliği açısından talep edilen birçok özelliğe sahiptirler (Fernández vd., 2018).

Alternatif antimikrobiyel uygulamalarına duyulan ihtiyacın artmasına yönelik temel gerekçelerden biri, bakterilerin mutasyon veya yabancı DNA edinimi sonucu antibiyotiklere direnç geliştirme özelliğine sahip olmalarıdır. Bakteriyofajlar, dış zarlarındaki spesifik hücresel reseptörlere bağlanarak bakterileri yok etmesi nedeniyle mutasyon potansiyeli vardır. Ancak mutasyonlar ortaya çıkarken frekansın düşük olduğu ve mutantların çoklu kuşaklardan sonra duyarlı suşlara geri döndüğü bildirilmiştir (O'Flynn vd., 2006). Konakçı patojenlerde faj enfeksiyonuna karşı mutasyonların ortaya çıkmasıyla birlikte etkin bir faj uygulanmasındaki soru işaretlerini gidermek adına çözümler aranmıştır. Bakteri popülasyonda fajlara karşı artan dirençlerine çözüm olarak birkaç farklı spesifik faj seçimi ve kokteyl halinde uygulanması çözüm haline getirilmiştir (Toro vd., 2005; Liu vd., 2015).

Duc vd. (2018), izole ettiği fajları kokteyl halinde uygulamış ve 2, 4 ve 6 saat inkübasyon sonunda *S. Enteritidis* üzerinde sırasıyla 1.5, 1.7 ve 2.7 log, *S. Typhimurium* üzerinde ise 2.0, 1.9 ve 2.2 log indirgeme saptadığını belirtmiştir. Her iki serovarında 24 saat inkübasyon sonunda kontrol gruplarına kıyasla daha az sayıda olduğu gösterilmiştir.

Tüketime sunulacak etin *E. coli* O157:H7 ile kesim sırasında kontamine olduğu varsayılarak yeterli indirgeme için faj kokteyli uygulanmasının etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için *E. coli* O157:H7 inoküle edilen 9 örnekten 7'sinin kontrol edildiği ve 2 örnekte ise 10 KOB/mL'den daha az sayıda *E. coli* O157:H7 olduğunu rapor edilmiştir (O'Flynn vd., 2004).

Abuladze vd. (2008) ise ticari bir faj kokteyli olan EcoShield™ kullanarak, sığır etinde *E. coli* O157:H7 konsantrasyonunu 24 saat 10 °C'ta

depolama sırasında yaklaşık % 95 oranında azaltıldığını bildirmiştir.

Ramirez vd. (2018), in vitro koşullarda *E. coli* O157:H7'ye karşı bir faj kokteyli hazırlamış ve 60 dakikalık uygulama sonunda konakçı popülasyonunda 2 log azalma gözlemlendiğini bildirmiştir.

Guenther vd. (2009), füme somonları da içeren tüketime hazır gıdalarda *L. monocytogenes* enfeksiyonuna karşı uyguladığı faj kokteylinin sonucunda 2.2 log indirgeme görmüştür. Aynı şekilde Soni ve Nannapaneni (2010) çiğ somonları (LISTEX™ P100) ile muamele etmiş ve 2.3 log indirgeme olduğunu bildirmiştir.

Shin vd. (2012)'e göre, 45 farklı fajdan oluşan kokteyl *Salmonella* konakçısının sayısını 2 saat içerisinde 5 log indirmiştir ve faj kokteyli kullanımı, faja dirençli patojenlere karşı uygulanması yanı sıra konakçı aralığını da genişletmektedir. Fajlar arasındaki rekabetçi etkileşim, etkin bir kokteyl tasarlanmasını zorlaştırırsa bile bakteriyofajlar bakteri yüzeyindeki spesifik reseptörlere yapışarak bir suşu veya yakın ilişkili bakteri suşlarını hedef almalarına izin verir (Heringa, 2008).

Bakteriler antibiyotiklere direnç kazandığı gibi fajlara da direnç kazanmaktadır, ancak bakteriler özel faj savunma mekanizmaları geliştirirken, fajlar da sürekli olarak bu değişen konakçı sistemleri enfekte etmek için adapte olmaktadır (Akhtar vd., 2014; Mutlu, 2015; Nobrega vd., 2015). Faj uygulamaları, bakteriyel enfeksiyonları ve gıda kaynaklı hastalıkları kontrol etmek için kesin çözüm olarak görülmesi bile diğer stratejilerle kombinasyon halinde kullanımlarında umut vaat edici bir potansiyel sergilemektedirler (Hodgson, 2013). Bu konuda en yeni strateji ise faj ve çeşitli antimikrobiyellerin ve yöntemlerin birlikte sinerjik etkisini incelemektir.

Leverentz vd. (2003), farklı meyveler üzerinde nisinle birlikte kombinasyon halinde faj uygulamasının sadece nisin uygulamasından daha fazla indirgeme sağladığı bildirmiştir. 200 ve 400 IU birimde nisin uygulaması ile 2.8-3.2 log kadar

bir indirgeme sağlanırken faj ve aynı birimde nisin uygulaması 4.3-5.7 log indirgeme sağlamıştır. Bir başka çalışmada ise fajlarla farklı antibiyotiklerin *Staphylococcus aureus* üzerindeki sinerjik etkisi incelenmiş ve SA11 fajının sefoksitin, kloramfenikol ve polimiksin ile birlikte muamele edilen hücrelerin tamamında zarar meydana getirdiğini belirtilmiştir (Jo vd., 2016).

Komora vd. (2018) çalışmasında, tam yağlı UHT süt, fermente sucuk ve peynirlerin 300 MPa yüksek basınç uygulamalarında faj kullanımını destekleyen matrislere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca *L. monocytogenes*'e yüksek basınç uygulamaları da hasar verdiği ve faj P100 enfektivitesi inoküle edilen matrise göre muhafaza edildiği için çevre dostu ve minimal işleme teknolojilerinin birleşik etkisi, *L. monocytogenes*'lerin kontrolü için etkili bir sinerjik sistemi temsil edebilir.

SONUÇ

Fajlar, türe özgü ve hızlı çoğalan varlıklar olduklarından, her durumda çok sayıda biyolojik kontrol ajanları olarak avantaj ve nispeten daha az dezavantaj sağlar. Antimikrobiyeller olarak fajlar, özgüllük, güvenlik, MDR (multi-drug-resistant) bakterilere karşı etkinlik gibi daha geleneksel ajanlara göre bazı çarpıcı avantajlar sunar. Konakçı patojenlerde faj enfeksiyonuna karşı mutasyonların ortaya çıkmasıyla birlikte faj tedavilerinin etkin bir şekilde uygulanmasında sorunlar çıkabilir. Bakteri popülasyonunun bakteriyofajlara karşı artan dirençleriyle birlikte tedavi amacıyla birkaç farklı spesifik faj seçimi ve kokteyl karışımı halinde uygulanması çözüm haline getirilmeye başlanmıştır. Sonuç olarak, fajlar, tarım ve hayvancılık uygulamalarıyla ilişkili antibiyotik direncindeki artışı sınırlamaya yardımcı olmakta ve patojenlerin biyokontrolündeki uygulamalarla ilgili çalışmalar önem ve hız kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

Abuladze, T., Li, M., Y. Menetrez, M., Dean, T., Senecal, A., Sulakvelidze, A. (2008). Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli*

- O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 74(20): 6230-6238, doi: 10.1128/aem.01465-08.
- Acar Soykut, E. (2007). *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* virulent fajlarının replikasyon parametreleri, kapsid protein profilleri ve restriksiyon endonükleaz analizleri esas alınarak tanımlanmaları ve sınıflandırılmaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 176 s.
- Adams, M. H. (1959). *Bacteriophages*. Interscience Publishers. New York, Amerika, 591 s.
- Akhtar, M., Viazis, S., Diez-Gonzalez, F. (2014). Isolation, identification and characterization of lytic, wide host range bacteriophages from waste effluents against *Salmonella enterica* serovars. *Food Control*, 38: 67-74, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.09.064.
- Amarillas, L., Lightbourn-Rojas, L., Angulo-Gaxiola, A. K., Heredia, J. B., González-Robles, A., León-Félix, J. (2018). The antibacterial effect of chitosan-based edible coating incorporated with a lytic bacteriophage against *Escherichia coli* O157:H7 on the surface on tomatoes. *J Food Saf*, 38: 1-10, doi: 10.1111/jfs.12571.
- Ataman, P., Halkman, A. K., Akpınar, M. (2019). Gıda Güvenliği. *Gıda Mikrobiyolojisi*, ISBN 978-605-245-683-5Ed. A K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, 648 s.
- Bai, J., Jeon, B., Ryu, S. (2019). Effective inhibition of *Salmonella* Typhimurium in fresh produce by a phage cocktail targeting multiple host receptors. *Food Microbiol*, 77: 52-60, doi: 10.1016/j.fm.2018.08.011.
- Bao, H., Zhang, P., Zhang, H., Zhou, Y., Zhang, L., Wang, R. (2015). Bio-control of *Salmonella* Enteritidis in foods using bacteriophages. *Viruses*, 7: 4836-4853, doi: 10.3390/v7082847.
- Boyd, E. F., Brüßow, H. (2002). Common themes among bacteriophage-encoded virulence factors and diversity among the bacteriophages involved. *Trends Microbiol*, 10(11): 521-529, doi: 10.1016/S0966-842X(02)02459-9.
- Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., 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 (2019). Estimates of foodborne illness in the United States. <https://www.cdc.gov/foodborneburden/burden/index.html>. (Accessed: 01 October 2019).
- Chibani, C. M., Farr, A., Klama, S., Dietrich, S., Liesegang, H. (2019). Classifying the unclassified: A phage classification method. *Viruses*, 11(195): 1-15, doi: 10.3390/v11020195.
- Coşkuntuncel Öztemiz, S. (2008). Organik tarımda biyolojik mücadele. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2): 19-27, doi: 10.13002/v2008i2.5000012603.
- Cufaoglu, G., Ayaz, N. D. (2019). *Listeria monocytogenes* risk associated with chicken at slaughter and biocontrol with three new bacteriophages. *J Food Saf*, 39: 1–10, doi: 10.1111/jfs.12621.
- Duc, H. M., Son, H. M., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2018). Isolation and application of bacteriophages to reduce *Salmonella* contamination in raw chicken meat. *LWT-Food Sci Technol*, 91: 353-360, doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.072.
- El-DougDoug, N.K., Cucic, S., Abdelhamid, A.G., Brovko, L., Kropinski, A.M., Griffiths, M.W., Anany, H. (2019). Control of *Salmonella* Newport on cherry tomato using a cocktail of lytic bacteriophages. *Int J Food Microbiol*, 293: 60-71, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.003.
- Fernández, L., Gutiérrez, D., Rodríguez, A., García, P. (2018). Application of bacteriophages in the agro-food sector: A long way toward approval. *Front Cell Infect Microbiol*, 8(296): 1-5, doi: 10.3389/fcimb.2018.00296.
- Galarce, N. E., Bravo, J. L., Robeson, J. P., Borie, C. F. (2014). Bacteriophage cocktail reduces *Salmonella enterica* serovar Enteritidis counts in raw and smoked salmon tissues. *Rev Argent Microbiol*, 46(4): 333-337, doi: 10.1016/S0325-7541(14)70092-6.

- García, P., Martínez, B., Obeso, J. M., Rodríguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Lett Appl Microbiol*, 47: 479-485, doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02458.x.
- Gökçe, Ö. (2010). *Lactobacillus delbrueckii* bakteriyofajı LL-H'nin konakçı spektrumu. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Türkiye, 58 s.
- Grant, A., Hashem, F., Parveen, S. (2016). *Salmonella* and *Campylobacter*: Antimicrobial resistance and bacteriophage control in poultry. *Food Microbiol*, 53: 104-109, doi: 10.1016/j.fm.2015.09.008.
- 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.
- Guenther, S., Herzig, O., Fieseler, L., Klumpp, J., Loessner, M. J. (2012). Biocontrol of *Salmonella* Typhimurium in RTE foods with the virulent bacteriophage FO1-E2. *Int J Food Microbiol*, 154: 66-72, doi: 10.1016/j.jfoodmicro.2011.12.023.
- Gümüştas, A. (2015). Laktik asit bakterileri ve bakteriyofajlarının çeşitli kaynaklardan izolasyonu ve karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 76 s.
- Hagens, S., Loessner, M. J. (2010). Bacteriophage for biocontrol of foodborne pathogens: Calculations and considerations. *Curr Pharm Biotechnol*, 11(1): 58-68, doi: 10.2174/138920110790725429.
- Hanlon, G. W. (2007). Bacteriophages: An appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*, 30: 118-128, doi: 10.1016/j.ijant.2018.01.072.
- Heringa, S. (2008). The application of bacteriophage for the elimination of pathogenic bacteria in compost. Graduate School of Clemson University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science Microbiology, USA, 448s.
- Hodgson, K. (2013). Bacteriophage Therapy. *Under the Microscope*, March: 28-31.
- Hong, Y., Pan, Y., Ebner, P. D. (2014). Development of bacteriophage treatments to reduce *Escherichia coli* O157:H7 contamination of beef products and produce. *J Anim Sci*, 92: 1366-1377, doi: 10.2527/jas.2013-7272.
- Huang, C., Shi, J., Ma, W., Li, Z., Wang, J., Li, J., Wang, X. (2018). Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices. *Food Res Int*, 111: 631-641, doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.071.
- Im, H., Dwidar, M., Mitchell, R. J. (2018). *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100, a predator of Gram-negative bacteria, benefits energetically from *Staphylococcus aureus* biofilms without predation. *ISME J*, 12: 2090-2095, doi: 10.1038/s41396-018-0154-5.
- Jo, A., Ding, T., Ahn, J. (2016). Synergistic antimicrobial activity of bacteriophages and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Food Sci Biotechnol*, 25(3): 935-940, doi: 10.1007/s10068-016-0153-0.
- Jończyk, E., Klak, M., Miedzybrodzki, R., Górski, A. (2011). The influence of external factors on bacteriophages - Review. *Folia Microbiol*, 56: 191-200, doi: 10.1007/s12223-011-0039-8.
- Komora, N., Bruschi, C., Ferreira, V., Maciel, C., Brandão, T. R. S., Fernandes, R., Saraiva, J. A., Castro, S. M., Teixeira, P. (2018). The protective effect of food matrices on *Listeria* lytic bacteriophage P100 application towards high pressure processing. *Food Microbiol*, 76: 416-425, doi: 10.1016/j.fm.2018.07.002.
- Kropinski, A. M. (2018). Bacteriophage research – What we have learnt and what still needs to be addressed. *Res Microbiol*, 169: 481-487, doi: 10.1016/j.resmic.2018.05.002.
- LeLièvre, V., Besnard, A., Schlusshuber, M., Desmaures, N., Dalmasso, M. (2019). Phages for biocontrol in foods: What opportunities for *Salmonella* spp. control along the dairy food

- chain?. *Food Microbiol*, 78: 89-98, doi:10.1016/j.fm.2018.10.009.
- Leung, V., Szewczyk, A., Chau, J., Hosseinidoust, Z., Groves, L., Hawsawi, H., Anany, H., Griffiths, M. W., Ali, M. M., Filipe, C. D. M. (2018). Long-term preservation of bacteriophage antimicrobials using sugar glasses. *ACS Biomater Sci Eng*, 4: 3802-3808, doi: 10.1021/acsbomaterials.7b00468.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Alavidze, Z., Janisiewicz, W. J., Fuchs, Y., Camp, M. J., Chghladze, E., Sulakvelidze, A. (2001). Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: A model study. *J Food Prot*, 64(8): 1116-1121, doi: 10.4315/0362-028x-64.8.1116.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Camp, M. J., Janisiewicz, W., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., ve Sulakvelidze, A. (2003). Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. *Appl Environ Microbiol*, 69(8): 4519-4526, doi: 10.1128/AEM.69.8.4519.
- Leverentz, B., Conway, W. S., Janisiewicz, W., Camp, M. J. (2004). Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. *J Food Prot*, 67(8): 1682-86, doi: 10.4315/0362-028X-67.8.1682.
- Liu, X., Nelson, M., Mahapatra, A. K., Styles, E. (2015). Perceptions of information gaps in farm-to-table studies. *Food Control*, 50: 663-669, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.09.033.
- Mahmoud, M., Askora, A., Barakat, A., Rabie, O. E., Hassan, S. E. (2018). Isolation and characterization of polyvalent bacteriophages infecting multi drug resistant *Salmonella* serovars isolated from broilers in Egypt. *Int J Food Microbiol*, 266: 8-13, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.009.
- Mahony, J., McAuliffe, O., Ross, R. P., Sinderen D. (2011). Bacteriophages as biocontrol agents of food pathogens. *Curr Opin Biotechnol*, 22: 157-63, doi: 10.1016/j.copbio.2010.10.008.
- Miedzybrodzki, R., Borysowski, J., Weber-Dabrowska, B., Fortuna, W., Letkiewicz, S., Szufnarowski, K., Pawelczyk, Z. (2012). Clinical Aspects of Phage Therapy. *Adv Virus Res*, doi: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00003-7.
- Milho, C., Silva, M. D., Melo, L., Santos, S., Azeredo, J., Sillankorva, S. (2018). Control of *Salmonella* Enteritidis on food contact surfaces with bacteriophage PVP-SE2. *Biofouling*, 34(7): 753-768, doi: 10.1080/08927014.2018.1501475.
- Modi, R., Hirvi, Y., Hill, A., Griffiths, M. W. (2001). Effect of phage on survival of *Salmonella* Enteritidis during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *J Food Prot*, 64(7): 927-933, doi: 10.4315/0362-028x-64.7.927.
- Mutlu, N. (2015). Çevresel örneklerden *Listeria monocytogenes*'e özgü faj izolasyonu ve genotipik karakterizasyonu. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kars, Türkiye, 71 s.
- Nobrega, F. L., Costa, A. R., Kluskens, L. D., Azeredo, J. (2015). Revisiting phage therapy: New applications for old resources. *Trends Microbiol*, 23(4): 185-191, doi: 10.1016/j.tim.2015.01.006.
- O'Flynn, G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. P., Coffey, A. (2004). Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 70 (6): 3417-3424, doi: 10.1128/AEM.70.6.3417.
- O'Flynn, G., Coffey, A., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. (2006). The newly isolated lytic bacteriophages st104a and st104b are highly virulent against *Salmonella enterica*. *J Appl Microbiol*, 101(2006): 251-59, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02792.x>.
- Oliveira, M., Viñas, I., Colàs, P., Anguera, M., Usall, J., Abadias, M. (2014). Effectiveness of a bacteriophage in reducing *Listeria monocytogenes* on fresh-cut fruits and fruit juices. *Food Microbiol*, 38: 137-142, doi: 10.1016/j.fm.2013.08.018.
- Pao, S., Rolph, S.P., Westbrook, E.W., Shen, H. (2004). Use of bacteriophages to control *Salmonella* in experimentally contaminated sprout seeds. *J Food Sci*, 69(5): M127-30, doi: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb10720.x.

- 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.
- Pires, D. P., Melo, L. D. R., Boas, D. V., Sillankorva, S., Azeredo, J. (2017). Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections. *Curr Opin Microbiol*, 39: 48-56, doi: 10.1016/j.mib.2017.09.004.
- Ramirez, K., Cazarez-Montoya, C., Lopez-Moreno, H. S., Castro-del Campo, N. (2018). Bacteriophage cocktail for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7: Stability and potential allergenicity study. *PLoS ONE*, 13(5): 1-19, doi: 10.1371/journal.pone.0195023.
- Richter, L., Janczuk-Richter, M., Niedziółka-Jönsson, J., Paczesny, J., Holyst, R. (2018). Recent advances in bacteriophage- based methods for bacteria detection. *Drug Discov Today*, 23(2), doi: 10.1016/j.drudis.2017.11.007.
- Rogers, K. (2019). Bacteriophage. *Encyclopedia Britannica*, 1-3. <https://www.britannica.com/science/bacteriophage>.
- Salmond, G. P. C., Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: past, present and future. *Nat Rev Microbiol*, 13: 777-786, doi: 10.1038/nrmicro3564.
- Şanlıbaba, P., Uymaz, B. (2015). Gıdalarda *Listeria monocytogenes*'in Biyokontrolünde Faj Uygulaması. *Akademik Gıda*, 13 (1): 81-88.
- Seçkin, A. K., Baladura, E. (2010). Gıdaların muhafazasında bakteriyosin ve bakteriyofaj uygulamaları. *GIDA*, 35(6): 461-467.
- Sharma, M., Dashiell, G., Handy, E. T., East, C., Reynnells, R., White, C., Nyarko, E., Micallef, S., Hashem, F., Millner, P. D. (2017). Survival of *Salmonella* Newport on whole and fresh-cut cucumbers treated with lytic bacteriophages. *J Food Prot*, 80(4): 668-673, doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-449.
- Shin, H., Lee, J. H., Kim, H., Choi, Y., Heu, S., Ryu, S. (2012). Receptor diversity and host interaction of bacteriophages infecting *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *PLoS ONE*, 7(8), doi: 10.1371/journal.pone.0043392.
- Sklar, I. B., Joerger, R. D. (2001). Attempts to utilize bacteriophage to combat *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection in chickens. *J Food Saf*, 21:15-29, doi: 10.1111/j.1745-4565.2001.tb00305.x.
- Son, H. M., Duc, H. M., Masuda, Y., Honjoh, K., Miyamoto, T. (2018). Application of bacteriophages in simultaneously controlling *Escherichia coli* O157:H7 and extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102: 10259-10271, doi: 10.1007/s00253-018-9399-1.
- Soni, K. A., Nannapaneni, R. (2010). Bacteriophage significantly reduces *Listeria monocytogenes* on raw salmon fillet tissue. *J Food Prot*, 73(1): 32-38, doi: 10.4315/0362-028x-73.1.32.
- Summers, W. C. 2016. Félix Hubert d'Herelle (1873-1949): History of a scientific mind. *Bacteriophage*, 6(4): e1270090, doi: 10.1080/21597081.2016.1270090.
- Tayyarcı, E. K. (2017). Gıda kaynaklı patojen bakterilerin biyokontrolünde faj terapi ve fitoterapinin birlikte kullanımı. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Türkiye, 126 s.
- Toro, H., Price, S. B., McKee, S., Hoerr, F. J., Krehling, J., Perdue, M., Bauermeister, L. (2005). Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce *Salmonella* from infected chickens. *Avian Dis*, 49: 118-24, doi: 10.1637.
- Tunail, N. (2009). Mikrobiyoloji. Pelin Ofset, Ankara, 434s. ISBN: 978605-603-62-0-0.
- Uygun, N., Ulusoy, M. R., Satar, S. (2010). Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1): 11-14.
- WHO 2019. "Food Safety". <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/food-safety>. (Accessed: 01 October 2019).

Wong, C. L., Siew, C. C., Tan, W. S., Abdullah, N., Hair-Bejo, M., Abu, J., Ho, Y. W. (2014). Evaluation of a lytic bacteriophage, Φ st1, for biocontrol of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens. *Int J Food Microbiol*, 172: 92-101, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.034.

Woolston, J., Sulakvelidze, A. (2015). Bacteriophages and food safety. *eLS. John Wiley & Sons*, doi: 10.1002/9780470015902.a0025962.

Yeh, Y., De Moura, F. H., Broek, V.D., De Mello, A. S. (2018). Effect of ultraviolet light, organic acids, and bacteriophage on *Salmonella* populations in ground beef. *Meat Sci*, 139: 44-48, doi: 10.1016/j.meatsci.2018.01.007.

Yıldızlı, G. (2015). Balık patojeni bazı *Vibrio* bakteriyofajlarının izolasyonu ve karakterizasyonu. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Mersin, Türkiye, 68 s.

Yüksel, H. T., Erbaş, G., Parın, U., Kırkan, Ş. (2016). Antibiyotik dirençli bakterilerin tedavi ve biyokontrolünde bakteriyofaj kullanımı. *Anim Health Prod and Hyg*, 5(2): 477-480.

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.



TURUNÇGİL ALBEDOLARI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ LOKUM ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Meryem Göksel Saraç^{1*}, Tuğba Dedebaş²

¹ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Yıldızeli Meslek Yüksekokulu, Sivas, Türkiye

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Bolvadin Meslek Yüksekokulu, Afyon, Türkiye

Geliş / Received: 27.05.2019; Kabul / Accepted: 05.11.2019; Online baskı / Published online: 15.11.2019

Göksel Saraç, M., Dedebaş, T. (2019). Turunçgıl albedoları ile zenginleştirilmiş lokum üretimi ve Karakterizasyonu. *GIDA* (2019) 44 (6) 1121-1135 doi: 10.15237/gida.GD19084.

Göksel Saraç, M., Dedebaş, T. (2019). Production and characterization of turkish delight enriched with citrus albedos. GIDA (2019) 44 (6) 1121-1135 doi: 10.15237/gida.GD19084.

ÖZ

Bu çalışmanın ilk aşamasında limon, greyfurt, turunç ve mandalina albedoları toz hale getirilerek, nem, kül, pH, diyet lif, renk, su ve yağ absorpsiyonu, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk ve carr indeksi değerleri belirlenmiştir. Örneklerin pH, su absorpsiyonu, yağ absorpsiyonu ve carr indeks değerleri ile diyet lif miktarı sırasıyla 3.72-6.31, %178.28-469.11, %162.04-340.90, %15.00-27.27 ve %45.77-61.38 aralığında saptanmış ve albedo çeşitleri arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. İkinci aşamada ise albedolar geleneksel bir ürün olan lokuma %3 oranında ilave edilerek, örneklerin nem, pH, yoğunluk, renk ve tekstürel özellikleri belirlenmiştir. Lokum örnekleri içinde kontrole göre en kırmızı GAL en sarı LAL örneği olurken, en sert TAL ve KL en yumuşak MAL örneği olmuştur. Bunun yanı sıra örneklerin tüketici kabul edilebilirliğinin belirlenebilmesi için duyu analizi yapılmış ve sonuçları Basit Toplamlı Ağırlıklandırma (Simple Additive Weighting) yöntemi ile değerlendirilmiştir. SAW yöntemi sonucunda en çok beğenilen ürünün mandalina albedosu ile zenginleştirilmiş lokum olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Albedo, turunçgiller, lokum, diyet lif

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TURKISH DELIGHT ENRICHED WITH CITRUS ALBEDOS

ABSTRACT

In the first stage of this study, albedo powders from lemon, grapefruit, citrus and mandarin were produced. The moisture, ash, pH, dietary fiber content, color, water and oil absorption, bulk and tapped density, and carr index values were determined. The pH, water absorption, oil absorption and carr index values and dietary fiber content of the samples were determined as 3.72-6.31, 178.28-469.11%, 162.04-340.90%, 15.00-27.27%, and 45.77-61.38% respectively and significant variations were determined between the albedo samples. In the second stage, different source of albedo samples were individually added into the traditional product, commonly known as Turkish delight, at a level of 3%. The moisture, pH, density, color values and textural properties were determined in the Turkish delight samples. The reddest and the yellowest samples were found to be GAL and LAL, respectively, comparing with the control. On the other hand, the hardest samples were TAL and KL while the softness delights were MAL. In addition, sensory evaluation was performed to determine the acceptability of the samples and the results were calculated by Simple Total Weighting (SAW) method. As a result of the SAW method, it was determined that the most favored Turkish delight was the one fortified with mandarin albedo.

Keywords: Albedo, citrus fruits, Turkish delight, dietary fiber

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉ mgoksel@cumhuriyet.edu.tr,

☎ (+90) 346 751 2209

☎ (+90) 346 751 2208

GİRİŞ

Rutaceae familyasında yer alan turunçgil meyveleri (*Citrus* L.), son yıllarda dünya genelinde üretimi artmakta olan popüler meyvelerden olup, tropik ve subtropikal bölgelerde yetiştirilir. (Castro-Vazquez vd., 2016; Smeriglio vd., 2019). Turunçgil meyvelerinin mandalina (*Citrus reticulata*), greyfurt (*Citrus vitis*), turunç (*Citrus aurantium*) ve limon (*Citrus limonum*) gibi çeşitleri bulunur (Sharma vd., 2017). Renkleri ve lezzetli aromalarının yanı sıra turunçgil meyveleri yapılarındaki vitaminler, karotenoidler, flavonoidler ve mineraller bakımından zengindir (Rafiq vd., 2018; Smeriglio vd., 2019). Turunçgil meyve kabukları farklı anatomik yapı ve özelliklere sahip iki ana dokudan oluşur. Bu yapılar flavedo adı verilen renkli dış tabaka ve albedo olarak adlandırılan renksiz iç süngerimsi dokudur (Lliso vd., 2007). Albedo tabakası önemli bir pektin kaynağı olması nedeniyle gıda endüstrisinde kullanılır. Ayrıca, diyet lif potansiyeli yüksektir ve diğer lif kaynaklarına göre antioksidan özellikteki biyoaktif bileşikleri bünyesinde bulundurduğu için daha iyi kalitededir (Fernández-Ginés vd., 2004; Lliso vd., 2007). Turunçgillerin, sadece küçük bir kısmı sofralık tüketime yönelik iken geri kalan kısmı meyve suyu, narenciye bazlı içecekler, marmelatlar, reçeller, kurutulmuş ürünler ve aroma maddeleri üretimi için kullanılır. Bu üretim uygulamaları sonucunda meyve ağırlığının %50'sini oluşturan miktarlarda artık elde edilir (Nassar vd., 2008; De Moraes Barros vd., 2012; Zain vd., 2014). Genellikle turunçgil meyvesinin katı artıklarından flavedo ve albedo gibi kabuk kısımları melas, diyet lif, pektin, pekmez, limonen ve yakıt üretimi için kullanılır (Fishman vd., 2003; Rafiq vd., 2018). Narenciye artıklarından olan albedonun diyet lif içeriğinin yüksek olduğu ve yapılan çalışmalar ile diyet liflerin pişirme verimini arttırmada, formülasyon maliyetini düşürmede ve gıda ürünlerinde dokuyu geliştirmede faydalı olduğu bulunmuştur (Fernández-Ginés vd., 2004). Yapılan başka bir çalışmada ise çeşitli diyet lif türlerinin az yağlı veya düşük kalorili et ürünlerinin emülsiyon formülasyonları için diğer gıda bileşenleri ile karıştırılmasına gerek olduğu fakat albedo liflerinin sosislere pişmiş veya çiğ

halde direk eklenebileceği belirlenmiştir (Smeriglio vd., 2019).

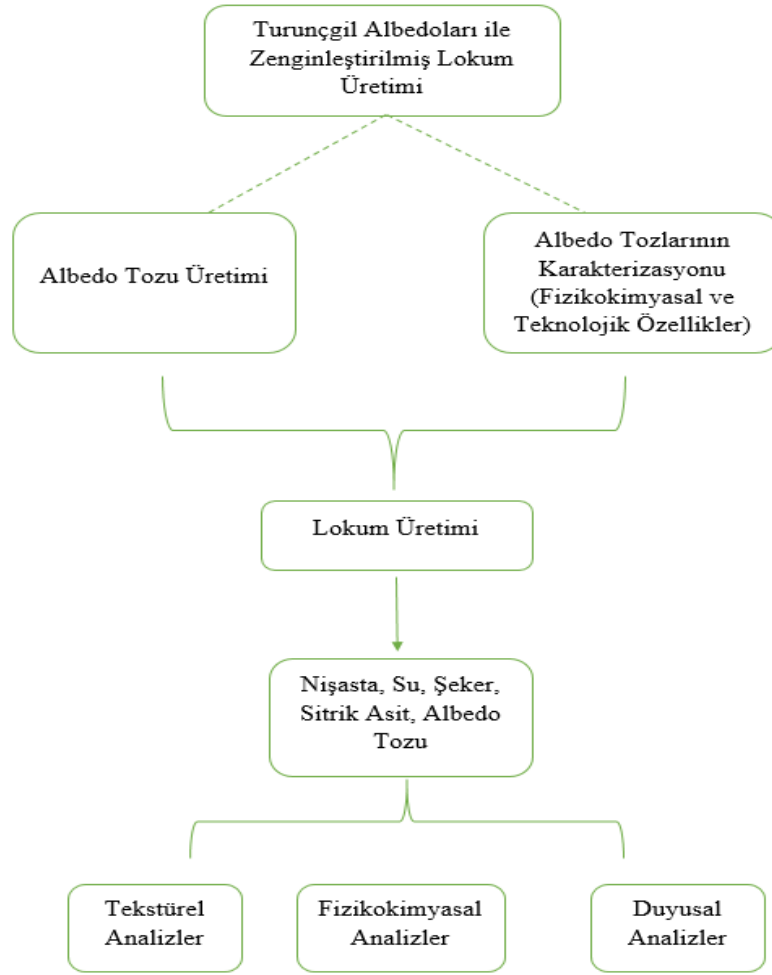
Türk Gıda Kodeksine göre şeker, nişasta, su ve sitrik asit/tartarik asit veya potasyum bitartarat ile hazırlanan lokum, gerektiğinde çeşni maddeleri ilavesiyle tekniğine uygun olarak hazırlanan geleneksel bir üründür (Anonim, 2013). Osmanlıca 'rahat ul-hulküm' olarak tanımlanan ve boğaz rahatlatan anlamına gelen lokum Avrupa'da 'Turkish delight' olarak bilinmekte ve sevilerek tüketilir (Diker vd., 2017; Hayoğlu vd., 2017). Ünü sınırları aşmış olan lokum sade, çeşnili, kaymaklı, sultan ve sucuk tipi gibi farklı çeşitlerde üretilir (Anonim, 2013). Üretim şekli ve çeşnileri değiştirilebilen lokum üzerinde son dönemlerde çalışmalar yapılmaktadır. Nişasta miktarı ve çöven suyu (Uslu vd., 2004), siyah havuç antosiyanini (Özen vd., 2011) ve tane nar ilavesi ile vakum ambalajlamanın (Hayaloğlu vd., 2017) lokum üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Fakat literatürde diyet lif oranı yüksek, teknolojik etki ve aroma değişimleri oluşturabilecek katkı maddeleri ile lokumun zenginleştirilmesine yönelik çalışmalar yer almamaktadır.

Bu çalışmada; greyfurt, limon, mandalina ve turunç meyvelerinin kabuk kısımlarından albedo tozları elde edilmiş ve belirli oranda geleneksel ürün olan lokuma ilave edilerek teknolojik, fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri üzerinde oluşturdukları etkiler tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra tüketici kabul edilebilirliğinin belirlenebilmesi için duyuşal değerlendirme yapılmış ve sonuçları Basit Toplamlı Ağırlıklandırma (Simple Additive Weighting (SAW)) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Albedo üretiminde kullanılan turunç ve greyfurt Mersin yöresinden, limon ve mandalina Balıkesir yöresinden sezonunda toplanarak elde edilmiştir. Lokum üretiminde kullanılan malzemeler (şeker, buğday nişastası, sitrik asit) Afyon yöresindeki yerel firmalardan temin edilmiştir. Çalışmanın deneme deseni Şekil 1'de ifade edilmiştir.



Şekil 1. Turunçgil albedoları ile lokum üretim çalışması deneme deseni
Figure 1. Experimental design of delight production process with citrus albedos

Turunçgil albedolarının üretimi

Greylort, limon, mandalina ve turunç meyveleri ağaçlardan toplanmış ve kabuk olarak tanımlanan albedo (beyaz iç kısım) ve flavedo (sarı dış kısım) kısımları meyveden ayrılmıştır. Albedo üretimi için sarı renkli flavedo kısımları bıçak yardımıyla kabuktan soyulmuştur. Elde edilen beyaz renkli albedo örnekleri her seferde 200 gr örnek kullanılarak 35 °C'de etüvde (Nüve, MF120, Türkiye) nem miktarları %10 altına düşecek şekilde 24 saat süreyle bekletilerek suyundan uzaklaştırılmış ve sonrasında öğütücü yardımıyla toz hale getirilmiştir. Albedo örnekleri 2 tekrerrör olacak şekilde üretilmiş ve analizleri 6 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Turunçgil albedolarının analizleri

Toz halde elde edilen turunçgil albedoları ürün özelliklerinin ve farklılıklarının belirlenmesi için analiz edilmiştir. Nem tayini etüvde 105 °C'de (Nüve, MF120, Türkiye) (AOAC, 2000) ve kül tayini kül fırınında (Nüve, Türkiye) 550 °C'de yapılmıştır (AOAC, 2000). Albedo örneklerinin diyet lif içeriği toplam diyet lif miktarı üzerinden enzimatik yöntem ile belirlenmiştir (AOAC, 2000). pH analizi 1 gr albedo tozu 10 mL saf su içinde çözdürülerek pH metre (Hach, ABD) ile tespit edilmiştir (López-Vargas vd., 2013). Örneklerin renk değerleri Minolta renk skalası ile ölçüm yapan renk tayin cihazında (Konica-

Minolta, CR400, Japonya) L^* , a^* ve b^* değerleri hesaplanarak belirlenmiştir.

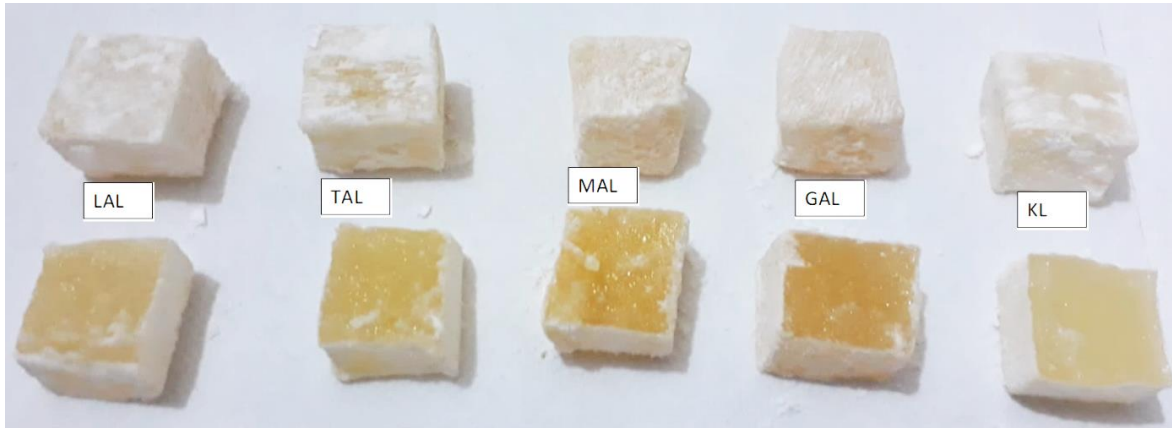
Albedo örneklerinin su ve yağ absorpsiyon oranları en önemli teknolojik özelliklerindedir. Yağ absorpsiyon analizi için 1 gr albedo tozu 10 mL ayçiçek yağı içerisinde karıştırılmış, homojen bir karışım elde edildikten sonra bir gece oda sıcaklığında bekletilmiş sonraki gün santrifüjlenerek (Hettich-320, Almanya) faz ayrımı sonucu üstte kalan yağ miktarı belirlenmiştir. Su absorpsiyonu analizi aynı prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir (Jiménez-Escrig ve Sánchez-Muniz, 2000).

Yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk analizleri sabit hacimli kaplarda kütle/hacim oranıyla hesaplanmaktadır. Yığın yoğunluk ($Q_{yığın}$ g/cm³) analizinde belirli hacimde mezüre herhangi bir basınç uygulamadan albedo tozları konmuş ve ağırlıkları tartılmıştır. Sıkıştırılmış yoğunluk analizinde ise sert bir zemine her saniyede bir vuruş yapılarak, 180 saniye sonunda elde edilen hacim ölçülmüş kütle/hacim oranı ile sıkıştırılmış yoğunluk ($Q_{sıkıştırılmış}$ g/cm³) tespit edilmiştir (Tatar, 2012). Carr indeks değeri ise yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri kullanılarak aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (Turchiuli vd., 2005).

$$Carr\ indeks\ (\%) = \frac{Sıkıştırılmış\ yoğunluk - Yığın\ yoğunluk}{Sıkıştırılmış\ yoğunluk} \times 100$$

Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum üretimi

Lokum örnekleri Afyon ilinde bulunan Gönbelok Lokum ve Şekerleme A.Ş.'de üretilmiştir. Üretim %35 şeker, %0.4 nişasta (buğday), %0.045 sitrik asit, %61.5 su ve %3 albedonun karıştırılması ve ortalama 3.5 saat pişirilmesi şeklinde firma standartlarına göre revize edilerek gerçekleştirilmiştir (Özen vd., 2011). Sonrasında kalıplara dökülen lokumlar 1 gece bekletilmiş ertesi gün kesilerek dış kaplaması nişasta ile yapılmıştır. Albedo ilaveli lokumlarda albedo oran belirlemesi için ön denemeler yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (%1, 3 ve 5) albedolar ilave edilerek üretilen lokumların aroma ve yapısal özellikleri göz önüne alındığında en uygun oran %3 olarak belirlenmiştir. Turunç albedosu ile üretilen lokum TAL, mandalina albedosu için MAL, greyfurt albedosu için GAL, limon albedosu için LAL ve kontrol lokumu olarak üretilen ve albedo içermeyen lokum ise KL olarak tanımlanmıştır. Üretim sonrası elde edilen lokum örnekleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Lokum üretimleri 2 tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve analizler 6 paralel olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 2. Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum örnekleri

Figure 2. Examples of delight enriched with citrus albedos

GAL: Greyfurt albedosu ile üretilmiş lokum, TAL: Turunç albedosu ile üretilmiş lokum, LAL: Limon albedosu ile üretilmiş lokum, MAL: Mandalina albedosu ile üretilmiş lokum, KL: Kontrol lokumu

GAL: Delight with grapefruit albedo, TAL: Delight with citrus albedo, LAL: Delight with lemon albedo, MAL: Delight with mandarin albedo, KL: Control delight

Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum analizleri

Lokum örneklerinin nem değerleri Cemeroglu (1992) yöntemine göre yapılmıştır. 3 gr olarak tartılan lokum örneği 30 mL saf su ile homojenize edilmiş sonrasında etüvde (Nüve, MF120, Türkiye) kurutularak nem miktarı hesaplanmıştır. Örneklerin pH değeri ise 1 gr lokumun 10 mL saf suyla karıştırılması ve pH metre (Hach, ABD) ile ölçüm yapılmasıyla belirlenmiştir. Turunçgil albedoları ile üretilen ve kontrol lokumlarının yoğunluk değerleri hacim ve kütle hesaplaması yapılarak tespit edilmiştir. Ağırlıkları belirlenen lokum örnekleri hacmi kaydedilmiş mezür içerisine atılarak su hacminde meydana getirdikleri değişim hesaplanmış ve kütle/hacim oranlanması ile yoğunluk değerleri analiz edilmiştir (Uslu vd., 2010).

Farklı tür albedo ilavesinin lokumlarda renk değişimine neden olup olmadığının tespiti için renk analizi, L^* , a^* ve b^* değerlerinin renk tayin cihazında (Konica-Minolta, CR400, Japonya) belirlenmesi ile gerçekleştirilmiştir. Renk tayini, temiz bir bıçakla lokumların ortasından kesilmesi ve 6 paralel olacak şekilde tekrar edilmesi ile yapılmıştır. Albedo örneklerinin diyet lif miktarının ve su bağlama özelliğinin fazla olması nedeniyle zenginleştirilmiş lokum örneklerinde tekstürel açıdan oluşabilecek etkilerin belirlenmesi için tekstür analizi yapılmıştır.

Tekstür profil analizi, tekstür analiz cihazında (TAXT plus Stable Microsystems, Godalming, Surrey, İngiltere) gerçekleştirilmiş ve özel yazılım (Texture Exponent 32, Stable Microsystems, Godalming, Surrey, İngiltere) ile sonuçlar değerlendirilmiştir. Analiz için lokumlar (50x50x30mm kesilmiş) 36 mm çapındaki TPA baskı plakası altında, 50 kg'lık yük hücresi kullanılarak, 5 mm/s hızla 15 mm ve %25 sıkıştırma oranı ile sıkıştırılmış, iki sıkıştırma arasında 8 saniye beklenme şeklinde tasarlanmış ve lokumlar bu şekilde analiz edilmiştir. Analiz sonucu lokumların sertlik, yapışkanlık, esneklik, kohezyon, sakızimsılık çignenebilirlik ve elastikiyet değerleri tekstür profil analiz sonucu olarak elde edilmiştir (Uslu vd., 2010).

Farklı çeşit albedolar ile zenginleştirilmiş lokumların kabul edilebilirliğinin belirlenmesi için duyu analizi yapılmıştır. Duyusal analizlerin tamamı 1-9 puan skalasında 1 'en kötü', 9 'en iyi' şeklinde tanımlanarak gerçekleştirilmiştir. Görünüş, renk, sertlik, sakızimsılık, kıvam, tat-aroma, çignenebilirlik, yapışkanlık, esneklik ve genel beğeni başlıklarında yapılan duyu analizleri değerlendirilmeler Afyon Kocatepe Üniversitesi Bolvadin Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi bölümünde eğitim gören 30 öğrenci tarafından yapılmıştır.

Duyusal analizlerin değerlendirilmesinde çok kriterli karar verme yöntemlerinden biri olan SAW tekniğinden faydalanılmıştır. SAW ilk olarak portföy seçim problemlerine uygulanmış ve bu sayede literatüre girmiştir (Churchman ve Ackoff, 1958). SAW çok kriterli karar verme yöntemleri içerisinde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (Tzeng ve Huang, 2011; Perçin ve Çakır, 2016). SAW tekniği birden fazla kriterin bulunduğu durumlarda en çok beğenilen örneğin bulunmasında kullanılan bir yöntemdir (Afshari vd., 2010). Şekil 3'de SAW tekniğinde kullanılan kriterler gösterilmektedir.

SAW uygulaması aşağıda verilen hesaplamaların yapılması ile gerçekleştirilmiştir.

1. Karar matrisinin oluşturulması ($m \times n$). Bu çalışmada duyu analizi parametreleri içinden seçilen 6 kriter (n) ve 5 alternatif (m) bulunmaktadır. Alternatifler albedo tozları ile üretilmiş lokumlar ve kontrol lokumudur. Kriterler ise sertlik, kıvam, tat-aroma, çignenebilirlik, yapışkanlık ve genel beğeni olarak seçilmiştir.

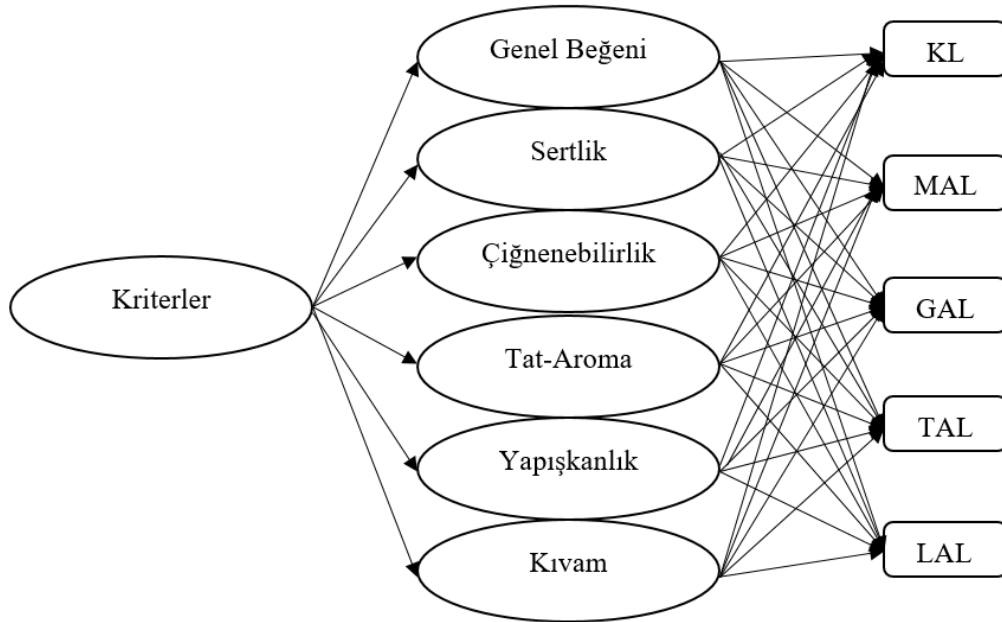
2. Karar matrisinin normalize edilmesi

3. Alternatiflerin tercih değerinin hesaplanması;

$$S_i = \sum_{j=1}^m w_j r_{ij}$$

Bu formülde ' j ' kriter ağırlığı, ' S ' ise alternatifin tercih değeridir, ayrıca ' w_j ' kriterlerin ağırlığını, ' r_{ij} ' ise ' j 'inci kriterin ' i 'inci alternatifine karşı ağırlığının oranını ifade etmektedir.

4. Ağırlıklandırılmış normalize edilmiş alternatiflerin toplamı en çok tercih edilen ürünün belirlenmesini sağlamıştır.



Şekil 3. Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum örneklerinin hiyerarşi karar süreci
Figure 3. Hierarchy decision process of delight samples enriched with citrus albedos

Albedo tozları ve zenginleştirilmiş lokumların analizlerinin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde SPSS Statistics 17.0 paket programı kullanılmıştır. Analiz sonuçlarını karşılaştırmak için tek faktörlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve post-hoc testi olarak Tukey testi kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Turunçgil albedolarının özellikleri

Lokum üretiminde kullanılan turunçgil albedolarının nem, kül, pH, su ve yağ absorpsiyon, carr indeks, diyet lif, yığın ve sıkıştırılmış yoğunluk ile renk değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir. Greyfurt, limon, mandalina ve turunç albedo tozlarının nem ve kül miktarları sırasıyla %5.44, %7.12, %6.90, %3.85 ve %2.35, %1.94, %1.80, %3.33 olarak belirlenmiştir. Limon albedo tozunda diğer albedolara göre daha yüksek nem içeriği belirlenirken, kül içeriği bakımından en yüksek değer turunç albedo tozunda olduğu tespit edilmiştir. Numuneler arasında kül ve nem içeriği bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir

farklılık olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Turunçgil albedolarının pH değerlerinin 3.72 ila 6.31 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek pH değeri mandalina albedo tozunda belirlenirken en düşük değer turunç albedo tozunda tespit edilmiştir. Bununla birlikte, greyfurt ve limon albedo tozlarının pH değerleri sırasıyla 4.95 ve 4.92 olarak belirlenmiş ve aralarında istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır. Lario vd., (2004) limon albedolarının fonksiyonel özellikleri üzerine farklı işleme (direkt kurutma ve kurutma öncesi) tekniklerinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, limon albedolarının pH değerini sırasıyla 3.83 ve 3.98 olarak tespit etmişlerdir. Aleson-Carbonell vd., (2005) taze limon albedosunun pH değerini 4.53 olarak belirlemiştir. Sariçoban vd., (2008) ise yaptıkları çalışmada 50°C'de 48 saat süreyle kurutulmuş limon albedosunun pH değerini 4.08, nem oranını %6.2 ve kül miktarını %4.5 olarak analiz etmişlerdir. Limon albedosu için elde ettiğimiz sonuçların yapılan çalışmalarda belirlenen nem içeriği ve pH değerlerine kıyasla daha yüksek

Turunçgil albedolu lokumların özelliklerinin belirlenmesi

olduğu, kül içeriğinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın albedo tozlarının eldesi için kullanılan turunçgil meyvelerinin cins ve kurutma koşullarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada Demirel ve Demir

(2018) mandalina, limon ve greylfort albedo tozlarının özelliklerini belirlemişlerdir ve nem içeriğini sırasıyla %7.97, %7.98 ve %5.81 olarak tespit etmişlerdir. Albedo tozlarının nem içeriğinin bizim çalışmamız ile benzer ve yakın sonuçlarda olduğu görülmüştür.

Çizelge 1. Turunçgil albedo tozlarının özellikleri
Table 1. Properties of citrus albedo powders

	Greyfurt Albedo Tozu <i>Grapefruit albedo powder</i>	Limon Albedo Tozu <i>Lemon albedo powder</i>	Mandalina Albedo Tozu <i>Mandarin albedo powder</i>	Turunç Albedo Tozu <i>Citrus albedo powder</i>
Nem Miktarı (%) <i>Moisture (%)</i>	5.44 ^c ± 0.13	7.12 ^a ± 0.32	6.90 ^b ± 0.26	3.85 ^d ± 0.25
Kül Miktarı (%) <i>Ash (%)</i>	2.35 ^b ± 0.21	1.94 ^c ± 0.17	1.80 ^c ± 0.22	3.33 ^a ± 0.15
pH <i>pH</i>	4.95 ^b ± 0.01	4.92 ^b ± 0.00	6.31 ^a ± 0.00	3.72 ^c ± 0.01
Su Absorpsiyonu (%) <i>Water Absorption (%)</i>	396.08 ^b ± 1.16	469.11 ^a ± 3.11	463.81 ^a ± 1.99	178.28 ^c ± 1.11
Yağ Absorpsiyonu (%) <i>Oil Absorption (%)</i>	283.46 ^b ± 2.53	340.90 ^a ± 2.21	271.71 ^c ± 2.01	162.04 ^d ± 2.76
Yığın Yoğunluk (g/cm ³) <i>Bulk Density (g/cm³)</i>	0.23 ^b ± 0.01	0.16 ^c ± 0.01	0.21 ^b ± 0.01	0.51 ^a ± 0.02
Sıkıştırılmış Yoğunluk (g/cm ³) <i>Tap Density (g/cm³)</i>	0.29 ^b ± 0.02	0.22 ^c ± 0.01	0.25 ^c ± 0.02	0.60 ^a ± 0.03
Carr İndeksi (%) <i>Carr Index (%)</i>	20.69 ^b ± 0.01	27.27 ^a ± 0.03	16.00 ^c ± 0.00	15.00 ^d ± 0.03
Diyet Lif Miktarı (%) <i>Dietary Fiber Content (%)</i>	55.43 ^b ± 2.21	45.77 ^c ± 2.56	61.38 ^a ± 3.01	56.05 ^b ± 2.53
Renk Değerleri <i>Color values</i>	<i>L*</i> 77.61 ^b ± 0.17	84.85 ^a ± 0.31	78.53 ^b ± 0.58	76.19 ^b ± 0.05
	<i>a*</i> 5.19 ^b ± 0.10	2.15 ^c ± 0.01	6.70 ^a ± 0.06	2.12 ^c ± 0.03
	<i>b*</i> 23.08 ^c ± 0.82	17.50 ^d ± 0.31	36.01 ^a ± 0.53	26.85 ^b ± 0.23

Aynı satırdaki farklı harfler örnekler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. ortalama ± standart sapma

Different letters on the same line indicate that the difference between the samples is statistically significant. mean ± standard deviation

Su absorpsiyon değeri, nemli bir malzemenin harici merkezkaç kuvveti veya kuvvete maruz kaldığında suyu tutma kabiliyetidir. Ayrıca hem fizyolojik hem de teknolojik açıdan diyet liflerinin önemli bir özelliğidir (López-Vargas vd., 2013). Çizelge 1'de görüldüğü gibi en yüksek su absorpsiyon değerleri limon ve mandalina albedo tozlarında tespit edilmiş, turunç ve greylfort albedoları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir. Yağ absorpsiyonu, bitki

polisakaritlerinin kimyasal yapısı ile ilgili teknolojik bir özelliktir ve yüzey özelliklerine, toplam yük yoğunluğuna, kalınlığına ve diyet lif partikülünün hidrofobik yapısına bağlıdır. Çalışma kapsamında kullanılan greylfort, limon, mandalina ve turunç tozu albedo örneklerinin yağ absorpsiyon değerleri sırasıyla %283.46, %340.90, %271.71 ve %162.04 olarak tespit edilmiştir ve örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Limon albedo tozunun su ve yağ absorpsiyon sonuçları,

Aleson-Carbonell vd., (2005) tarafından yapılan çalışmada, 50°C'de 48 saat süreyle kurutulmuş elde edilmiş limon albedo tozunun su (6.96 g su/g albedo) ve yağ (5.22 g yağ/g albedo) absorpsiyonu için belirlediği değerlerden daha düşük saptanmıştır. Diğer taraftan Lario vd., (2004), 65°C'de 48 saat süreyle kuruttukları limon albedo tozlarının yağ absorpsiyon değerini 6.60-6.71 g yağ/g lif olarak tespit etmişlerdir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın albedo tozlarının partikül boyutlarına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Turuncgil albedo tozlarının renk özellikleri L^* , a^* ve b^* değerleri ile ifade edilmiştir. L^* değeri parlaklığı, a^* değeri kırmızı/yeşil, b^* değeri ise sarı/mavi renkleri temsil etmektedir. Renk değerleri incelendiğinde turuncgil albedolarının L^* değerleri 76.19-84.85, a^* değerleri 2.12-6.70 ve b^* değerleri ise 17.50-36.01 arasında değişim göstermiştir. L^* değeri (84.85), en yüksek limon albedosunda tespit edilmiştir. Limon albedosu hariç, diğer tüm albedoların L^* değeri arasında istatistiksel olarak bir farklılığın olmadığı saptanmıştır. Kırmızılık değerini ifade eden a^* değeri en yüksek mandalina albedo tozunda belirlenirken en düşük değer turunc ve limon albedo tozlarında bulunmuştur. Ayrıca mandalina, limon, greyfurt ve turunc albedo tozlarının b^* değerleri (sırasıyla 36.01, 17.50, 23.08 ve 26.85) arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Limon albedosunun renk değerleri, 50 °C'de 48 saat süreyle kurutulmuş elde edilen limon albedosunun L^* (72.04) değerinden büyük, a^* (4.19) değerinden küçük ve b^* (17.50) değerlerine eşit tespit edilmiştir (Sarıçoban vd., 2008). Demirel ve Demir (2018), mandalina, limon ve greyfurt albedolarının bisküvi üretiminde kullanımı üzerine yaptıkları çalışmada albedoların L^* değerini 81.72-93.39, a^* değerini -0.75-1.72 ve b^* değerini ise 22.09-30.52 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar ile yapılan çalışmalar arasındaki bu farklılığın albedo tabakasının alınması işlemi sırasında flavedo tabakasında yer alan karotenoid bileşiklerindeki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Turuncgil albedo tozlarının yığın yoğunlukları ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri Çizelge 1' de

verilmiştir. Toz ürünlerin yığın yoğunluk değerleri 0.16 ile 0.51 g/cm³ ve sıkıştırılmış yoğunluk değerleri 0.22 ile 0.60 g/cm³ arasında değişmektedir. En yüksek yığın yoğunluk ve sıkıştırılmış yoğunluk değerine turunc albedo tozunun sahip olduğu belirlenmiştir. Yığın yoğunluğu (greyfurt ve mandalina albedo tozları hariç) ve sıkıştırılmış yoğunluk (limon ve mandalina albedo tozları hariç) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($P<0.05$) tespit edilmiştir.

Carr indeksi toz akış özelliklerinin sınıflandırılmasında kullanılan bir değerdir. Tozların akış özellikleri; partikül büyüklüğü ve şekli, dansite, elektrostatik yük ve nemden etkilenir (Santhalakshmy vd., 2015). Carr indeks skalasına göre, carr indeks değeri 15-20 arasında olan örnekler iyi akış özelliği gösteren, 20-35 arası olanlar ise orta akış davranışı gösteren tozlar olarak tanımlanır. Skalaya göre mandalina ve turunc albedo tozlarının akış özelliklerinin limon albedo tozunun akış özelliklerine göre daha iyi, greyfurt albedo tozunun ise orta düzeyde bir akış özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Greyfurt, limon, mandalina ve turunc albedo tozlarının diyet lif içerikleri sırasıyla %55.43, %45.77, %61.38 ve %56.05 olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Diyet lif içeriği bakımından mandalina albedo tozu en yüksek orana sahip iken en düşük lif miktarı limon albedo tozunda tespit edilmiştir. Greyfurt ve turunc albedo tozlarının diyet lif içerikleri hariç örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Benzer şekilde başka çalışmalarda limon albedosunun diyet lif içerikleri belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ki limon albedosunun (%45.77) diyet lif içeriği yapılan diğer çalışmalar ile kıyaslandığında kurutulmuş limon albedosunun lif (%85-87) içeriğinin daha düşük bir değere sahip olduğu saptanmıştır (Aleson-Carbonell vd.2005, Sarıçoban vd. 2008). Diğer yandan Demirel ve Demir (2018) yaptıkları çalışmada mandalina (%23.14), limon (%24.76) ve greyfurt (%25.81) albedo tozlarının diyet lif içeriklerini yapılan çalışmamıza göre daha düşük belirlemişlerdir.

Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum analizleri

Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum örneklerinin nem, pH, yoğunluk ve renk analiz sonuçları Çizelge 2’de gösterilmiştir. Lokumların nem miktarları %11.04-11.96 arasında belirlenmiştir ve sonuçlar arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada nar ilaveli lokum örneklerinin depolama süresindeki değişimleri

vakumlu ve vakumsuz ambalajda çalışılmıştır. Analiz sonucunda vakumsuz ambalajda depolanan lokumlarda kuru madde miktarı %85.54-86.39, vakumlu ambalajda ise %86.42-94.65 olarak tespit edilmiştir (Hayoğlu vd., 2017). Başka bir çalışmada ise lokumlarda nişasta ve çöven suyu ilavesinin etkisi araştırılmıştır ve lokum örneklerinde nem miktarı %12.43-20.44 aralığında belirlenmiştir (Uslu vd., 2010).

Çizelge 2. Lokum örneklerinin pH, nem, yoğunluk ve renk değerleri
Table 2. pH, moisture, density and color values of delight samples

	GAL	LAL	MAL	TAL	KL
Nem Miktarı (%) Moisture (%)	11.96 ^a ± 0.12	11.42 ^a ± 0.42	11.56 ^a ± 0.16	11.67 ^a ± 0.35	11.04 ^a ± 0.44
pH pH	7.20 ^b ± 0.01	6.99 ^c ± 0.01	7.00 ^c ± 0.01	6.76 ^d ± 0.03	7.42 ^a ± 0.03
Yoğunluk (g/mL) Density(g/mL)	1.02 ^d ± 0.02	1.24 ^b ± 0.02	1.00 ^d ± 0.01	1.33 ^a ± 0.01	1.13 ^c ± 0.01
Renk Değerleri Color values	<i>L*</i> 56.32 ^c ± 0.07	60.40 ^b ± 0.11	57.01 ^c ± 0.03	56.02 ^c ± 0.02	61.19 ^a ± 0.03
	<i>a*</i> 0.85 ^a ± 0.11	0.47 ^d ± 0.02	0.75 ^b ± 0.09	0.65 ^c ± 0.03	0.44 ^d ± 0.02
	<i>b*</i> 24.68 ^c ± 0.12	29.93 ^a ± 0.06	26.44 ^b ± 0.11	24.47 ^c ± 0.16	21.08 ^d ± 0.02

Aynı satırdaki farklı harfler örnekler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. ortalama± standart sapma GAL: Greyfurt albedosu ile üretilmiş lokum, TAL: Turunç albedosu ile üretilmiş lokum, LAL: Limon albedosu ile üretilmiş lokum, MAL: Mandalina albedosu ile üretilmiş lokum, KL: Kontrol lokumu

Different letters on the same line indicate that the difference between the samples is statistically significant. mean±standard deviation GAL: Delight with grapefruit albedo, TAL: Delight with citrus albedo, LAL: Delight with lemon albedo, MAL: Delight with mandarin albedo, KL: Control delight

Albedo ilavesi ile zenginleştirilmiş lokumlarda pH değerleri limon ve mandalina albedosu ile üretilen lokumlar için istatistiksel açıdan önemsiz fakat diğer lokum örnekleri için önemli ($P<0.05$) olarak tespit edilmiştir. En düşük pH değerine sahip olan turunç albedosu etkisini lokumda göstermiş kontrol lokumu 7.42 pH değerindeyken TAL 6.76 pH değerinde bulunmuştur. Albedo ile zenginleştirilmiş lokumların tamamı kontrol lokumuna göre düşük pH değerlerinde bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada nar ilavesi ile elde edilen lokumlarda pH aralığı 3.4-4.8 olarak tespit edilmiştir (Hayoğlu vd., 2017). Başka bir çalışmada ise nişasta ve su oranı değiştirilerek sade lokum ve sultan lokumu üretilmiştir. Sade lokumların pH değeri 3.91-4.61 aralığında bulunurken sultan lokumu 5.10 pH değerinde bulunmuştur (Uslu vd., 2010).

Lokum örneklerine farklı çeşit turunçgil albedosu ilavesinin fiziksel yapıda değişikliğe neden olup olmadığını tespiti için yapılan yoğunluk analiz sonuçlarına göre en düşük yoğunluk değeri 1.00 g/mL ile MAL örneğinde en yüksek değer ise 1.33 g/mL ile TAL örneğinde tespit edilmiştir. Bütün örnekler kontrol grubundan farklı yoğunluk değerine sahip olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Benzer başka bir çalışmada lokumların yoğunlukları hesaplanmış ve sonuçlar 0.84-1.51 aralığında saptanmıştır (Uslu vd., 2010). Lokum örneklerinin renk analizleri *L**, *a** ve *b** değerlerinin belirlenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Rengin açık ya da koyu olma durumunu ifade eden *L** değeri KL örneğinde 61.19 ile en yüksek, TAL örneğinde 56.02 ile en düşük olarak tespit edilmiştir. Albedo ilavesi ile lokum örneklerinin kontrol lokumuna göre daha

koyu hale geldiği belirlenmiştir. Limon albedo tozu ilavesi lokum örnekleri içerisinde TAL, GAL ve MAL ürünlerine göre daha açık L^* değeri elde edilmesine neden olmuştur. Yapılan benzer çalışmalarda L^* değeri sultan lokumunda 87.37-90.87 (Çam, 2010), siyah havuç ilave edilen lokumlarda ise depolama süresinde 26.02-27.13 aralığında tespit edilmiştir (Özen vd., 2011). Bir diğer renk parametresi olan $+a^*$ değeri kırmızı ve $-a^*$ değeri yeşil rengi ifade etmektedir. Albedo ilaveli lokum örneklerinde a^* değeri 0.47-0.85 aralığında belirlenirken en yüksek a^* GAL lokumunda bulunmuştur. Sarı ($+b^*$) ve mavi ($-b^*$) rengin göstergesi olan b^* değeri 21.08 ile kontrol lokumunda en düşük 29.93 ile limon albedolu lokum örneğinde en yüksek olarak hesaplanmıştır. Limon albedosu katılan örneklerin sarı renk değerinde diğerlerine göre daha fazla artış olduğu saptanmıştır. Sultan lokumu üzerinde yapılan çalışmada a^* ve b^* değerleri sırası ile -0.10-0.42 ve 9.42-10.87 aralığında belirlenmiştir (Çam, 2010). Siyah havuç antosiyaninlerinin lokum içerisinde depolama süresindeki değişiminin belirlendiği başka bir çalışmada ise a^* değeri 4.8-6.4, b^* değeri ise -0.94-(-0.28) aralığında tespit edilmiştir (Özen vd., 2011). Bu çalışmalar göstermektedir ki lokum örneği içerisine ilave edilen bileşenlerin özelliğine göre lokum renk değişiminden etkilenmektedir. Farklı tür albedoların bisküvilere katıldığı başka bir çalışmada ise albedo değişiminin bisküvilere renk parametrelerinde değişiklik yaptığı görülmüştür. Çalışma kapsamında bisküvilere mandalina, limon, greyluft ve portakal albedoları ilave edilmiştir. En yüksek L^* değerinin 69.69 ile greyluft albedo ile hazırlanan örnekte, en düşük değer ise 66.96 değeri ile limon albedo ile hazırlanmış bisküvide olduğu görülmektedir. a^* değeri incelendiğinde portakal albedosu ilavesinin kırmızılığı artırdığı, mandalina albedosunun ise diğer albedolardan daha az kırmızı ürünler oluşturduğu görülmektedir. Sarı-yeşil renk skalası yorumlandığında en sarı örneğin portakal albedosu ile üretilmiş ürün olduğu, mandalina albedosu ile üretilmiş bisküvilere ise sarılık değerinin düşük olduğu tespit edilmiştir. (Demirel ve Demir, 2018).

Çalışmada kullanılan greyluft, limon, mandalina ve turunc albedo örneklerinin genel olarak farklı

su absorpsiyon özelliklerine sahip olduğu yapılan analiz sonucunda tespit edilmiştir (Çizelge 1). Bu noktada bileşiminde su bulunan ve tekstürel yapısı önemli olan lokum örneklerinde tekstür profil analizi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3'de gösterilmiştir. Turuncgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum örneklerinin sertlik değerleri incelendiğinde en yumuşak lokumun mandalina albedosu ile üretilen örnek olduğu, en sert lokumların ise kontrol lokumu ile TAL olduğu tespit edilmiştir. Lokum örneklerinde yapışkanlık değeri incelendiğinde MAL örneğinde sonuç alınmadığı, KL ve TAL örneklerinin GAL ve LAL örneklerine kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde düşük yapışkanlık değerlerine sahip olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Esneklik değeri ölçüm sonuçlarına göre mandalina albedosu ile üretilmiş lokum örneğinin en düşük esneklik değerine sahip olduğu ($P<0.05$), diğer gruplar arasında ise fark bulunmadığı saptanmıştır. Albedo tozları ilaveli lokumlar ve kontrol lokumunun kohezyon değerleri arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamış ($P>0.05$), albedo tozu ilavesi lokum örneklerinin kohezyon değerine etki etmemiştir. Sertlik değerinde olduğu gibi sakızimsılık değerinde de en düşük MAL olarak belirlenirken, KL ve GAL isimli lokumların diğer örnekler ile karşılaştırıldığında en yüksek sakızimsılık değerlerine sahip olduğu ve kendi aralarındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bulunmuştur. Çiğnenebilirlik değerleri incelendiğinde KL ve GAL örneklerinin kendi aralarında, TAL, LAL ve MAL lokumlarının ise kendi içlerinde benzer sonuçlara sahip olduğu tespit edilmiştir. En düşük elastikiyet değeri GAL örneğinde, en yüksek elastikiyet değeri ise MAL örneğinde belirlenmiştir. Çöven tozu, konsantresi ve ekstraktı ilavesinin sultan lokumu örneklerinde tekstürel açıdan oluşturduğu etkilerin belirlendiği çalışmada çiğnenebilirlik 161.85-1406.74, elastikiyet 0.40-0.75, esneklik 0.09-0.25, iç yapışkanlık 444-1869 ve sertlik değeri 1940-3427 aralığında tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda çöven çeşidinde yapılan değişiklik sultan lokumunun tekstür özelliklerini etkilediği belirlenmiştir (Çam, 2010). Benzer şekilde su ve nişasta değişiminin lokum örnekleri üzerinde oluşturduğu etkilerin belirlendiği çalışmada ise lokumların sertlik değeri 11.10-138.8, esneklik

değeri 0.390-0.828, kohezyon değeri 0.252-0.729, çignenebilirlik değeri 4.35-84.13 ve yapışkanlık değeri 0.39-1.48 aralığında saptanmıştır (Uslu vd.,

2010). Sonuçlar karşılaştırıldığında lokum yapısının ürün formülasyonuna katılan maddelerden etkilendiği görülmektedir.

Çizelge 3. Lokum örneklerinin tekstürel özellikleri

Table 3. Textural properties of delight samples

	Sertlik (N) <i>Hardness (N)</i>	Yapışkanlık (N) <i>Adhesiveness (N)</i>	Esneklik <i>Springiness</i>	Kohezyon <i>Cohesion</i>	Sakızimsılık <i>Gumminess</i>	Çignenebilirlik <i>Chewiness</i>	Elastikiyet <i>Flexibility</i>
KL	4511.94 ^a ±35.3	-30.82 ^c ±2.3	0.99 ^a ±0.0	0.85 ^a ±0.0	4073.71 ^a ±16.4	3667.94 ^a ±23.0	0.52 ^b ± 0.0
GAL	2913.17 ^c ±32.5	-1.68 ^a ±1.9	0.99 ^a ±0.0	0.82 ^a ±0.0	3817.37 ^a ±24.2	3797.23 ^a ±13.2	0.49 ^c ± 0.0
TAL	3822.59 ^b ±36.3	-33.02 ^c ±1.6	0.99 ^a ±0.0	0.83 ^a ±0.0	3189.53 ^b ±11.2	3172.03 ^b ±25.0	0.52 ^b ± 0.0
LAL	3523.12 ^b ±27.5	-11.06 ^b ±2.1	0.98 ^a ±0.0	0.82 ^a ±0.0	3211.55 ^b ±12.1	3205.82 ^b ±31.4	0.51 ^b ± 0.0
MAL	2481.99 ^c ±23.9	-	0.79 ^b ±0.0	0.89 ^a ±0.0	2205.11 ^c ±15.9	3244.88 ^b ±17.1	0.62 ^a ± 0.0

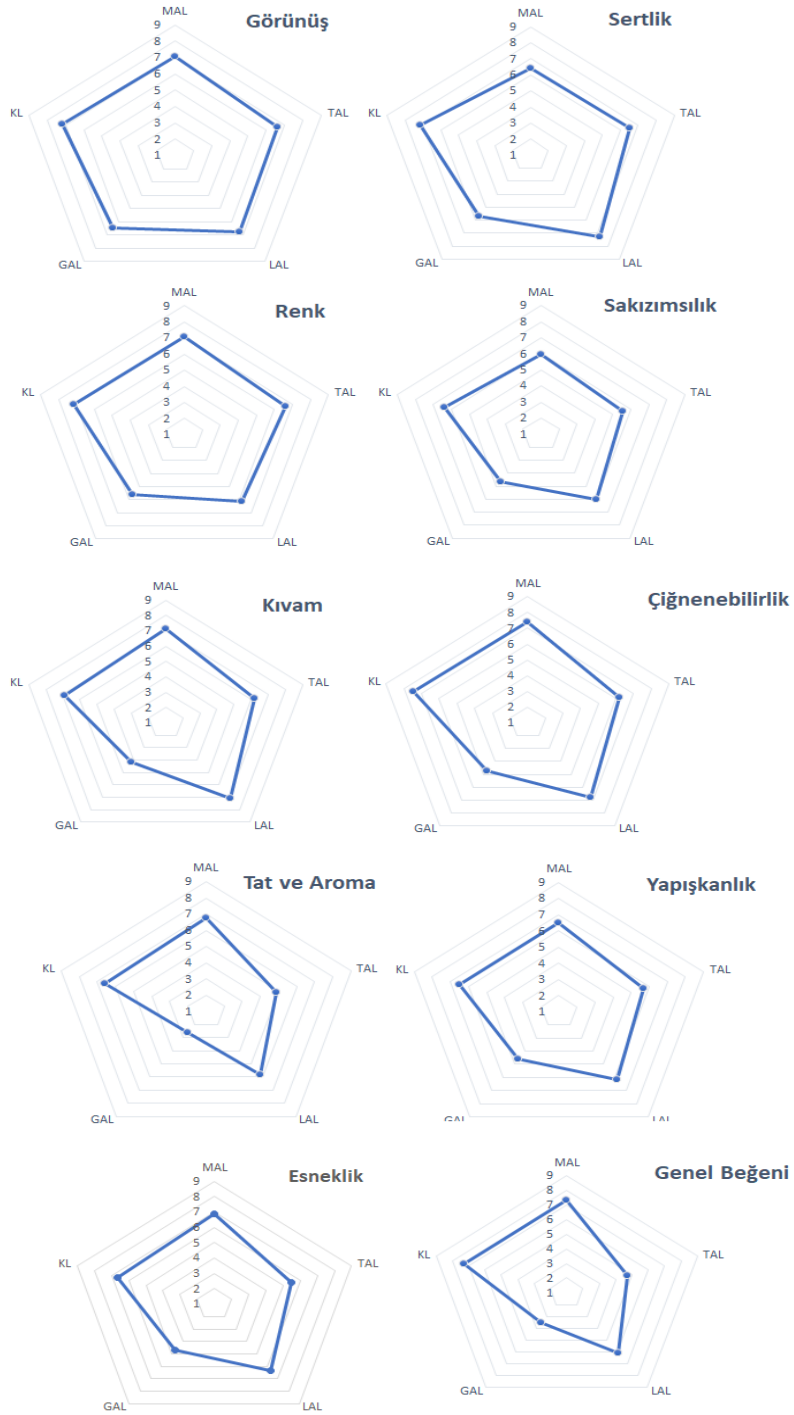
Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir. ortalama± standart sapma
GAL: Greyfurt albedosu ile üretilmiş lokum, TAL: Turunç albedosu ile üretilmiş lokum, LAL: Limon albedosu ile üretilmiş lokum, MAL: Mandalina albedosu ile üretilmiş lokum, KL: Kontrol lokumu

*Different letters on the same line indicate that the difference between the samples is statistically significant. mean±standard deviation
GAL: Delight with grapefruit albedo, TAL: Delight with citrus albedo, LAL: Delight with lemon albedo, MAL: Delight with mandarin albedo, KL: Control delight*

Lokum örneklerinin duyu analizi sonuçları Şekil 4'de verilmiştir. Genel olarak duyu değerlendirme başlıklarında GAL en az beğenilen, LAL sertlik ve sakızimsılık değerleri için MAL ise diğer parametrelerde en çok beğenilen lokum olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna en yakın duyu sonuçları mandalina ve limon albedosu ile hazırlanmış lokum örneklerinde belirlenirken greyfurt ve turunç albedosu ile üretilmiş lokumlar daha az tercih edilen örnekler olmuştur. Duyu sonuçlarının hepsini ağırlık vererek beraber değerlendirmemizi sağlayan Çok Kriterli Karar Verme Yöntemlerinden biri olan SAW yöntemine göre elde edilen alternatiflerin karşılaştırmalı matrisi ve elde edilen toplam puanların sıralaması ile oluşan önem derecesi sonuçları Çizelge 4'de ifade edilmiştir. SAW yöntemine göre önem derecesi en yüksek olan ürün en çok tercih edilen ürünü ifade etmektedir. Bu aşamada kıyaslama amaçlı kontrol grubu lokumunun duyu sonuçları da SAW yönteminde hesaplanmıştır ve en çok beğenilen ürün olarak tespit edilmiştir.

Fakat kontrol grubuna en yakın puanla MAL örneği albedo ile zenginleştirilmiş lokumlar arasında en çok beğenilen ürün olarak belirlenmiştir. 3. sırada limon albedosu ile üretilmiş LAL örneği, 4. sırada turunç albedolu lokum yer almıştır. En az beğenilen lokum ise greyfurt albedosu ile üretilen GAL örneği olarak saptanmıştır.

Çok Kriterli Karar Verme Yöntemleri gıda alanında benzer şekilde duyu değerlendirilmelerde kullanılmaktadır. Prebiyotik pudinglerde duyu analizlerinde optimum aroma (Gurmeric vd., 2013), sıcak çikolata örneklerinde optimum kakao (Dogan vd., 2015) ve optimum yağ içeriği (Dogan vd., 2016), diyet lif ilaveli tereyağı örneklerinde en beğenilen tereyağı (Göksel Saraç ve Dogan, 2016) ve süt bazlı bitkisel çay içeceğinin duyu değerlendirmesinde (Dogan vd., 2018) çok kriterli karar verme yöntemleri kullanılmıştır.



Şekil 4. Turunçgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum örneklerinin duyu analizi sonuçları
Figure 4. Sensory analysis results of enriched delight samples with citrus albedo

GAL: Greyfurt albedosu ile üretilmiş lokum, TAL: Turunç albedosu ile üretilmiş lokum, LAL: Limon albedosu ile üretilmiş lokum, MAL: Mandalina albedosu ile üretilmiş lokum, KL: Kontrol lokumu
GAL: Delight with grapefruit albedo, TAL: Delight with citrus albedo, LAL: Delight with lemon albedo, MAL: Delight with mandarin albedo, KL: Control delight

Çizelge 4. SAW tekniğinden elde edilen alternatiflerin kriterlerine ve genel puanlarına göre alternatiflerin karşılaştırmalı matrisi

Table 4. Pair-wise comparison matrix of alternatives based on the criteria and overall score of the alternatives obtained from SAW

Örnekler Samples	Normalize Karar Matrisi Normalized Comparison Matrix						Ağırlıklandırılmış Normalize Matris Weighted Normalized Matrix						
	GB	S	Ç	TA	Y	K	GB	S	Ç	TA	Y	K	Toplam
MAL	0.253	0.195	0.226	0.253	0.221	0.227	0.084	0.050	0.042	0.028	0.016	0.008	0.145
TAL	0.162	0.198	0.190	0.183	0.193	0.197	0.054	0.051	0.035	0.020	0.014	0.007	0.129
LAL	0.212	0.219	0.209	0.218	0.210	0.225	0.071	0.057	0.039	0.024	0.016	0.008	0.144
GAL	0.123	0.172	0.146	0.098	0.157	0.133	0.041	0.045	0.027	0.011	0.012	0.005	0.099
KL	0.251	0.216	0.229	0.248	0.219	0.218	0.084	0.056	0.042	0.028	0.016	0.008	0.150

GB: Genel beğeni, S: Sertlik, Ç:Çiğnenebilirlik, TA: Tat-aroma, Y: Yapışkanlık, K:Kıvam

GAL: Greyfurt albedosu ile üretilmiş lokum, TAL: Turunç albedosu ile üretilmiş lokum, LAL: Limon albedosu ile üretilmiş lokum, MAL: Mandalina albedosu ile üretilmiş lokum, KL: Kontrol lokumu

GB: Overall Acceptance, S:Hardness, Ç:Chewiness, TA:Taste-aroma, Y:Adhesiveness, K:Consistency

GAL: Delight with grapefruit albedo, TAL: Delight with citrus albedo, LAL: Delight with lemon albedo, MAL: Delight with mandarin albedo, KL: Control delight

SONUÇ

Endüstriyel narenciye yan ürünleri, pektin ve diyet lif üretimi için hammadde olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, bazı araştırmacılar farklı çalışmalarda turunçgil kabuklarının albedo kısımlarının gıda endüstrisinde et ve tahıl ürünlerinin üretimi sırasında kullanımını ile ilgili araştırmalarda bulunmuşlardır. Bu araştırmalar sonucunda narenciye atıklarının gıda ürünlerinin organoleptik ve teknolojik özelliklerini iyileştirdiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda da mandalina albedosunun diğer albedo tozlarına göre toplam diyet lif miktarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca limon ve mandalina albedolarının su absorpsiyon değeri, viskozite gelişimi sağlamanın yanı sıra pişmiş yiyecekler gibi tazeliğin korunmasını gerektiren ürünlerde de potansiyel uygulamalara sahip olabileceğini göstermiştir. Bunun yanı sıra turunç albedo tozu diğer örnekler göre daha düşük yağ absorpsiyonu değerine sahip olması nedeniyle kızarmış ürünler için potansiyel bir katkı maddesi olarak değerlendirilmiştir. Albedo tozlarının lokum örneklerine ilave edilmesi sonucunda farklı duyu ve tekstürel özelliklere sahip lokumlar elde edilmiştir. En çok beğenilen lokum örneği mandalina albedosu ile zenginleştirilen ürün olarak belirlenmiştir. Tekstür analizleri sonucunda albedo tozu ilaveli lokumların sertlik değerlerinin kontrol grubu lokumuna göre düşük olduğu ve daha sakızimsı ürünler elde edildiği görülmüştür. Albedo tozlarının su bağlama özelliği sayesinde

daha yumuşak lokumlar elde edilmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda lokum örneğinde farklı diyet lif örnekleri ve aroma verici bileşenler kullanılabilir. Farklı konsantrasyonlarda turunçgil albedoları lokuma ilave edilerek optimum ürün formülasyonu çalışılarak aroma profilleri tespit edilebilir. Ayrıca albedo ilaveli lokum örneklerinin depolama sürecindeki değişiklikleri incelenebilir. Bu çalışmada özellikleri belirlenen turunçgil albedoları farklı ürünlerin formülasyonlarına eklenerek son üründe oluşturduğu etkiler belirlenebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma kapsamında lokum üretiminde desteklerini esirgemeyen Gönbeler Lokum ve Şekerleme A.Ş.'ye teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Afshari, A., Mojahed, M., Yusuff, R. (2010). Simple additive weighting approach to personnel selection problem. *Int J Innov Manag Technol*, 1(5): 511-515. doi:10.7763/IJIMT.2010.V1.89
- Aleson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J. A., Kuri, V. (2005). Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 6(2): 247-255. doi: 10.1016/j.ifset.2005.01.002

- Anonim. (2013). Türk Gıda Kodeksi: Lokum Tebliği. Tebliğ No: 2013/55. 12 Eylül 2013 tarih ve 28763 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Analysis Chemists International. Washington DC, the USA.
- Çam, İ. B. (2010). Helva ve lokum üretimi amaçlı çöven konsantresi ve çöven tozu üretimi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 86 s.
- Castro-Vazquez, L., Alañón, M. E., Rodríguez-Robledo, V., Pérez-Coello, M. S., Hermosín-Gutierrez, I., Díaz-Maroto, M. C., Jordán, J., Galindo, M.F., Arroyo-Jiménez, M. del M. (2016). Bioactive flavonoids, antioxidant behaviour, and cytoprotective effects of dried grapefruit peels (*Citrus paradisi* Macf.). *Oxid Med Cell Longev.*(3):1-12. ID 8915729. doi:10.1155/2016/8915729
- Cemeroğlu, B. (1992). Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları. Ankara: Biltav Yayınları. 381s.
- Churchman, C. W., Ackoff, R. L. (1958). An approximate measure of value. *J Oper Res Soc Am.*2(2): 172-187. doi:10.1287/opre.2.2.172
- De Moraes Barros, H. R., De Castro Ferreira, T. A. P., Genovese, M. I. (2012). Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chem.* 134(4): 1892-1898. doi:10.1016/j.foodchem.2012.03.090
- Demirel, D., Demir, M.K. (2018). Farklı turuncgillerden elde edilen albedoların bisküvi üretiminde kullanımı. *Gıda.* 43(3): 501-511.
- Diker, O., Türker, N., Çetinkaya, A., & Kaya, B. (2017). Geleneksel türk tatlısı olarak lokum ve safranbolu lokumu. *J Tour Gastron Stud.* 5(3): 333-344. doi:10.21325/jotags.2017.135
- Dogan, M., Aktar, T., Toker, O. S., Tatlısu, N. B. (2015). Combination of the simple additive (SAW) approach and mixture design to determine optimum cocoa combination of the hot chocolate beverage. *Int J Food Prop.* 18(8): 1677-1692. doi:10.1080/10942912.2014.917662
- Dogan, M., Aslan, D., Aktar, T., Goksel Sarac, M. (2016). A methodology to evaluate the sensory properties of instant hot chocolate beverage with different fat contents: multi-criteria decision-making techniques approach. *Eur Food Res Technol.* 242(6): 953-966. doi:10.1007/s00217-015-2602-z
- Dogan, M., Aslan, D., Ozgur, A. (2018). Bioactive and sensorial characteristics of the milk based herbal (*Rumex crispus* L.) tea: multi-criteria decision making approach. *J Food Meas Charact.* 12(1): 535-544. doi:10.1007/s11694-017-9665-4
- Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J. A. (2004). Lemon albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages. *Meat Sci.* 67: 7-13. doi:10.1016/j.meatsci.2003.08.017
- Fishman, M. L., Walker, P. N., Chau, H. K., Hotchkiss, A. T. (2003). Flash extraction of pectin from orange albedo by steam injection. *Biomacromolecules.* 4(4): 880-889. doi:10.1021/bm020122e
- Göksel Saraç, M., Dogan, M. (2016). Incorporation of dietary fiber concentrates from fruit and vegetable wastes in butter: effects on physicochemical, textural, and sensory properties. *Eur Food Res Technol.* 242(8): 1331-1342. doi:10.1007/s00217-016-2637-9
- Gurmeric, V. E., Dogan, M., Toker, O. S., Senyigit, E., Ersoz, N. B. (2013). Application of different multi-criteria decision techniques to determine optimum flavour of prebiotic pudding based on sensory analyses. *Food Bioprocess Technol.* 6(10): 2844-2859. doi:10.1007/s11947-012-0972-9
- Hayoğlu, İ., Başığit, B., Dirik, A. (2017). Tane nar ilaveli lokum üretimi ve vakum ambalajlamanın raf ömrü üzerine etkisi. *Gıda.* 42 (5): 553-560. doi:10.15237/gida.gd17023
- Jiménez-Escrig, A., Sánchez-Muniz, F. J. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutr Res.* 20(4): 585-598. doi:10.1016/S0271-5317(00)00149-4
- Lario, Y., Sendra, E., García-Pérez, J., Fuentes, C., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J., Pérez-

- Alvarez, J. A. (2004). Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 5(1): 113-117. doi:10.1016/j.ifset.2003.08.001
- Lliso, I., Tadeo, F. R., Phinney, B. S., Wilkerson, C. G., Talón, M. (2007). Protein changes in the albedo of citrus fruits on postharvesting storage. *J Agric Food Chem.* 55(22): 9047-9053. doi:10.1021/jf071198a
- López-Vargas, J. H., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2013). Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) co-products. *Food Res Int.* 51(2): 756-763. doi:10.1016/j.foodres.2013.01.055
- Zain, M.N. F., Yusop, S.M., Ahmad, I. (2014). Preparation and characterization of cellulose and nanocellulose from pomelo (*Citrus grandis*) albedo. *J Nutr Food Sci.* 5 (1): 1-5. doi:10.4172/2155-9600.1000334
- Nassar, A. G., AbdEl-Hamied, A.A., El-Naggar, E.A. (2008). Effect of citrus by-products flour incorporation on chemical, rheological and organoleptic characteristics of biscuits. *Sci Technol.* 4 (5): 612-616.
- Özen, G., Akbulut, M., Artik, N. (2011). Stability of black carrot anthocyanins in the Turkish delight (Lokum) during storage. *J Food Process Eng.* 34: 1282-1297. doi:10.1111/j.1745-4530.2009.00412.x
- Perçin, S., Çakır, S. (2016). Çok kriterli karar verme teknikleriyle lojistik firmalarında performans ölçümü. *Ege Akad Bakis.* 13(4): 449-459. doi:10.21121/eab.2013418079
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bashir, N., Nazir, F., Ahmad Nayik, G. (2018). Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *J Saudi Society Agr Sci.* 17(4): 351-358. doi:10.1016/j.jssas.2016.07.006
- Santhalakshmy, S., Don Bosco, S. J., Francis, S., Sabeena, M. (2015). Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. *Powder Tech.* 274: 37-43. doi:10.1016/j.powtec.2015.01.016
- Sarıçoban, C., Özalp, B., Yılmaz, M. T., Özen, G., Karakaya, M., Akbulut, M. (2008). Characteristics of meat emulsion systems as influenced by different levels of lemon albedo. *Meat Sci.* 80(3): 599-606. doi:10.1016/j.meatsci.2008.02.008
- Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition.* 34: 29-46 doi:10.1016/j.nut.2016.09.006
- Smeriglio, A., Cornara, L., Denaro, M., Barreca, D., Burlando, B., Xiao, J., Trombetta, D. (2019). Antioxidant and cytoprotective activities of an ancient Mediterranean citrus (*Citrus lumia Risso*) albedo extract: Microscopic observations and polyphenol characterization. *Food Chem.* 279: 347-355. doi:10.1016/j.foodchem.2018.11.138
- Tatar, F. (2012). Balık (*Engraulis Encrasicolus* L.) Yağının Mikroenkapsülasyonunda Hemiselülozun Kaplayıcı Madde Olarak Kullanımı. On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye, 120s.
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 6(1): 29-35. doi:10.1016/j.ifset.2004.11.005
- Tzeng, G.-H., Huang, J.-J. (2011). Simple additive weighting method. In: *Multiple attribute decision making, methods and applications.* CRC Press. London, New York, s.55-60.
- Uslu, M. K., Erbaş, M., Turhan, İ., Tetik, N. (2010). Nişasta miktarının ve çöven suyu ilavesinin lokumların bazı özellikleri üzerine etkileri. *Gıda,* 35(5): 331-337.

BAHARAT EKSTRAKTLARIYLA ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ SİRKELİ İÇECEK ÜRETİMİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Esra Terakye, Merve Gözde Bayrakdar, Senem Suna*, Ömer Utku Çopur
Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Görükle-Bursa, Türkiye

Geliş / Received: 28.05.2019; Kabul / Accepted: 20.10.2019; Online baskı / Published online: 15.11.2019

Terakye, E., Bayrakdar, M. G., Suna, S., Çopur, Ö. U. (2019). Baharat ekstraktlarıyla zenginleştirilmiş sirkeli içecek üretimi üzerine bir araştırma. *GIDA* (2019) 44 (6) 1136-1147 doi: 10.15237/gida.GD19085.

Terakye, E., Bayrakdar, M. G., Suna, S., Çopur, Ö. U. (2019). A research on the production of vinegar beverage enriched with spice extracts. *GIDA* (2019) 44 (6) 1136-1147 doi: 10.15237/gida.GD19085.

ÖZ

Bu çalışmada, zencefil, karanfil, tarçın, karabiber, zerdeçal ve kakule ile hazırlanan baharat kombinasyonları (K, 5B) (%5), kaynar suda 10 dk demlenmiş ve elde edilen ekstraktlara elma sirkesi (1.2mL/100 mL) ile sitrik asit (0.1g/100 mL) eklenerek tüketime hazır, yeni bir fonksiyonel içeceğin üretilmesi amaçlanmıştır. Sirkeli içecek çeşitleri, sakkaroz (6.78 g/100 mL), stevia (0.025 g/100 mL), aspartam (0.008 g/100 mL) ve asesülfam-K (0.008 g/100 mL) ilavesi ile üretilmiştir. Ürünler 200 mL'lik cam şişelere doldurularak, 98°C'de 15 dk pastörize edilmiştir. Örneklerin antioksidan kapasitesi *in vitro* sindirim sürecinde incelendiğinde, en yüksek değerler stevia eklenen K kodlu örnekten elde edildiği görülmüştür (FRAP, CUPRAC, DPPH yöntemleri ile sırasıyla 640.05±7.26, 559.77±9.26 ve 523.46±16.95µmol troloks/mL suda çözünür kuru madde). Tüm örnekler renk, görünüş, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik kriterlerine göre duyuşsal olarak beğenilmiş olup, sirkenin çeşitli baharat ekstraktları ve tatlandırıcılar ile birlikte kullanılması, alternatif bir soğuk içeceğin üretimine olanak sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Elma sirkesi, stevia, antioksidan kapasite, biyoalınabilirlik

A RESEACRH ON THE PRODUCTION OF VINEGAR BEVERAGE ENRICHED WITH SPICE EXTRACTS

ABSTRACT

In this study, combinations of ginger, clove, cinnamon, black pepper, turmeric and cardamom (K, 5B) (5%) were brewed in boiling water for 10 min, then apple cider vinegar (1.2mL/100 mL) and citric acid (0.1g/100 mL) was added to extracts for processing a ready to drink, new functional beverage. Beverages were produced by the addition of sucrose (6.78g/100 mL), stevia (0.025g/100mL), aspartame (0.008g/100 mL) and acesulfame-K (0.008g/100 mL). Products were filled into 200 mL glass bottles and pasteurized at 98°C for 15 min. Antioxidant capacity was examined during *in vitro* digestion, and the highest value was obtained from K coded stevia added sample (640.05±7.26, 559.77±9.26, 523.46±16.95 µmol trolox/mL soluble solid content respectively from FRAP, CUPRAC, DPPH methods). All samples were sensorially accepted, according to color, appearance, odor, taste, overall acceptability criterias and the usage of vinegar with various spice extracts and sweeteners enabled the production of an alternative cold drink.

Keywords: Apple cider vinegar, stevia, antioxidant capacity, bioaccessibility

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉ syonak@uludag.edu.tr,

☎ (+90) 224 294 1492

☎ (+90) 224 294 1402

GİRİŞ

Günümüzde toplumun beslenme konusunda bilinçlenmesine bağlı olarak fonksiyonel içeceklerle olan ilgi giderek artmakta ve bu artış içecek sektöründe doğal ürünleri ön plana çıkarmaktadır. Yeni ve yüksek katma değere sahip içeceklerin üretilebilmesi de bu anlamda önemli rol oynamaktadır. Toplumumuzda en çok tüketilen içeceklerden biri olan siyah çaya alternatif ürünlere bakıldığında ise, en fazla tüketimin baharat çaylarında olduğu bilinmektedir (Karakaya ve El, 2006; İşleten vd., 2007). Bu baharatlar arasında zencefil, karanfil, tarçın karabiber, zerdeçal ve kakule önem taşımaktadır. Zencefil (*Zingiber officinale*), çeşitli polifenol bileşiklerini içermekte (6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol ve türevleri) ve yüksek antioksidan aktivite, antibakteriyel, antifungal ve antienflamatuvar etki göstermektedir (Riyazi vd., 2007). Karanfile (*Eugenia caryophyllata*) koku ve lezzetini veren uçucu yağ bileşeni "eugenol" olup bu bileşenin güçlü antioksidatif etki gösterdiği bildirilmiştir (Lean ve Mohamed, 1999). Tarçın (*Cinnamomum casia*) ile ilgili yapılan bir çalışmada, tarçının antipiretik, antialerjik, antiseptik ve kolesterol düşürücü özellikte olduğu belirtilmiştir (Kurokawa vd., 1998). Karabiberin (*Piper nigrum*) içeriğinde piperidin etken maddesiyle birlikte, A, E ve K vitaminleri ile çinko, demir, fosfor gibi mineraller bulunmaktadır (Butt vd., 2013). Zerdeçal (*Curcuma longa*) baharatında kuvvetli antioksidan özelliğe sahip kurkumin etken maddesi bulunmakla birlikte, zerdeçalın lipit oksidasyonunu önlemede E vitamininden daha etkili olduğu bildirilmiştir (Jayaprakasha vd., 2005). Kakule (*Elettaria cardomomum*) oldukça aromatik bir kokuya sahip olup, yapısında uçucu yağ, sabit yağ ve reçine bulunmaktadır. Kakulenin ağız kokusunu giderici, bulantı ve kusmayı kesici, sara (epilepsi) hastalığında tedaviyi destekleyici özellikleri olduğu bildirilmiştir (Karaca vd., 2005).

Sirke, alkol fermantasyonu ve asetik asit fermantasyonu olmak üzere iki aşama sonucunda oluşan fermente bir üründür. Asetik asit fermantasyonuna bağlı olarak keskin bir lezzet ve aromaya sahiptir (Budak 2010). Bu nedenle sirkelerde bulunan en önemli organik asit, asidik gıdalarda tampon olarak da görev yapan asetik

asittir (García Romero vd., 1993). Bileşiminde yer alan biyoaktif maddelere bağlı olarak, sirkenin antitümör, antimikrobiyal ve antienfektif etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Johnston ve Gaas 2006). Sirkenin insan sağlığı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda, elma sirkesinin antitümör, kolesterol düzenleyici ve karaciğer yağlanmasını azaltıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (Abe vd., 2007, Budak ve ark 2011)

Gıdaların tatlandırılması aşamasında en çok kullanılan bileşen, "çay şekeri" veya "beyaz şeker" olarak da bilinen sakkarozdur. Ülkemizde şeker pancarından elde edildiği için "pancar şekeri" olarak da adlandırılmaktadır. Sakkaroz yüksek enerji verme, kıvam arttırma ve kolay sindirilme nitelikleri yönüyle önem taşımaktadır (Morlock vd., 2014). Bununla birlikte sindirim sonrasında hızlı bir şekilde kana karışabildiği için, yüksek miktarlarda tüketildiğinde obezite, diyabet gibi rahatsızlıklara neden olabilmektedir (Boileau vd., 2012). Yapılan bir çalışmada, sakkaroz ile beslenen deneklerin kan şekerinin yükselmesini takiben trigliseridlerin yükselerek insülin direncine neden olduğu bildirilmiştir (Boileau vd., 2012). Gıda ürünlerinin tatlandırılmasında ayrıca *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisinin yapraklarından elde edilen ve steviozid ekstraktının genel adı olan "Stevia" kullanılmaktadır (Anton vd., 2010). Stevianın, sakkarozdan ortalama 300 kat daha tatlı olduğu ve düşük kalori içeriği nedeniyle kan şekeri seviyesinde değişikliğe sebep olmadığı bilinmektedir (Boileau vd., 2012; Yang vd., 2014; İnanç ve Çınar, 2009; Gantait vd., 2015; Periche vd., 2015). Stevia ayrıca içeriğinde bulunan antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösteren karotenoid ve fenolik bileşikler sayesinde, doğal antioksidan madde görevi görmektedir (Hajihashemi ve Geuns, 2013). Bunun yanında, yüksek ısıya dayanıklı olması, pH ve pişirme stabilitesinin yüksek olması, ağızda rahatsız edici metalimsi tat bırakmaması stevianın tatlandırıcı olarak tercih edilmesini sağlamaktadır (Soliman, 1997). Bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, stevia çeşitli gıdaların (şekerleme, fırıncılık ürünleri, reçel, sıcak ve soğuk içecek) üretiminde kullanılabilir (Nunes vd., 2007; Kinghorn vd., 2001). Farklı gıdaların üretiminde ayrıca aspartam (E951) ve asesülfam-

K (E950) gibi sentetik tatlandırıcılar da kullanılmaktadır. Aspartam ve asesülfam-K besleyici değeri olmayan tatlandırıcılar (non-nutritive sweeteners) sınıfında yer almakta olup, bu nedenle diyabet hastaları, diyet yapan bireyler ve kronik hastalar tarafından tercih edilmektedir (Gültekin vd., 2017; Özdemir vd., 2014). Yapılan bir çalışmada, minimum dozda aspartam ve asesülfam-K verilen deneklerde, fazla kilo artışı olmadığı ancak insülin tolerans değerlerinde artış olduğu bildirilmiştir (Frankenfeld vd., 2015; Palmnas vd., 2014). Bununla birlikte ağızda metalimsi ve acımsı tat bırakmaları gibi olumsuz özellikleri bulunmaktadır (Pol vd., 2007). İnsan vücudunda reaktif oksijen türlerinin oluşumuna bağlı olarak bazı hasarlar meydana gelebilmektedir. Oluşabilecek bu hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak için vücutta “antioksidan” olarak adlandırılan ve savunma yapan bileşikler mevcuttur (Şener ve Yeğen Berrak, 2009). Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek koruyucu görev üstlenmektedir (Sen vd., 2010). Ayrıca bağışıklık ve sinir sisteminde görülebilecek zayıflamalar ve kalp damar hastalıklarının oluşumunu azaltmaya yönelik etkilerinin bulunduğu bildirilmiştir (Diplock, 1991). Bununla birlikte antioksidanların gastrointestinal sistem boyunca gösterdiği değişimlerin izlenebilmesi için biyoalınabilirliklerinin ortaya konulması önem taşımaktadır. Biyoyararlılık, gıdanın sindirilmesi sonucunda metabolizmaya alınan bileşiklerin fizyolojik ve metabolik fonksiyonlarında kullanılan veya daha sonra kullanılmak üzere depolanan kısmı olarak tanımlanmaktadır (House, 1999). Biyoalınabilirlik ise, bir element ya da maddenin ayrışabilen kısımlarının vücut tarafından absorbe edilmesidir. Bu konuda yapılan araştırmalar gıdalarla alınan besin öğelerinin tamamının biyolojik olarak kullanılmadığını ortaya koymuştur. Biyoalınabilirlik hem beslenme modelinden, hem de onunla ilişkili faktörlerden etkilenmekte olup, gıdanın fiziksel özelliği, kimyasal bileşimi ve bireysel sindirim kapasitesi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Sandström, 2001). Yapılan çalışmalarda stevia'nın doğal bir tatlandırıcı olarak kullanıldığı ve *Stevia rebaudiana* yapraklarının antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir. (Anton vd., 2010;

Tadhani vd., 2007). Ancak mevcut literatürde baharatların soğuk çay/içecek formunda kullanılması ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlı olup, alternatif soğuk içecekler üzerine yapılan araştırmalarda da, özellikle elma sirkesi ve tatlandırıcı içeren örneklerle rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, sağlık üzerine yararlı etkileri olan sirkenin içecek üretiminde kullanılması ile baharat çaylarına alternatif her mevsim tüketilebilen ve katma değeri yüksek yeni bir fonksiyonel ürün elde edilmesi, ürün formülasyonlarında doğal ve yapay çeşitli tatlandırıcıların kullanımıyla şeker oranının düşürülmesi ve üretilen sirkeli içeceklerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ile birlikte biyoalınabilir antioksidan kapasitenin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada; infüzyonların hazırlanmasında zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10) (5B: Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon), zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10) (K: Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon) baharatları, içeceklerin tat ve lezzet dengesinin oluşturulması için de sakkaroz, stevia, aspartam ve asesülfam-K ile sitrik asit ve elma sirkesi kullanılmıştır. Söz konusu ürünler yerel marketlerden temin edilmiştir.

Yöntem

Baharatların en iyi ekstrakte olduğu parametreler ve hazırlama metodları, farklı çeşitlere göre değişim göstermektedir. Genel olarak infüzyon (demleme) ve dekoksiyon (kaynatma) yöntemleri uygulanmaktadır (Rodrigues vd., 2016). Günlük tüketimde kullanılan poşet çaylarda ise, poşet içerisinde yer alan baharat/baharat karışımları kaynar su ile demlenmektedir. Bu yaygın uygulama örneğinden hareketle, çalışmada baharatların ekstraksiyonunda tüketiciler tarafından genelde tercih edilen bu yöntem kullanılmıştır. Ön duyusal değerlendirme sonucuna bağlı olarak belirlenen baharatlar; “5B (Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon)”: Zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9),

karabiber (%1), zerdeçal (%10) ve “K (Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon)”: Zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10) olmak üzere iki farklı kombinasyonda kullanılmıştır. Belirlenen 5B ve K kombinasyonları, 5 g/100mL oranında hazırlanarak kaynar suda (100°C) 10 dakika boyunca demlenmiştir. Ardından süzme ve soğumaya bırakma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen baharat ekstraktlarının her birine elma sirkesi (1.2 mL/100 mL) ve sitrik asit (0.1 g/100 mL) eklenmiştir. “5B-Ş ve K-Ş”, “5B-ST ve K-ST”, “5B-SU ve K-SU” olarak kodlanan içecekler sırasıyla sakkaroz (6.78 g/100 mL), stevia (0.025 g/100 mL) ve aspartam (0.008 g/100 mL) ile asesülfam-K (0.008 g/100 mL) ilavesi ile aynı ürünün farklı tatlandırıcı eklenmiş çeşitleri olarak üretilmiştir. Üretilen içecekler formülasyonlarında şeker, stevia ve aspartam ile asesülfam-K kullanılmasına bağlı olarak baharat kombinasyonlarının (5B ve K) yanına sırasıyla “Ş (şeker ilaveli içecek)”, “ST (stevia ilaveli içecek)” ve “SU (sunî tatlandırıcı eklenen: aspartam ve asesülfam-K ilaveli içecek)” ifadelerinin eklenmesi ile kodlanmıştır. Hazırlanan ürünler 200 mL’lik cam şişelere doldurularak, 98 °C’ de 15 dakika pastörize edilmiştir (Richardson, 2004). Üretilen içecekler analiz edilene kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Analiz Yöntemleri

Fiziksel ve Kimyasal analizler

İçeceklerin suda çözünür kuru madde miktarı (briks), dijital refraktometre (KEM, RA-500 model), pH değerleri “Mettler Toledo Sevencompact pH/lon” model pHmetre ile oda sıcaklığında ölçülmüştür. Toplam asitlik tayini potansiyometrik yöntemle yapılmış, sonuçlar “asetik asit” cinsinden (g/100mL) ifade edilmiştir (Gerbi vd., 1999). Renk değerleri, Konica Minolta CR-5 (Japonya) model kromametre ile ölçülmüş ve sonuçlar L*: ışık aydınlık değeri; 0 (geçirgenlik yok) ve 100 (tamamen geçirgen); a*: kırmızılık (-a, yeşillik); b*: sarılık (-b, mavilik) ve Kroma (C*): 0 (mat)-60 (parlak) olarak verilmiştir (Mujumdar, 2000).

Kimyasal Ekstraksiyon ve *In vitro* sindirim prosedürü

Sirkeli içecek örneklerinde hem kimyasal hem de fizyolojik ekstraksiyon (*in vitro* gastrointestinal sindirim) yapılmıştır (Vitali vd., 2009). Kimyasal ekstraksiyon için, 2mL örnek üzerine 20 mL ekstraksiyon çözeltisi (HCl/metanol/su sırasıyla hacimsel olarak 1:80:10 oranlarında) eklenmiştir. Örnekler 20°C’de 2 saat çalkalama (Mermert WNB 22 çalkalamalı su banyosu) işlemine tabi tutulmuştur. Süre sonunda 3500 rpm’de 10 dk süre ile santrifüjleme (Sigma 3K30) yapılmıştır. Santrifüjden alınan supernatant kaba filtre kağıdından süzölmüş ve kimyasal ekstrakt olarak analizlerde kullanılmıştır.

In vitro gastrointestinal sindirim (fizyolojik ekstraksiyon) için, laboratuvar koşulunda yapay mide ve bağırsak ortamı hazırlanmıştır. 10 mL saf su ve 0.5 mL pepsin enzimi (20 g/L, 0.1 mol/L HCL) 1 mL örnek üzerine eklenmiştir. 5 mol/L HCL kullanılarak ortam pH değeri 2’ye ayarlanmıştır. Bu karışım, 37°C’de 1 saat su banyosunda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 1M NaHCO₃ eklenerek ortamın pH değeri 7.2’ye getirilmiştir. 2.5 mL safra/pankreatin solüsyonundan (2 g/L pankreatin ve 12 g/L safra tuzu) daha sonra da 2.5 mL NaCl/KCl (120 mmol/L NaCl ve 5 mmol/L KCl) çözeltilerinden ortama ilave edilerek 37°C’de 2 saat bekletilmiştir. Ekstraktlar, 3500 rpm’de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen kimyasal ve fizyolojik ekstraktlarda DPPH, FRAP ve CUPRAC yöntemleri ile toplam antioksidan kapasite tayini yapılmış, ayrıca antioksidan kapasitenin biyoalınabilirlik oranı (%), fizyolojik ekstraktın antioksidan kapasitesinin kimyasal ekstraktın antioksidan kapasitesine oranlanmasıyla hesaplanmıştır (Biyoalınabilirlik: (fizyolojik ekstraktın antioksidan kapasitesi / kimyasal ekstraktın antioksidan kapasitesi) X 100) (Vitali vd., 2009). Tüm analizler üçer tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesi

Sirkeli içeceklere ait toplam antioksidan kapasite tayini, kimyasal ve fizyolojik ekstraktlarda, DPPH (2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Katalinic vd., 2006), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant

Power) (Benzie ve Strain, 1996) ve CUPRAC (Copper(II) Reducing Antioxidant Capacity) yöntemleri ile yapılmıştır (Apak vd., 2006).

DPPH yönteminde, 0.1 mL ekstrakt üzerine 3.9 mL DPPH (6×10^{-5} M) eklenmiş ve 30 dakika karanlık ortamda bekletildikten sonra 515 nm'de okuma yapılmıştır. Kalibrasyon standardının hazırlanması için 0.0256 g (1×10^{-3} M) troloks tartılmış ve saf metanol ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Sonuçlar kalibrasyon grafiği ($R^2=0.9929$) yardımıyla "µmol troloks/mL şçkm" olarak hesaplanmıştır.

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

FRAP yönteminde günlük olarak hazırlanan FRAP çözeltisi kullanılmıştır. Bu çözelti: 25 mL 0.3 mol/L asetat tampon çözeltisi (pH 3.6), 2.5 mL 20 mmol/L $\text{Fe}_3\text{Cl} \times 6\text{H}_2\text{O}$ ve 2.5 mL 10 mmol/L TPTZ çözeltisi (40 mmol/L HCl ile hazırlanan) karıştırılarak hazırlanmıştır. Analiz yapılırken FRAP çözeltisinden (37°C 'de inkübe edilmiş) 3 mL alınarak 0.3 mL saf su ve 0.1 mL ekstrakt ile karıştırılmıştır. Örnekler daha sonra 37°C 'de 30 dakika inkübe edilmiş ve örneklerin absorbansları 595 nm'de okunmuştur. Antioksidan kapasite değeri, kalibrasyon grafiği ($R^2=0.9987$) yardımıyla "µmol troloks/mL şçkm" olarak verilmiştir.

CUPRAC yönteminde, 1 mL Cu(II) klorür çözeltisi (1×10^{-2} M), 1 mL neokuproin alkoldeki çözeltisi (7.5×10^{-3} M) ve 1 mL amonyum asetat (1M) çözeltileri karıştırılarak CUPRAC çözeltisi hazırlanmıştır. 0.1 mL ekstrakt, ve 0.9 mL saf su üzerine 3 mL CUPRAC çözeltisi eklenerek 30 dakika sonunda 450 nm' de okuma yapılmıştır. Sonuçlar kalibrasyon grafiği ($R^2=0.9993$) yardımıyla "µmol troloks/mL şçkm" olarak hesaplanmıştır.

Duyusal analiz

Sirkeli içecek örnekleri renk, görünüş, koku, tat ve genel beğeni kriterleri üzerinden değerlendirilmiştir. Puanlama, 1 (hiç beğenmedim) ile 9 (çok beğendim) değerleri arasında hedonik skalaya göre yapılmıştır. Ürünler rastgele dört haneli sayılarla kodlanmış ve duyuusal

analiz, Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyeleri ve öğrencilerinden oluşturulmuş 10 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2011).

İstatistiksel analiz

Araştırmada saptanan veriler 3 tekerrürlü olarak, tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılığın hesaplanmasında ise %5 olasılık düzeyinde LSD testi kullanılmıştır. Hesaplamalar JMP 6.0 (SAS, NC. 27513) istatistik programı ile yapılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Sirkeli içeceklere ait bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge1'de gösterilmiştir. Sirkeli içeceklerin briks ($^\circ$) değerleri 5B-Ş, K-Ş, 5B-ST, K-ST, 5B-SU ve K-SU için sırasıyla 7.12 g/100g, 7.12 g/100g, 0.26 g/100g, 0.24 g/100g, 0.26 g/100g ve 0.27 g/100g olarak belirlenmiştir ($P < 0.05$). Bu değerler, üretim sırasında farklı tatlandırıcıların kullanımı sonucu beklenen değerlerde bulunmuştur. Briks değeri yüksek olan sakkarozun kullanıldığı 5B-Ş ve K-Ş örnekleri en yüksek briks değerine sahip olup, örneklerin briks değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Sirkeli içeceklerin pH değeri 2.88-2.92 aralığında saptanmıştır ($P < 0.05$). Bu sonuçlar, İncedayı (2017) tarafından gazlı ıhlamur çayı içeceğinde saptanan pH değeri (3.23) ve Çopur vd. (2016)'nin yapmış oldukları benzer bir çalışmada bitki çayı içeceği için belirlenen 3.11 pH değerinden daha düşük olarak saptanmıştır. 5B-ST ve K-ST örneklerinin en yüksek pH değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda stevia ilave edilen ürünlerin pH üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Guggisberg vd., 2011).

Örneklerin toplam asitlik değerleri, asetik asit cinsinden 1.21-1.35 g/100mL aralığında bulunmuştur ($P < 0.05$). Benzer çalışmalardan elde edilen toplam asitlik değerleri sitrik asit cinsinden sırasıyla; 0.22 g/100mL (İncedayı, 2017), 0.17 g/100mL (Suna vd., 2018) ve 0.06 g/100mL (Suna, 2017) olarak bildirilmiştir. Formülasyonda

farklı organik asitlerin tercih edilmesi ve kullanılan asit miktarlarının benzer olmaması nedeniyle,

toplam asitlik sonuçları literatürle farklılık göstermektedir.

Çizelge 1. Sirkeli içeceklere ait bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Table 1. Physical and chemical analysis of vinegar beverages

Sirkeli içecekler <i>Vinegar beverages</i>	Suda çözümlü kuru madde (briks ^o) (g/100g) <i>Brix</i>	Toplam asitlik (g/100mL)* <i>Total acidity*</i>	pH
5B-ST	0.26±0.01 ^{bc}	1.35±0.05 ^a	2.91±0.02 ^{ab}
5B-SU	0.26±0.00 ^{bc}	1.28±0.02 ^c	2.88±0.01 ^c
5B-Ş	7.12±0.02 ^a	1.24±0.00 ^d	2.88±0.01 ^c
K-ST	0.24±0.00 ^c	1.32±0.01 ^b	2.92±0.00 ^a
K-SU	0.27±0.02 ^b	1.27±0.02 ^c	2.89±0.00 ^{bc}
K-Ş	7.12±0.00 ^a	1.21±0.01 ^e	2.89±0.00 ^{bc}

5B (Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), K (Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), ST: stevia ilaveli içecek, SU: aspartam ve asesülfam-K ilaveli içecek, Ş:şeker ilaveli içecek, Sütun boyunca verilen üst simgeler örnekler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir, ($P < 0.05$). *asetik asit cinsinden

5B (Five types of spice combinations): Ginger (20%), cinnamon (60%), cloves (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), K (Six types of spice combinations): Ginger (10%), cardamom (10%), cinnamon (60%), clove (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), ST: Stevia added beverage, SU: Aspartame and acesulfame-K added beverage, Ş: Sucrose added beverage. Different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$). *acetic acid

Sirkeli içeceklere ait renk analizi sonuçları Çizelge 2'de gösterilmiştir. En yüksek L* (parlaklık), a* (kırmızılık), b* (sarılık) ve kroma (C*) değerleri 5B-Ş'de bulunmuştur. Sirkeli içeceklerin L* değerleri 93.34±0.02 ile 94.57±0.04, a* değerleri -0.31±0.00 ile 0.08±0.03 ve b* değerleri 3.87±0.04 ile 8.11±0.01 aralığında saptanmış ve istatistiksel

olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Örneklerin renk yoğunluğunu algılamada kullanılan kroma (C*) değeri farklı formülasyonlardan etkilenmiş olup 3.88±0.04 ile 8.11±0.12 aralığında değişim göstermiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 2. İçeceklere ait renk analizi sonuçları

Table 2. Color values of vinegar beverages

Sirkeli İçecekler <i>Vinegar beverages</i>	Renk <i>Color</i>			Kroma (C*) <i>Chroma</i>
	L*	a*	b*	
5B-ST	93.34±0.02 ^{bc}	-0.26±0.00 ^d	4.50±0.01 ^b	4.50±0.00 ^b
5B-SU	94.26±0.17 ^{bc}	-0.20±0.01 ^b	4.56±0.05 ^b	4.57±0.06 ^b
5B-Ş	94.57±0.04 ^a	-0.08±0.03 ^a	8.11±0.01 ^a	8.11±0.12 ^a
K-ST	94.33±0.03 ^{bc}	-0.24±0.00 ^{cd}	3.87±0.04 ^d	3.88±0.04 ^{cd}
K-SU	94.32±0.05 ^{bc}	-0.22±0.01 ^{bc}	4.05±0.05 ^c	4.06±0.05 ^c
K-Ş	94.46±0.05 ^{ab}	-0.31±0.00 ^e	3.97±0.08 ^{cd}	3.98±0.09 ^{cd}

5B (Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), K (Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), ST: stevia ilaveli içecek, SU: aspartam ve asesülfam-K ilaveli içecek, Ş:şeker ilaveli içecek, Sütun boyunca verilen üst simgeler örnekler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir, ($P < 0.05$).

5B (Five types of spice combinations): Ginger (20%), cinnamon (60%), cloves (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), K (Six types of spice combinations): Ginger (10%), cardamom (10%), cinnamon (60%), clove (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), ST: Stevia added beverage, SU: Aspartame and acesulfame-K added beverage, Ş: Sucrose added beverage. Different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Baharat çaylarının en önemli özellikleri arasında antioksidan aktivite göstermeleri yer almaktadır (Almajano vd., 2008). Üretilen içeceklerin antioksidan kapasitesinin, eklenen elma sirkesi ile organik asitten kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Antioksidan kapasitenin

saptanmasında, her bir analiz metodunun ölçüm mekanizmasının farklı olduğu göz önünde bulundurulmuş ve bu nedenle FRAP, DPPH ve CUPRAC yöntemleri kullanılmıştır (Pekal vd., 2012). Toplam antioksidan kapasite ve biyoalınabilirlik sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Sirkeli içeceklere ait toplam antioksidan kapasite sonuçları
Table 3. Total antioxidant capacity results of vinegar beverages

Sirkeli içecekler <i>Vinegar beverages</i>	FRAP	FRAP	FRAP
	Kimyasal ekstrakt (μmol troloks/mL şçkm) <i>Chemical extract (μmol trolox/mL ssc*)</i>	Fizyolojik ekstrakt (μmol troloks/mL şçkm) <i>Physiological extract (μmol trolox/mL ssc)</i>	Biyolojik erişilebilirlik (%)** <i>Bioaccessibility (%)</i>
5B-ST	587.73 \pm 2.74 ^c	334.05 \pm 7.26 ^c	56.83 \pm 1.04 ^e
5B-SU	540.17 \pm 5.49 ^d	341.98 \pm 4.75 ^c	63.31 \pm 0.45 ^c
5B-Ş	11.33 \pm 0.33 ^e	8.69 \pm 0.26 ^d	76.74 \pm 0.27 ^a
K-ST	1104.59 \pm 2.74 ^a	640.05 \pm 7.26 ^a	57.94 \pm 0.55 ^{de}
K-SU	1047.52 \pm 2.74 ^b	614.68 \pm 9.90 ^b	58.67 \pm 0.84 ^d
K-Ş	14.84 \pm 0.07 ^e	10.13 \pm 0.215 ^d	68.26 \pm 0.69 ^b
Sirkeli içecekler <i>Vinegar beverages</i>	CUPRAC	CUPRAC	CUPRAC
	Kimyasal ekstrakt(μmol troloks/mL şçkm) <i>Chemical extract (μmol trolox/mL ssc)</i>	Fizyolojik ekstrakt (μmol troloks/mL şçkm) <i>Physiological extract (μmol trolox/mL ssc)</i>	Biyolojik erişilebilirlik (%)** <i>Bioaccessibility (%)</i>
5B-ST	4467.04 \pm 19.22 ^b	453.17 \pm 25.63 ^b	10.14 \pm 0.55 ^d
5B-SU	2876.29 \pm 16.95 ^d	427.28 \pm 11.09 ^b	14.85 \pm 0.30 ^c
5B-Ş	38.82 \pm 0.65 ^e	15.05 \pm 0.47 ^c	38.78 \pm 0.72 ^a
K-ST	4910.97 \pm 11.09 ^a	523.46 \pm 16.95 ^a	10.65 \pm 0.32 ^d
K-SU	3031.67 \pm 6.40 ^c	508.66 \pm 35.67 ^a	16.77 \pm 1.15 ^b
K-Ş	53.96 \pm 0.36 ^e	20.66 \pm 0.66 ^c	38.29 \pm 0.96 ^a
Sirkeli içecekler <i>Vinegar beverages</i>	DPPH	DPPH	DPPH
	Kimyasal ekstrakt (μmol troloks/mL şçkm) <i>Chemical extract (μmol trolox/mL ssc)</i>	Fizyolojik ekstrakt (μmol troloks/mL şçkm) <i>Physiological extract (μmol trolox/mL ssc)</i>	Biyolojik erişilebilirlik (%)** <i>Bioaccessibility (%)</i>
5B-ST	923.65 \pm 17.50 ^b	541.580 \pm 3.50 ^b	58.64 \pm 0.98 ^a
5B-SU	757.88 \pm 0.01 ^c	383.89 \pm 9.26 ^d	50.65 \pm 1.22 ^{cd}
5B-Ş	21.46 \pm 0.35 ^d	10.64 \pm 0.98 ^e	49.54 \pm 3.76 ^{cd}
K-ST	986.32 \pm 71.84 ^a	559.77 \pm 9.26 ^a	56.92 \pm 3.60 ^{ab}
K-SU	899.39 \pm 3.50 ^b	422.30 \pm 3.50 ^c	46.95 \pm 0.33 ^d
K-Ş	23.38 \pm 2.10 ^d	12.47 \pm 0.34 ^e	53.52 \pm 3.36 ^{bc}

5B (Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), K (Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), ST: stevia ilaveli içecek, SU: aspartam ve asesülfam-K ilaveli içecek, Ş:şeker ilaveli içecek, Sütun boyunca verilen üst simgeler örnekler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir, ($P < 0.05$). * suda çözünür kuru madde **Biyolojik erişilebilirlik: (Fizyolojik ekstraktın antioksidan kapasitesi / Kimyasal ekstraktın antioksidan kapasitesi) X 100
5B (Five types of spice combinations): Ginger (20%), cinnamon (60%), cloves (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), K (Six types of spice combinations): Ginger (10%), cardamom (10%), cinnamon (60%), clove (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), ST: Stevia added beverage, SU: Aspartame and acesulfame-K added beverage, Ş: Sucrose added beverage. Different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$). *soluble solid content, **Bioaccessibility: total antioxidant capacity of the (physiological extract/chemical extract) X 100.

Joubert ve Beer (2012), DPPH yöntemi ile rooibos infüzyonunun antioksidan kapasite değerini 1777 ± 114 μmol troloks/g sçkm olarak bildirmiştir. Bu sonuç, 5B-ST ile K-ST ürünlerinin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Benzer bir çalışmada ise, soğuk çay ve yeşil çayın antioksidan kapasiteleri FRAP yöntemi ile ölçülmüş ve değerler sırasıyla; 7.43 ve 18.00 $\text{mmol Fe}^{2+}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (Pellegrini vd., 2003). Yıldız (2007) *Tilia rubra* türü ıhlamur bitkisinin %70 metanollü ekstraktının antioksidan kapasite değerini CUPRAC yöntemi ile analiz etmiş ve $660 \mu\text{mol}$ troloks/g olarak bildirmiştir. Diğer bir çalışmada ise, yeşil kahve içeceğinde toplam antioksidan kapasite değeri FRAP yöntemi ile 938-1190 μmol troloks/100mL aralığında bulunmuştur (Tamer, 2018).

In vitro gastrointestinal sindirim öncesi ve sonrasında elde edilen ekstraktlarda (sırasıyla kimyasal ve fizyolojik ekstraksiyon) en yüksek toplam antioksidan kapasite değeri tüm yöntemlerde K-ST (Stevia ilaveli altı baharat kullanılan içecek) içeceğinden elde edilmiştir (Çizelge 3). Bu içeceğin fizyolojik ekstraktının antioksidan kapasitesi FRAP, DPPH ve CUPRAC yöntemlerinde sırasıyla 640.05 ± 7.26 μmol troloks/mL sçkm , 559.77 ± 9.26 μmol troloks/mL sçkm ve 523.46 ± 16.95 μmol troloks/mL sçkm olarak belirlenmiştir. Stevia bitkisinin yaprakları steviol glikozitlerin yanı sıra, yüksek miktarda antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşikler, askorbik asit ve karotenoidleri içermektedir. Bununla birlikte *Stevia rebaudiana* yaprak ekstresi doğal bir antioksidan kaynağı olarak kullanım potansiyeline sahip olup, özellikle sulu ekstraktlarının, gıdalarda kullanılan katkı maddelerinin zararlı etkilerini azaltabileceği bildirilmiştir (Barba vd., 2014; Belda Galbis vd., 2014; Criado vd., 2014).

Gastrointestinal sindirim sonrasında meydana gelen yapısal değişiklikler, antioksidan aktivitede görülen kayıplarla sonuçlanabilmektedir (Rodriguez Roque vd., 2013). Antioksidan kapasitenin biyoalınabilirlik oranı en yüksek FRAP yöntemi ile %56.83-%76.74 aralığında bulunmuştur. Bu değerler DPPH ve CUPRAC yöntemlerinde sırasıyla %46.95-58.64 ve %10.14-38.78 olarak saptanmıştır. Bununla birlikte yeşil

kahve içeceği üzerine yapılan bir çalışmada antioksidan aktivite gösteren bileşenlerin biyoalınabilirlik değerleri FRAP ve DPPH yöntemlerinde sırasıyla %63.19-79.42 ve %53.55-60.85 aralığında değişmiştir (Tamer 2018). Bu durum Suna vd. (2018)'nin gazlı funda içeceği üzerine yapmış oldukları çalışmada elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiştir.

Henning vd. (2014) yeşil çay örneğinde yapmış oldukları çalışmada, *in vitro* simüle edilmiş sindirim sonrası elde edilen ekstraktların TEAC antioksidan kapasite değerlerinin sindirim öncesine göre %21.5 oranında azaldığını bildirmiştir. Fermente sebze sularında antioksidan kapasitenin biyoalınabilirlik değerinin ölçüldüğü diğer bir çalışmada ise, CUPRAC yöntemi ile %16-36 oranında azalma olduğu bildirilmiştir (Değirmencioglu vd., 2016). Çeşitli bileşenlerin biyolojik olarak alınabilirlik değerlerinin, gıdanın yapısında bulunan biyomoleküller, kimyasal maddeler arasındaki interaksiyonlar ve işleme koşulları gibi çeşitli faktörlerden etkilendiği bildirilmiştir (Parada ve Aguilera, 2007).

Sirkeli içeceklere ait duyu analizi sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Örneklerin renk, görünüş, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik kriterlerine göre yapılan duyu analizi sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Tüm örnekler panelistler tarafından genel olarak kabul edilir niteliklerde bulunmuştur. Sirkeli içecekler renk, görünüş, koku ve tat kriterlerince değerlendirildiğinde ise, K-ST kodlu içeceğin daha az beğenildiği görülmüştür. Bu sonucun, stevianın ısı işlem sonrası oluşturduğu köpüksü yapıdan kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada kullanılan baharatların antioksidan kapasitelerinin yüksek olduğu bilinmekle birlikte, bu baharatların baharat çayı/soğuk çay üretiminde fazla kullanılmadığı görülmektedir. Ayrıca, diğer bir materyal olan ve yağ yakma özelliği ile birlikte sağlık üzerine olumlu etkileri bulunan sirke, çoğunlukla yemek ve salatalarda tüketilmektedir. Bu nedenle, sirkenin soğuk içecek formunda tüketilmesine imkan sağlayacak içeceklerin mevcut olmaması ve sirke-baharat ekstraktı tat uyumlarının gözlemlenmiş olması çalışmanın kurgulanmasında önemli rol oynamıştır.

Çizelge 4. Duyusal değerlendirme sonuçları
Table 4. Sensorial properties of vinegar beverages

Sirkeli içecekler <i>Vinegar beverages</i>	Renk <i>Color</i>	Görünüş <i>Appearance</i>	Koku <i>Odor</i>	Tat <i>Taste</i>	Genel kabul edilebilirlik <i>Overall acceptability</i>
5B-ST	8.60±0.51 ^a	7.20±0.78 ^b	7.40±0.52 ^a	8.70±0.58 ^a	8.20±0.42 ^{ab}
5B-SU	8.20±0.13 ^b	8.60±0.51 ^a	7.40±0.51 ^a	8.50±0.52 ^b	8.50±0.52 ^a
5B-Ş	8.20±0.91 ^b	7.60±0.69 ^b	6.20±0.82 ^d	8.60±0.61 ^b	7.30±0.67 ^b
K-ST	7.70±0.77 ^c	7.10±0.87 ^c	6.40±0.85 ^c	7.30±0.81 ^c	7.20±0.78 ^c
K-SU	8.00±0.66 ^b	8.70±0.94 ^a	6.80±0.61 ^b	8.00±0.66 ^c	8.70±0.73 ^a
K-Ş	8.70±0.72 ^a	7.60±0.56 ^b	7.40±0.51 ^a	7.10±0.56 ^d	7.40±0.51 ^b

5B (Beş çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%20), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), K (Karışım, altı çeşit baharat kullanılan kombinasyon): Zencefil (%10), kakule (%10), tarçın (%60), karanfil (%9), karabiber (%1), zerdeçal (%10), ST: stevia ilaveli içecek, SU: aspartam ve asesülfam-K ilaveli içecek, Ş:şeker ilaveli içecek, Sütun boyunca verilen üst simgeler örnekler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir, ($P < 0.05$).

5B (Five types of spice combinations): Ginger (20%), cinnamon (60%), cloves (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), K (Six types of spice combinations): Ginger (10%), cardamom (10%), cinnamon (60%), clove (9%), black pepper (1%), turmeric (10%), ST: Stevia added beverage, SU: Aspartame and acesulfame-K added beverage, Ş: Sucrose added beverage. Different letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$).

Sonuç olarak bu çalışmada, söz konusu materyallerin sirkeli içecek üretiminde kullanılması ile tüketime hazır, doğal kaynaklı ve çeşitlendirilebilir fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte sirkeli içeceklerin antioksidan kapasitesinin ve bu özellikteki bileşenlerin biyoalınabilirliklerinin yüksek olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abe, K., Kushibiki, T., Matsue, H. (2007). Generation of antitumor active neutral medium sized α -glycan in apple vinegar fermentation. *Biosci Biotechnol Biochem*, 71:2124-2129.
- Almajano, M.P., Carbo, R., Lopez Jimenez, J.A., Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem*, 108:55-63.
- Altuğ, T., Elmacı, Y. (2011). *Gıdalarda duysal değerlendirme*. 2. Baskı. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 134 s. ISBN: 978994-456-60-87.
- Anton, S., Martin, C., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W., Geiselman, P., Williamson, D. (2010). Stevie in foods, aspartame and sucrose consumption, satiety, and postprandial effects on glucose and insulin levels, *Appetite*, 55(1): 37-43.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E., Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of

some herbal teas. *Int J Food Sci Nutr*, 57(5-6):292-304.

Barba, F.J., Esteve, M.J., Frigola, A. (2014). Bioactive components from leaf vegetable products. *Stud Nat Prod Chem*, 41(11):321-346.

Belda Galbis, C.M., Pina Perez, M.C., Espinosa, J., Marco Celdran, A., Martinez, A., Rodrigo, D. (2014). Use of the modified gompertz equation to assess the Stevia rebaudiana bertonii antilisterial kinetics. *Food Microbiology*, 38:56-61.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239:70-76.

Boileau, A., Fry, J., Murray, R. (2012). A new calorie-free sugar substitute from the leaf of the stevia plant arrives in the UK. *Nutr Bull*, 37(1):47-50.

Budak, H.N., Kumbul Doguc, D., Savaş, C.M., Seydim, A.C., Kök Taş, T., Ciriş, I.M. Güzel Seydim, Z.B. (2011). Effects of Apple Cider Vinegars Produced with Different Techniques on Blood Lipids in High Cholesterol Fed Rats. *J Agric Food Chem*, 59:6638-6644.

Butt, M.S., Pasha, I., Sultan, M.T., Randhawa, M.A., Saeed, F., Ahmed, W. (2013). Black Pepper and Health Claims: A Comprehensive Treatise. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53:875-886.

- Criado, M.N., Barba, F.J., Frigola, A., Rodrigo, D. (2014). Effect of Stevia rebaudiana on oxidative enzyme activity and its correlation with antioxidant capacity and bioactive compounds. *Food Bioprocess Tech*, 7(5):1518-1525.
- Çopur, O., Tamer, C., Suna, S., Özcan Sinir, G., İncedayı, B. (2016). Evaluation of Physicochemical Properties, Bioaccessibility of Phenolics and Antioxidant Activity of Linden Herbal Tea Beverage. 16th International Nutrition and Diagnostics Conference (INDC), 3–6 October, Prague, Czech Republic, 27 p.
- Değirmenciöglü, N., Gürbüz, O., Şahan, Y. (2016). The monitoring, via an in vitro digestion system of the bioactive content of vegetable juice fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *J Food Process Pres*, 40:798-811.
- Diplock, A. T. (1991). Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: An Overview. *Am J Clin Nutr*, 53(1):189-193.
- Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J Sci Food Agric*, 80:1925-1941.
- Frankenfeld, C.L., Sikaroodi, M., Lamb, E., Shoemaker, S., Gillevet, P.M. (2015). High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Ann Epidemiol*, 25(10): 736-42.
- Gantait, S., Das, A., Mandal, N. (2015). Stevia: A comprehensive review on ethnopharmacological properties and in vitro regeneration june. *Sugar Tech*, 17(2):95-106.
- García Romero, E., Sanchez Munoz, G., Martin Alvarez, P. J., Cabezudo Ibanez, M.D. (1993). Determination of organic acids in grape musts, wines and vinegars by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 65:111-117.
- Gerbi, V., Zeppa, G., Beltramo, R., Carnacini, A., Antonelli, A. (1999). Characterization of white vinegars of different sources with artificial neural networks. *J Sci Food Agric*, 78:417-422.
- Gıda raporu (2017). Sakkaroz, Glukoz, Fruktoz. http://www.gidaraporu.com/sucroz-glucoz-fruktoz-dogal-sekerler_g.htm (Erişim tarihi: 08 Ocak 2019).
- Guggisberg, D., Piccinali, P., Schreirer, K. (2011). Effects of sugar substitution with Stevia, Actilight™ and Stevia combinations or Palatinose™ on rheological and sensory characteristics of low-fat and whole milk set yoghurt. *Int Dairy J*, 21:636-644.
- Gültekin, F., Öner, M.E., Savaş, H.B., Doğan, B. (2017). Tatlandırıcılar, Glikoz İntoleransı ve Mikrobiyota. *J Biotechnol and Strategic Health Res*, 1:34-38.
- Hajihashemi, S., Geuns, J.M.C. (2013). Radical scavenging activity of steviol glycosides, steviol glucuronide, hydroxytyrosol, metformin, aspirin and leaf extract of Stevia rebaudiana. *Free Radicals and Antioxidants*, 3:34-41.
- Henning, S. M., Zhang, Y., Rontoyanni, V.G., Huang, J., Lee, R., Trang, A., Nuernberger, G., Heber, D. (2014). Variability in the antioxidant activity of dietary supplements from pomegranate, milk thistle, green tea, grape seed, goji, and acai: effects of in vitro digestion. *J Agric Food Chem*, 62:4313-4321.
- House, W.A. (1999). Trace element bioavailability as exemplified by iron and zinc. *Field Crops Res*, 60:115-141.
- İnanç, A.L., Çınar, İ. (2009). Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevya. *GIDA*, 34(6):411-415.
- İncedayı, B. (2017). Gazlı ıhlamur çayı içeceğinin bazı özelliklerinin araştırılması. *GIDA*, 42(4):355-363, doi: 10.15237/gida.GD17025.
- İşleten, M., Yüceer, Y.K., Yılmaz, E., Mendeş, M. (2007). Consumer Attitudes and Factors Affecting Buying Decision for Functional Foods. *GIDA*, 32(1), 25-32.
- Joubert, E., de Beer, D. (2012). Phenolic content and antioxidant activity of rooibos food ingredient extracts, *J Food Compos Anal*, 27:45-51.
- Jayaprakasha, G.K., Jagan, L., Sakariah, K.K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci Tech*, 16:533–548.

- Johnston, C.S., Gaas, C. A., (2006). Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. *Med Gen Med*, 8:61-72.
- Karaca, M., Tütüncü, M., Him, M., Akkan, H.A., Özbek, H. (2005). Kakule (*Elettaria cardamom* L.) Uçucu Yağ Ekstresinin Antienflamatuvar Aktivitesinin Sıçanlar Üzerinde Araştırılması. *YYÜ Vet. Fak Derg*, 16(2):27-30.
- Karakaya, S., El, S.N. (2006). Total Phenols and Antioxidant Activities of Some Herbal Teas and In Vitro Bioavailability of Black Tea Polyphenols. *GOU Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1):1-8.
- Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T., Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*, 94:550-557.
- Kinghorn, A.D., Wu, C.D., Soejarto, D.D. (2001). Stevioside. In: *Alternative Sweeteners*, 3rd edition (revised and expanded), O'Brien Nabors, L., Gelardi, R.C., (eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 166-183.
- Kurokawa, M., Kumeda, C.A., Yamamura, J., Kamiyama, T., Shiraki, K. (1998). Antipyretic activity of cinnamyl derivatives and related compounds in influenza virus infected mice. *Eur J Pharmacol*, 348:45-51.
- Lean, L.P., Mohamed S. (1999). Antioxidative and Antimycotic Effect of Turmeric, Lemon Grass, Betel Leaves, Clove, Black Papper Leaves and Garcinia Atriviridis on Butter Cakes. *J Sci Food Agric*, 79:1817-1822.
- Morlock, G.E., Meyer, S., Zimmermann, B.F., Roussel, J.M. (2014). High-performance thin-layer chromatography analysis of steviolglycosides in stevia formulations and sugar-free food products, and benchmarking with (ultra) high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1350:102-111.
- Mujumdar, A.S. (2000). Mujumdar's practical guide to industrial drying. Exergex Corporation, Quebec, Canada. 20.
- Nunes, A.P.M., Ferreira-Machado, S.C., Nunes, R.M., Nantas, F.J.S., de Mattas, J.C.P., Caldeira-de-Araujo, A. (2007). Analysis of genotoxic potentiality of stevioside by comet assay. *Food Chem Toxicol*, 45(4):662-666.
- Özdemir, D., Başer, H., Çakır, B. (2014). Tatlandırıcılar. *Türkiye Klinikleri J Endocrin*, 9(2):60-70.
- Palmnas, M.S., Cowan, T.E., Bomhof, M.R., Su, J., Reimer, R.A., Vogel, H.J., Hittel, D.S., Shearer, J. (2014). Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS One*, 14, doi: 10.1371/journal.pone.0109841.
- Parada, J., Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J Food Sci*, 72:21-32.
- Pekal, A., Drózd, P., Biesaga, M., Pyrzyńska, K. (2012). Screening of the antioxidant properties and polyphenol composition of aromatised green tea infusions. *J Sci Food Agric*, 92:2244-2249.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salavatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr*, 133:2812-2819.
- Periche, A., Castelló, M.L., Heredia, A., Escriche, I. (2015). Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in Stevia rebaudiana leaves. *Food Chem*, 172:1-6.
- Pol, J., Hohnova, B., Hyötyläinen, T. (2007). Characterisation of stevia rebaudiana by comprehensive twodimensional liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1150(1-2): 85-92.
- Richardson, P. (2004). *Improving the thermal processing of foods*. Woodhead Publishing, Cambridge, 507 p.
- Riyazi, A., Hensel, A., Bauer, K., Geissler, N., Schaaf, S., Verspohl, E.J. (2007). The Effect of the Volatile Oil from Ginger Rhizomes (*Zingiber officinale*), its Fractions and Isolated Compounds on the 5-HT₃ Receptor Complex and the Serotonergic System of the Rat Ileum. *Planta Med*, 73:355-362.

- Rodrigues, M.J., Neves, V., Martins, A., Rauter, A.P., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Varela, J., Barreira, I., Custódio, L. (2016). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory properties of *Limonium algarvense* flowers' infusions and decoctions: A comparison with green tea (*Camellia sinensis*). *Food Chem*, 200:322-329.
- Rodríguez-Roque, M.J., Rojas-Graü, M.A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O. (2013). Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chem*, 136:206-212.
- Sandström, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr*, 85(2):181-185.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *Int J Pharm*, 3(1):91-100.
- Soliman, M.D.E. (1997). Stevia plant, natural concentrated sweeteners. Egyptian Society of Sugar Technologists, 28th Annual Conference, 2-4 December, Egypt.
- Suna, S. (2017). Investigating the physicochemical properties and *in vitro* bioaccessibility of phenolics and antioxidant capacity of rooibos herbal tea beverage. *GIDA*, 42(6):682-692, doi: 10.15237/gida.GD17050.
- Suna, S., Özcan Sınır, G., Tamer, C.E., İncedayı, B., Çopur, Ö.U. (2018). Antioxidant Capacity and Physicochemical Characteristics of Carbonated Erica Arborea Tea Beverage. *Beverages*, 4:50, doi:10.3390/beverages4030050
- Şener, G., Yeğen B.Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim*, 22:5-13.
- Tadhani, M.B., Patel, V.H., Subhash, R. (2007). *In vitro* antioxidant activities of stevia rebaudiana leaves and callus. *J Food Compos Anal*, 20(3-4):323-329.
- Tamer, C.E. (2018). A research on the production of green coffee beverage fortified with apricot pulp. *GIDA*, 43(5):800-811, doi: 10.15237/gida.GD18065.
- Vitali, D., Dragojević, I.V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chem*, 114:1462-1469.
- Yang, Y.H., Huang, S.Z., Han, Y.L., Yuan, H.Y., Gu, C.S., Zhao, Y.H. (2014). Base substitution mutations in uridinediphosphate-dependent glycosyltransferase 76G1 gene of *Stevia rebaudiana* causes the low levels of rebaudioside a mutations in UGT76G1, a key gene of steviol glycosides synthesis. *Plant Physiol Bioch*, 80:220-225.
- Yıldız, L. (2007). Bazı Bitki Örneklerinde Antioksidan Kapasitenin Spektrofotometrik ve Kromatografik Tayini. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 130 s.

ÇORUM YÖRESİ BALLARININ FENOLİK MADDE İÇERİKLERİ İLE RENK VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Nihal Güzel, K. Savaş Bahçeci*

Hitit Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Çorum, Türkiye

Geliş / Received: 20.06.2019; Kabul / Accepted: 05.10.2019; Online baskı / Published online 15.11.2019

Güzel, N., Bahçeci, K.S. (2019). Çorum yöresi ballarının fenolik madde içerikleri ile renk ve antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişki. GIDA (2019) 44 (6) 1148-1160 doi: 10.15237/gida.GD19095

*Güzel, N., Bahçeci, K.S. (20**). Correlation of phenolic content of honeys from Çorum region with colour and antioxidant capacity. GIDA (2019) 44 (6) 1148-1160 doi: 10.15237/gida.GD19095*

ÖZ

Bu çalışmanın amacı Çorum yöresi ballarının toplam fenolik madde ve flavonoid içerikleri ile renk ve antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesidir. Bu amaçla 47 bal örneğinin toplam fenolik içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemi, flavonoid içeriği ise alüminyum klorür yöntemiyle analiz edilmiştir. Antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için iki farklı yöntem (ABTS, DPPH) kullanılmış ve antioksidan kapasitenin ABTS yöntemi için 0.466-1.353 mM TEAC, DPPH yöntemi için 0.170-0.605 mM TEAC aralığında değiştiği belirlenmiştir. Toplam fenolik ve toplam flavonoid içerikleri sırasıyla 243-546 mg GAE/kg ve 30.8-87.0 mg CE/kg aralığında değişmektedir. Bal örneklerinin CIE renk parametreleri olan L^* , a^* ve b^* değerleri sırasıyla 32.02-41.48, 0.20-6.82 ve 10.76-20.58 aralığında belirlenmiştir. Pfund değerleri 1.0-111.2 aralığında olup bal örneklerinin çoğu beyaz ile açık amber arasında renge sahiptir. Örneklerin fenolik madde içerikleri ile renk değerleri ve antioksidan kapasiteleri arasında güçlü korelasyonlar olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bal, antioksidan kapasite, fenolik bileşenler, flavonoidler, renk, Çorum

CORRELATION OF PHENOLIC CONTENT OF HONEYS FROM ÇORUM REGION WITH COLOUR AND ANTIOXIDANT CAPACITY

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the correlations between total phenolics, total flavonoids and colour and antioxidant capacities of honeys from Çorum region. Forty seven honey samples were analyzed for their total phenolic and flavonoid contents by using Folin-Ciocalteu reagent and aluminum chloride method. ABTS and DPPH assays were used for determination of antioxidant capacity, and the values were varied between 0.466-1.353 mM TEAC for ABTS, and 0.170-0.605 mM TEAC for DPPH. Total phenolics and flavonoids were ranged from 243 to 546 mg GAE/kg and from 30.8 to 87.0 mg CE/kg, respectively. The CIE colour parameters were determined between 32.02-41.48, 0.20-6.82 and 10.76-20.58 for L^* , a^* and b^* , respectively. Pfund values were in the range of 1.0-111.2, and most of the honeys had colour ranged from white to light amber. Strong correlations were observed between phenolic contents, colour and antioxidant capacities of the samples.

Keywords: Honey, antioxidant capacity, phenolic compounds, flavonoids, colour, Çorum

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: ksavasbahceci@hitit.edu.tr

☎: (+90) 364 227 4537

☎: (+90) 364 227 4535

GİRİŞ

Bilinen en eski ve geleneksel tatlandırıcı olan bal; doğal, işlenmemiş ve kolay sindirilebilir bir besin olarak yüzyıllardır diyetimizin önemli bir parçası olmuştur (Feas vd., 2010; Escuredo vd., 2013). Beslenme fizyolojisi bakımından yararları yanında balın yara ve yanıkların iyileştirilmesi ve ağız sağlığı için de uygun bir alternatif olduğu pek çok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Lay-Flurrie, 2008; Burlando ve Cornara, 2013; Governa vd., 2019). Bunun yanında çeşitli araştırmalarda balın antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra çeşitli kanserlerin tedavisindeki potansiyel rollerine de vurgu yapılmaktadır (Bardy vd., 2008; Subramanian vd., 2016; Battino vd., 2019).

Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne göre bal, "bitki nektarlarının, bitkilerin canlı kısımlarının salgılarının veya bitkilerin canlı kısımları üzerinde yaşayan bitki emici böceklerin salgılarının bal arısı tarafından toplandıktan sonra kendine özgü maddelerle birleştirilerek değişikliğe uğrattığı, su içeriğini düşürdüğü ve petekte depolayarak olgunlaştırdığı doğal ürün" olarak tanımlanır. Bu doğal ürün esas olarak başta fruktoz ve glukoz olmak üzere maltoz, sukroz ve diğer oligo- ve polisakkarikleri içeren farklı karbonhidratların konsantre bir sulu çözeltisi konumundadır (Escuredo vd., 2013). Söz konusu karbonhidratlar balın kuru ağırlığının yaklaşık %95'ini oluştururlar ve bal tüketiminden sonraki sindirim sürecinde hızlı bir şekilde kana karışarak insan vücudu tarafından temelde enerji ihtiyacı için kullanılırlar (Bogdanov vd., 2008). Bununla birlikte balın yaklaşık 200 farklı minör bileşene sahip olduğu ve beslenme fizyolojisi açısından esasında bu bileşenlerin oldukça önemli rol oynadıkları belirtilmektedir (Ferreira vd., 2009; Manzanares vd., 2014). Nitekim bu minör bileşenler, balın doğal bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesine ciddi katkılar sunar. Bu anlamda katalaz, glukoz oksidaz ve peroksidaz gibi enzimler yanında askorbik asit, α -tokoferol, karotenoidler, amino asitler, proteinler, organik asitler ve Maillard reaksiyon ürünleri balda bulunan antioksidan etkili bileşenler olarak ortaya çıkmaktadır. Bunların yanı sıra balın antioksidan kapasitesine katkı sağlayan esas unsurun ise

flavonoidler ve fenolik asitler içerisinde yer alan 150'den fazla bileşenden oluşan fenolik madde grubu olduğu ifade edilmektedir (Ferreira vd., 2009).

Balın sahip olduğu fenolik maddelerin miktarı ve bileşimi floral kaynaklara bağlı olarak değişim gösterir (Rababah vd., 2014). Bunun yanı sıra bal, aynı tür arılar ya da aynı tür nektardan elde edilse dahi arıların yaşı, toprak ve iklim koşulları gibi farklılıklar bileşim üzerine etkilidir (Sant'ana vd., 2014). Bu anlamda, balın bileşiminde yer alan fenolik bileşenlerin hem serbest radikalleri sönmelendirme kapasitelerinden dolayı antioksidan etki göstermeleri hem de floral markör olarak kullanılmalarından dolayı üzerinde önemle durulmaktadır. Balın fenolik bileşimi kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda vanilik asit, kafeik asit, şiringik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, kuersetin, kamferol, miristein, elajik asit, galangin, 3-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, 4-hidroksibenzoik asit, rosmarinik asit, gallik asit, hesperetin ve benzoik asit gibi fenolik asitler ve flavonoidleri içeren fenolik bileşenlerin tespit edildiği görülmektedir (da Silva vd., 2016). Balın fenolik bileşenleri içerisinde en önemli fonksiyonel grubu flavonoidler oluşturmakta olup, toplam antioksidan kapasite üzerine de son derece etkilidirler (Alvarez-Suarez vd., 2012; Perez-Perez vd., 2013). Bu anlamda flavonoid yapılarıdaki hidroksil gruplarının sayısı ve konumu ile flavonoid molekülünün glikolizasyonu antioksidan kapasite açısından belirleyici rol oynar (da Silva vd., 2016). Yapılan bazı çalışmalarda toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri olarak monofloral çiçek ballarında 20-390 mg/kg (Bertoncelj vd., 2007; Al vd., 2009), multifloral çiçek ballarında ise 126.8-1525.2 mg/kg (Bertoncelj vd., 2007; Sant'Ana vd., 2014; Wilczynska, 2014) arasında değişirken, flavonoid içeriği kateşin eşdeğeri olarak 19.9-118.6 mg/kg düzeyinde belirlenmiştir (Sant'Ana vd., 2014). Yine yapılan bazı araştırmalarda balın flavonoid içeriği kuersetin eşdeğeri olarak 6.5-153.3 mg/kg aralığında da rapor edilmiştir (Al vd., 2009; Can vd., 2015; Halouzka vd., 2016).

Diğer tüm gıdalarda olduğu gibi balda da renk, ürün üzerindeki ilk algıyı oluşturması bakımından

özellikle ticaret noktasında çok önemli bir yere sahiptir. Renk, baldaki en değişken parametrelerden biri olup, temel olarak botanik orijinden etkilenir. Aynı zamanda kül miktarı ile kovandaki ve depolama sürecindeki sıcaklık renk üzerine etkilidir (Gambaro vd., 2007). Yine fenolik madde içeriğinin renk üzerinde önemli etkisi olduğu ve koyu renkli balların genel olarak toplam fenolik içeriklerinin ve buna bağlı antioksidan kapasitelerinin daha yüksek olduğu ifade edilmektedir (Sant'Ana vd., 2014). Bal, oldukça açık tonlardan koyu amber tonlara kadar geniş bir yelpazede renge sahip olmakla birlikte genel olarak parlak sarı ve kırmızımsı renklerin daha yaygın olduğu görülmektedir. Renk ölçümü açısından farklı değerlendirmeler bulunmakla birlikte bal için ağırlıklı olarak Pfund skalası kullanılmaktadır (Çizelge 1). Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA), bal rengini Pfund skalasına göre su beyazından koyu ambere kadar yedi kısımda sınıflandırmış olup, Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'nde de benzer şekilde "balın renginin su beyazından koyu amber renge kadar değişebildiği" belirtilmiştir. Mevzuatta sadece salgı balları için rengin Pfund skalasına göre en az 60 olması gerektiği ifade edilmiştir. Pek çok ülkede balın rengi, fiyatını belirleyen unsurlar arasında yer almaktadır. Bununla birlikte bu konuda genel bir fikir birliği mevcut olmayıp, bazı yörelerde açık renkli bazı yörelerde ise koyu renkli ballar tüketiciler tarafından daha değerli kabul edilmektedir (Tuberoso vd., 2014).

Çizelge 1. Pfund skalasına göre bal renkleri

Bal Rengi <i>Honey colour</i>	Pfund sayısı (mm) <i>Pfund value (mm)</i>
Su Beyazı <i>Water White</i>	< 8
Ekstra Beyaz <i>Extra White</i>	8–17
Beyaz <i>White</i>	17–34
Ekstra Açık Amber <i>Extra Light Amber</i>	34–50
Açık Amber <i>Light Amber</i>	50–85
Amber <i>Amber</i>	85–114
Koyu Amber <i>Dark Amber</i>	>114

Balın kompozisyonu, üretildiği bölgenin iklim koşulları ve nektar kaynaklarından önemli ölçüde etkilendiğinden değişik coğrafi bölgelerden elde edilen balların bileşimleri farklılık gösterir (Sagdıç vd., 2013). Sahip olduğu zengin bitki örtüsü yanında coğrafi ve iklim şartları nedeniyle de bal üretimi açısından son derece uygun koşullara sahip ülkemizin çeşitli bölgelerinde üretilmiş gerek nektar ya da salgıdan elde edilen monofloral ballar (Akbulut vd., 2009; Özcan ve Ölmez, 2014) gerekse de multifloral balların (Küçük vd., 2007; Can vd., 2015) renk ve bileşimleri ile ilgili çeşitli araştırmalar mevcut iken, Çorum iline ait söz konusu alanda bilimsel bir veri bulunmamaktadır. Bu anlamda gerçekleştirilen çalışmanın amacı, Çorum yöresinde üretilen balların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri gibi biyoaktif özellikleri yanında renk karakteristikleri ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesidir. Bunun yanı sıra fenolik madde içerikleri ile renk ve antioksidan kapasite arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışma kapsamında, Çorum İli Arı Yetiştiricileri Birliği aracılığı ile Çorum'un farklı yörelerinden temin edilen 47 bal örneği kullanılmıştır. Bal örneklerinin 22'si Çorum merkez ve merkeze bağlı köylerden, kalan örnekler ise ilçelerden temin edilmiştir. Tüm 2015 yılı üretimi olan numuneler, analiz edilinceye kadar ağzı kapalı cam şişelerde, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda muhafaza edilmişlerdir. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck (Darmstadt, Germany) ve Sigma (St. Louis, MO, USA) firmalarından sağlanmıştır.

Toplam fenolik madde analizi

Örneklerin toplam fenolik madde miktarları, Sancho vd. (2016) tarafından uygulanan Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek belirlenmiştir. 0.5 g bal örneği bir miktar saf su içerisinde çözüldürüldükten sonra hacmi 5 mL'ye tamamlanmıştır. Bu çözeltilerden 250 µL örnek alınarak üzerine 1.25 mL 0.2 N Folin-Ciocalteu's fenol çözeltilisi eklenmiş, karıştırılan ve 3 dak bekletilen örneklere 1.0 mL 2 M Na₂CO₃ ilave

edilmiştir. İyice karıştırılan örnekler oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 1 saat tutulmuştur. Süre sonunda örneklerin absorptans değerleri spektrofotometrik olarak 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Shimadzu UV-1800, Japan). Örneklerde bulunan toplam fenolik madde miktarı, daha önce farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerinin absorptans değerlerinden elde edilen standart eğri yardımıyla hesaplanmış, sonuçlar “mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg” olarak verilmiştir.

Toplam flavonoid analizi

Bal örneklerindeki toplam flavonoid miktarları, Rababah vd. (2014) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Buna göre saf su ile 1:10 oranında seyreltilen bal örneklerinden 250 µL alınarak, üzerine 1.25 mL saf su ve 75 µL %5’lik NaNO₃ eklenmiş, karıştırma ve 5 dak beklemenin ardından 150 µL %10’luk AlCl₃ eklenmiştir. Tekrar karıştırma ve 5 dak bekleme sonrasında 0.5 mL 1.0 M NaOH eklenmiş ve hacim saf su ile 2.5 mL’ye tamamlanarak absorptans değerleri spektrofotometrik olarak 510 nm’de ölçülmüştür. Örneklerde bulunan toplam flavonoid miktarı, daha önce farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kateşin çözeltilerinin absorptans değerlerinden elde edilen standart eğri yardımıyla hesaplanmış, sonuçlar “mg kateşin eşdeğeri (CE)/kg” olarak verilmiştir.

Renk analizleri

L^* , a^* ve b^* renk değerleri, Minolta renk ölçüm spektrofotometresi (Minolta CM-3600d) kullanılarak ölçülmüştür. CIE (Commission Internationale de l’Eclairage) renk değerlerine göre L^* değeri parlaklığın göstergesi olup 0 (siyah) ile 100 (beyaz) aralığında değer almaktadır. a^* değeri kırmızı-yeşil ($+a^*$ kırmızı, $-a^*$ yeşil) ve b^* değeri ise sarı-mavi ($+b^*$ sarı, $-b^*$ mavi) skalayı göstermektedir.

L^* , a^* ve b^* değerlerine ek olarak renk analizi, net absorptans ve Pfund değerlerinin belirlenmesi ile de gerçekleştirilmiştir. %50’lik (w/v) bal çözeltisi, filtre edildikten sonra 450 ve 720 nm dalga

boyunda absorptans değerleri ölçülmüş ve bu iki değer arasındaki fark AU cinsinden net absorptans değerini vermiştir (Bertoncelj vd., 2007).

Pfund değerinin belirlenmesi amacıyla ise yine %50’lik (w/v) bal çözeltisinin 635 nm dalga boyunda absorptans değeri ölçülmüş ve aşağıdaki eşitlik yardımı ile de Pfund değeri hesaplanmıştır (Ferreira vd., 2009; Sant’Ana vd., 2014).

$$\text{mm Pfund} = -38.70 + 371.39 \times A$$

mm Pfund: Pfund skalasında balın renk şiddeti

A: Bal çözeltisinin absorptans değeri

Antioksidan kapasite analizi

Örneklerin antioksidan kapasite içerikleri, ABTS [2,2’-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)] ve DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) yöntemleri kullanılarak iki farklı şekilde belirlenmiştir (Kırca ve Özkan, 2010). ABTS yönteminin temeli, stabil olarak oluşturulan ABTS⁺ radikal katyonunun antioksidan madde tarafından söndürülmesi sonucunda 734 nm dalga boyunda gerçekleşen absorptans (mavi-yeşil renk) azalmasının (% inhibisyon) ölçülmesidir. ABTS yönteminde, 0.5 g bal örneği bir miktar saf su içerisinde çözündürüldükten sonra hacmi 5 mL’ye tamamlanmıştır. Bu çözülden alınan 50 µL örnek, 950 µL seyreltilmiş ABTS⁺ radikal çözeltisi ile karıştırılmış ve 734 nm dalga boyunda 6 dak sonunda absorptans değeri ölçülmüştür. Reaksiyon sonucu harcanan ABTS⁺ miktarı sentetik bir antioksidan olan troloks eşdeğeri olarak hesaplanmış ve mM TEAC olarak verilmiştir.

DPPH yöntemi de, antioksidan bileşiklerin mor renkli stabil bir bileşik olan DPPH^{*} radikalini indirgeme yeteneklerinin ölçümüne dayanmaktadır. Söz konusu radikalın, test bileşiği ile reaksiyonundan sonra indirgenmesi sonucu renkte meydana gelen azalma spektrofotometrik olarak 517 nm dalga boyunda ölçülmektedir. 1:10 oranında saf su ile seyreltilmiş bal örneğinden 0.25 mL alınarak üzerine metanolde hazırlanan 2.75 mL 1 mM’lık DPPH^{*} radikal çözeltisi ilave edildikten sonra iyice karıştırılan örnekler, oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dak bekletildikten

sonra spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda metanole karşı absorpsiyon okunmuştur. Aynı işlem kör deneme olarak örnek çözeltisi yerine 0.25 mL metanol çözeltisi üzerine 2.75 mL radikal ilavesi ile de gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucu harcanan radikal miktarı troloks eşdeğeri olarak hesaplanmış ve mM TEAC olarak verilmiştir.

İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmelerinde SPSS 16.0 paket programından yararlanılmıştır. Bal örneklerinin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri ile renk ve antioksidan kapasite arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon katsayıları ile belirlenmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bal örneklerinin toplam fenolik madde, toplam flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri Çizelge 2'de verilmektedir. Fenolik maddeler balda bulunan minör bileşenler içerisinde olmakla birlikte sağlık açısından son derece önemli olup, bal kalitesi açısından da öncelikli olarak değerlendirilmesi gereken maddelerdendir. Nitekim yüksek polifenol içeriği aynı zamanda

yüksek antioksidan kapasiteyi, dolayısıyla sağlık üzerinde daha olumlu etkiyi işaret etmektedir (Alvarez-Suarez vd., 2010). Araştırma kapsamında Çorum yöresi ballarının toplam fenolik içeriklerinin gallik asit eşdeğeri cinsinden 243-546 mg/kg aralığında değiştiği ve ortalama 381 mg/kg düzeyinde olduğu saptanmıştır. Fenolik bileşenler içerisinde önemli bir grubu oluşturan flavonoid açısından ise kateşin eşdeğeri cinsinden 30.8-87.0 mg/kg (ort. 55.9 mg/kg) aralığında sonuç elde edilmiştir. Balların fenolik madde içerikleri ile ilgili olarak literatürde geniş aralıkta sonuçlar elde edilen değişik çalışmalar mevcuttur. Örneğin Sağdıç vd. (2013), Türkiye'de üretilen farklı botanik orijinli balların toplam fenolik madde miktarlarının 15-1082 mg GAE/kg arasında değiştiğini rapor etmektedir. Yine Bahçeci vd. (2015a), gerek ticari ve gerekse direkt olarak üreticilerden temin ettikleri bal örneklerinde, toplam fenolik madde içeriklerini 138-1048 mg GAE/kg aralığında saptamışlardır. Balların çeşidine göre farklılık olmakla birlikte genel olarak salgı ballarının fenolik madde içeriklerinin çiçek ballarına göre daha fazla olduğu belirtilmektedir (Escuredo vd., 2013; Bahçeci vd., 2015b; Flores vd., 2015).

Çizelge 2. Bal örneklerinin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid içerikleri ile antioksidan kapasiteleri

Table 2. Total phenolic contents, total flavonoids, and antioxidant capacities of honey samples

Örnek kodu Sample code	Toplam fenolik madde Total phenolic content (mg GAE ¹ /kg)	Toplam flavonoid Total flavonoids (mg CE ² /kg)	Antioksidan kapasite Antioxidant capacity (mM TEAC ³)	
			ABTS	DPPH
1	395±19	55.2±4.4	0.666±0.011	0.256±0.007
2	489±16	50.3±5.4	0.885±0.058	0.378±0.043
3	405±27	55.7±3.3	0.653±0.090	0.248±0.040
4	454±13	60.1±2.9	0.988±0.096	0.402±0.035
5	389±29	61.7±5.5	0.677±0.076	0.246±0.013
6	530±19	71.5±6.9	1.099±0.155	0.444±0.010
7	537±1	87.0±1.4	1.353±0.177	0.605±0.008
8	341±12	44.1±3.7	0.571±0.069	0.272±0.032
9	377±11	41.4±5.4	0.734±0.034	0.245±0.003
10	354±4	46.8±1.3	0.470±0.060	0.199±0.018
11	395±23	65.0±4.6	0.810±0.112	0.240±0.036
12	396±4	48.2±4.8	0.820±0.022	0.250±0.034
13	247±7	30.8±1.7	0.466±0.012	0.170±0.024
14	371±6	43.9±3.3	0.812±0.145	0.231±0.036

Çorum yöresi ballarının fiziksel ve kimyasal özellikleri

Çizelge 2. devam
Table 2. continuation

Örnek kodu <i>Sample code</i>	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i> (mg GAE ¹ /kg)	Toplam flavonoid <i>Total flavonoids</i> (mg CE ² /kg)	Antioksidan kapasite <i>Antioxidant capacity</i> (mM TEAC ³)	
			ABTS	DPPH
15	546±10	70.0±2.4	1.165±0.169	0.547±0.068
16	545±10	77.9±6.5	1.034±0.176	0.472±0.060
17	322±1	51.6±3.8	0.659±0.028	0.300±0.029
18	364±1	40.0±1.1	0.625±0.027	0.260±0.032
19	392±8	52.3±1.6	0.739±0.032	0.284±0.044
20	501±0	69.3±1.4	1.097±0.028	0.476±0.064
21	403±5	52.2±8.0	0.853±0.106	0.312±0.043
22	402±19	46.3±4.2	0.768±0.048	0.270±0.031
23	420±8	56.4±1.3	0.869±0.123	0.303±0.080
24	388±8	66.1±8.5	0.970±0.025	0.401±0.050
25	406±51	43.1±3.9	0.674±0.049	0.302±0.032
26	455±10	64.7±8.1	0.948±0.163	0.359±0.061
27	462±11	73.0±2.4	0.889±0.107	0.312±0.077
28	248±11	53.1±4.7	0.571±0.056	0.199±0.015
29	311±14	57.7±2.4	0.770±0.031	0.313±0.040
30	368±8	49.2±5.4	0.738±0.055	0.261±0.033
31	409±4	65.0±2.0	1.040±0.146	0.490±0.051
32	264±5	57.2±2.8	0.536±0.035	0.239±0.065
33	271±31	63.6±2.2	0.639±0.012	0.246±0.012
34	389±3	56.4±8.3	0.779±0.048	0.340±0.050
35	324±29	55.6±4.1	0.665±0.046	0.195±0.037
36	356±1	53.0±3.6	0.706±0.157	0.289±0.056
37	318±3	38.2±6.1	0.651±0.008	0.260±0.024
38	466±13	53.1±1.8	0.944±0.007	0.448±0.010
39	407±14	49.6±2.4	0.894±0.090	0.329±0.026
40	363±10	48.4±3.8	0.899±0.083	0.294±0.033
41	264±12	56.3±1.3	0.590±0.017	0.260±0.001
42	302±6	65.1±3.3	0.658±0.010	0.302±0.002
43	293±16	56.4±3.0	0.572±0.046	0.238±0.017
44	448±13	65.1±7.9	0.935±0.101	0.339±0.036
45	243±5	50.5±3.6	0.641±0.116	0.216±0.009
46	336±29	48.9±1.0	0.592±0.091	0.220±0.032
47	265±13	61.2±1.8	0.658±0.100	0.208±0.020
En düşük <i>Min.</i>	243	30.8	0.466	0.170
En yüksek <i>Max.</i>	546	87.0	1.353	0.605
Ortalama <i>Mean</i>	381	55.9	0.782	0.308

¹Gallik Asit Eşdeğeri (*Galic Acid Equivalent*)

²Kateşin Eşdeğeri (*Catechin Equivalent*)

³Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*)

Balda geniş aralıkta sonuç alınan parametrelerden bir diğeri de renk olup, balın rengi Pfund skalası yanında reflektans renk parametreleri (L^* , a^* , b^*) ve net absorbas değerleri kullanılarak da değerlendirilebilmektedir (Gonzalez-Miret vd., 2005, Bahçeci vd., 2015a). Bu noktada Çorum yöresi balları açısından belirlenen renk değerleri Çizelge 3'de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde Pfund skalası baz alınarak 1.0-111.2 mm (ort. 48.2 mm) gibi oldukça geniş bir

aralıkta sonuç elde edilmiştir. Bu anlamda söz konusu skalaya göre örneklerin %2.1'i (1 örnek) su beyazı, %2.1'i (1 örnek) ekstra beyaz, %19.2'si (9 örnek) beyaz, %31.9'u (15 örnek) ekstra açık amber, %42.6'sı (20 örnek) açık amber ve %2.1'i de (1 örnek) amber renkli olarak belirlenmiş olup, genel olarak Çorum yöresi ballarının beyaz ile açık amber arasında renge sahip oldukları görülmektedir.

Çizelge 3. Bal örneklerinin renk değerleri

Table 3. Colour values of honey samples

Örnek kodu Sample code	Pfund sayısı Pfund value (mm)	Net absorbas Net absorbance (AU)	Renk Colour		
			L^*	a^*	b^*
1	49.3±3.3	0.489±0.020	34.81±0.41	3.81±0.15	14.99±0.42
2	81.6±3.7	0.571±0.007	33.32±0.42	5.09±0.30	13.42±0.97
3	63.1±2.2	0.561±0.005	33.11±0.50	3.98±0.37	12.90±0.90
4	59.9±0.2	0.573±0.006	34.59±1.93	4.48±0.39	12.01±1.01
5	48.2±1.1	0.508±0.007	36.01±0.32	3.12±0.02	13.81±0.81
6	67.7±3.2	0.781±0.013	33.05±0.49	5.56±0.41	12.89±1.37
7	111.2±0.2	0.894±0.017	34.29±3.13	6.82±1.00	11.13±3.72
8	53.0±5.9	0.380±0.003	36.74±0.84	1.44±0.24	13.78±0.28
9	22.2±6.3	0.353±0.015	37.40±0.83	1.00±0.34	13.73±1.03
10	34.5±0.7	0.347±0.007	36.89±1.46	2.44±0.14	13.67±0.36
11	54.0±2.4	0.533±0.006	35.93±0.87	2.56±0.47	13.89±1.25
12	31.9±1.5	0.406±0.005	35.85±0.33	2.57±0.26	11.77±1.05
13	1.0±0.0	0.180±0.003	37.38±1.19	0.20±0.15	11.16±0.96
14	25.6±2.2	0.416±0.023	34.37±1.01	3.63±0.31	11.89±1.01
15	58.2±0.7	0.706±0.002	33.48±0.54	5.24±0.44	10.76±1.15
16	81.6±5.9	0.824±0.006	32.02±0.64	5.90±0.70	11.49±1.00
17	41.1±3.7	0.520±0.017	36.40±0.45	2.86±0.39	14.97±0.85
18	22.2±0.0	0.265±0.020	36.93±0.18	0.90±0.45	12.40±1.53
19	54.3±7.6	0.453±0.006	34.55±0.78	2.95±0.38	14.48±0.75
20	84.8±5.8	0.782±0.005	32.15±0.45	5.61±0.74	11.63±1.17
21	36.9±6.9	0.446±0.005	35.76±0.26	2.65±0.50	14.51±1.43
22	25.9±5.2	0.435±0.017	36.02±0.64	3.11±0.01	14.83±0.31
23	75.1±0.2	0.561±0.000	33.44±0.47	3.85±0.16	11.92±1.18
24	54.0±5.8	0.613±0.012	33.65±1.12	4.36±0.37	13.91±1.29
25	47.3±8.4	0.405±0.006	35.79±1.21	2.19±0.23	12.34±1.15
26	55.8±5.5	0.706±0.040	34.57±0.04	4.48±0.01	16.81±0.07
27	74.0±5.4	0.748±0.001	34.52±1.16	4.40±0.77	13.88±0.18
28	39.7±2.2	0.412±0.017	36.36±0.46	1.93±0.25	17.12±1.50
29	82.0±2.2	0.722±0.003	36.04±0.37	3.81±0.13	14.63±1.02
30	15.9±0.0	0.357±0.015	35.55±0.42	2.68±0.50	14.49±0.26
31	58.4±2.4	0.647±0.013	33.56±0.84	4.97±0.22	10.90±1.72

Çorum yöresi ballarının fiziksel ve kimyasal özellikleri

Çizelge 3. devam
Table 3. continuation

Örnek kodu <i>Sample code</i>	Pfund sayısı <i>Pfund value</i> (mm)	Net absorbans <i>Net absorbance</i> (AU)	Renk <i>Colour</i>		
			<i>L*</i>	<i>a*</i>	<i>b*</i>
32	45.0±4.6	0.407±0.009	37.01±0.74	1.65±0.35	16.33±1.80
33	37.4±1.5	0.442±0.003	35.95±0.33	2.00±0.28	16.73±1.51
34	21.3±2.8	0.399±0.016	34.82±0.45	3.24±0.35	14.53±0.51
35	45.0±6.5	0.452±0.014	34.62±0.63	1.77±0.29	11.31±0.57
36	41.5±6.3	0.426±0.003	34.73±0.36	3.02±0.56	15.33±0.73
37	24.1±4.1	0.325±0.005	36.45±0.46	1.85±0.35	15.02±0.94
38	27.4±3.0	0.468±0.003	34.00±0.04	3.39±0.74	14.22±0.29
39	25.6±0.7	0.473±0.017	34.90±2.22	4.44±0.30	13.37±1.04
40	35.2±1.9	0.417±0.001	36.70±0.10	2.49±0.63	15.68±1.01
41	65.5±7.6	0.575±0.002	35.93±0.26	2.75±0.35	18.07±1.48
42	50.1±1.9	0.577±0.014	34.60±1.20	3.77±0.27	15.44±1.37
43	62.7±3.3	0.580±0.026	35.20±0.63	3.31±0.23	17.92±0.72
44	61.2±3.3	0.584±0.033	32.97±0.46	4.43±0.50	12.81±1.35
45	35.8±0.2	0.349±0.009	36.92±0.26	1.50±0.13	15.74±1.00
46	40.2±5.0	0.435±0.017	35.55±0.64	2.50±0.12	15.58±1.71
47	38.2±4.1	0.487±0.011	41.48±0.10	3.33±0.03	20.58±0.10
En düşük <i>Min.</i>	1.0	0.180	32.02	0.20	10.76
En yüksek <i>Max.</i>	111.2	0.894	41.48	6.82	20.58
Ortalama <i>Mean</i>	48.2	0.508	35.24	3.28	14.06

Pfund skalası baz alınarak değerlendirilen bal örneklerinin renklerdeki çeşitlilik, L^* , a^* , b^* ve net absorbans değerleri noktasında gerçekleştirilen analiz sonuçlarına da yansımaktadır. Bal örneklerinin net absorbans değerleri 0.180-0.894 AU (ort. 0.508 AU), L^* değerleri 32.02-41.48 (ort. 35.24), a^* değerleri 0.20-6.82 (ort. 3.28) ve b^* değerleri de 10.76-20.58 (ort. 14.06) aralıklarında ölçülmüştür. Gerek bu çalışmadan elde edilen sonuçlar gerekse literatür verileri incelendiğinde (Bertoncelj vd., 2007; Özcan ve Ölmez., 2014; Can vd., 2015) bal rengi açısından oldukça geniş bir aralıkta sonuçların elde edildiği görülmektedir. Söz konusu renk parametreleri üzerine çevresel faktörler de son derece önemli olup, bu anlamda özellikle arının nektar topladığı çiçeklerin çeşitleri başlıca belirleyici faktörlerdendir.

Bal örneklerinin antioksidan kapasite değerleri iki farklı yöntemle ölçülmüş olup, ABTS yöntemi baz alındığında 0.466-1.353 mM TEAC (ort. 0.782 mM TEAC), DPPH yöntemi baz alındığında ise 0.170-0.605 mM TEAC (ort. 0.308 mM TEAC) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Her iki yöntemle elde edilen veriler arasında çok güçlü bir korelasyon (Pearson korelasyon katsayısı, $r = 0.906$) olmasına karşın, DPPH yöntemi ile elde edilen sonuçların daha düşük olduğu görülmektedir. Literatürde antioksidan kapasite tayininde kullanılan yöntemlerin farklı sonuçlar verdiği ifade edilmektedir (Pita-Calvo ve Vazquez, 2017). Değişik yöntemlerin farklı sonuçlar vermesi, balların antioksidan kapasitelerine göre kıyaslanmalarında kullanılan yöntemlerin de dikkate alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bitkilerin kimyasal kompozisyonlarının farklı olması nedeniyle botanik orijinleri farklı balların

antioksidan aktiviteleri de farklı olmaktadır (Alvarez-Suarez vd., 2010). Yapılan pek çok araştırmada antioksidan kapasite ile renk arasında güçlü korelasyonlar tespit edilmiş olup, koyu renkli balların antioksidan kapasitelerinin daha açık renkli olan ballara kıyasla daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Bertoncelj vd., 2007; Tezcan vd., 2011; Alves vd., 2013). Ayrıca yapılan çalışmalarda, bal rengi ile fenolik madde içerikleri arasında da korelasyon bulunduğu ve koyu renkli balların fenolik madde içeriklerinin daha fazla olduğu ifade edilmektedir. Çalışma sonuçları da söz konusu verileri destekler nitelikte olup, bal örneklerinde incelenen tüm parametreler arasındaki ilişkileri içeren korelasyon matrisi Pearson korelasyon katsayıları bazında Çizelge 4’de verilmektedir. Çizelge 4 incelendiğinde toplam fenolik madde, toplam flavonoid, pfund sayısı, net absorbans ve a^* değerleri ile antioksidan

kapasite arasında kuvvetli pozitif, L^* değerleri ve antioksidan kapasite arasında ise kuvvetli negatif ilişkinin söz konusu olduğu görülmektedir. Ayrıca b^* değeri ile antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde arasında da negatif korelasyon belirlenmiştir. Şekil 1’de balların toplam fenolik madde içeriği ile L^* değerleri, a^* değerleri ve antioksidan aktivite arasındaki ilişki grafiksel olarak gösterilmiştir. Görüldüğü üzere L^* değerinin düşük olduğu, yani koyuluğun daha fazla olması durumunda toplam fenolik madde miktarı daha yüksektir. Yine a^* değerinin artması yani kırmızılığın yüksek olması da toplam fenolik madde içeriğinin yüksek olması sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite arasındaki güçlü pozitif korelasyon, balların polifenol içeriğinin antioksidan kapasite üzerine birinci derecede etkili bileşenler olduğunun da bir kanıtıdır.

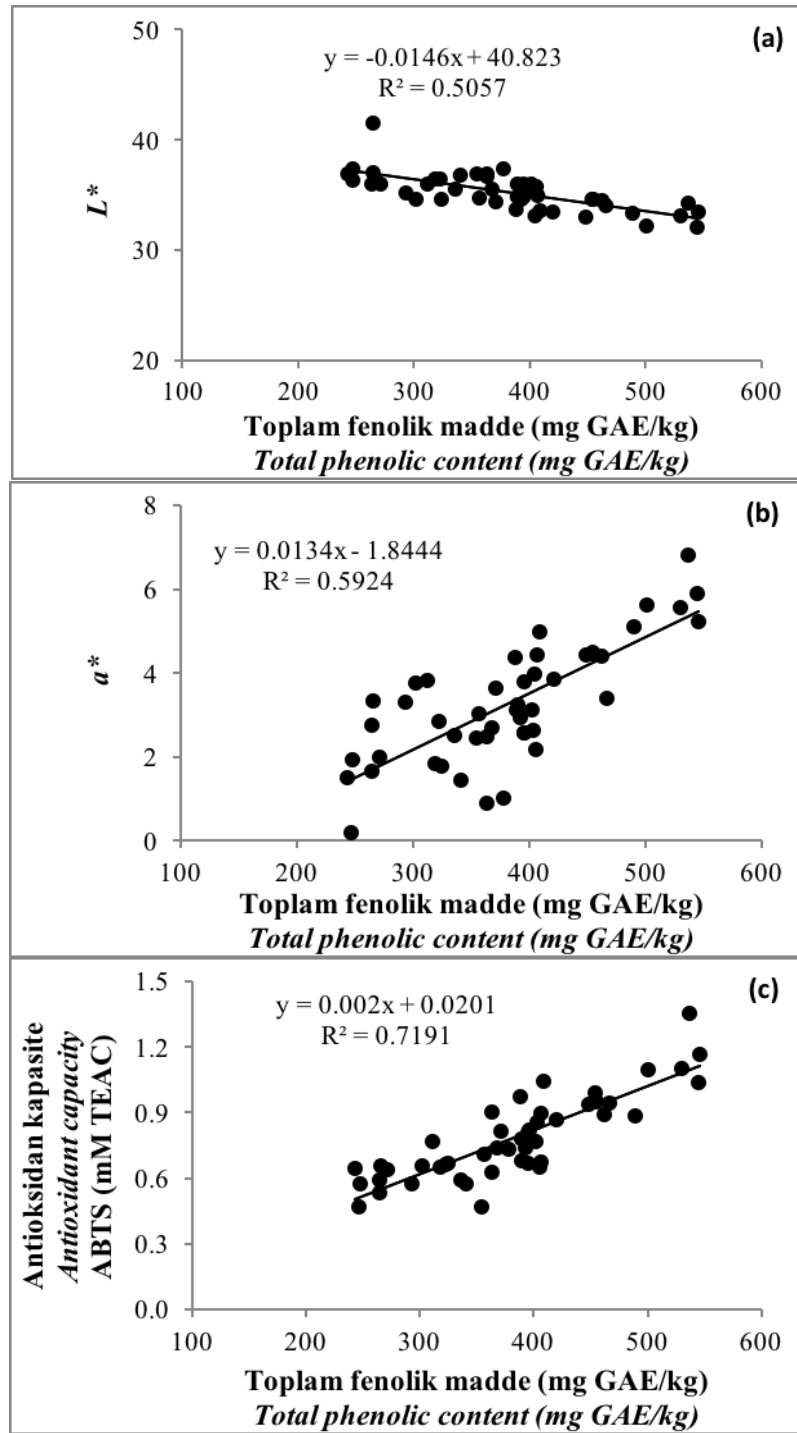
Çizelge 4. Bal örneklerinin çeşitli özellikleri açısından korelasyon matrisi

Table 4. Correlation matrix of the various properties of honey samples

	Antioksidan kapasite <i>Antioxidant capacity</i> (ABTS)	Antioksidan kapasite <i>Antioxidant capacity</i> (DPPH)	Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i>	Toplam flavonoid <i>Total flavonoids</i>	Net absorbans <i>Net absorbance</i>	Pfund sayısı <i>Pfund value</i>	L^*	a^*	b^*
Antioksidan kapasite <i>Antioxidant capacity</i> (ABTS)	1	0.906**	0.848**	0.675**	0.758**	0.551**	-0.625**	0.826**	-0.486**
Antioksidan kapasite <i>Antioxidant capacity</i> (DPPH)	0.906**	1	0.801**	0.670**	0.761**	0.592**	-0.641**	0.815**	-0.458**
Toplam fenolik madde <i>Total phenolic content</i>	0.848**	0.801**	1	0.528**	0.669**	0.510**	-0.711**	0.770**	-0.603**
Toplam flavonoid <i>Total flavonoids</i>	0.675**	0.670**	0.528**	1	0.902**	0.755**	0.496**	0.785**	-0.091
Net absorbans <i>Net absorbance</i>	0.758**	0.761**	0.669**	0.902**	1	0.866**	-0.630**	0.902**	-0.196
Pfund sayısı <i>Pfund value</i>	0.551**	0.592**	0.510**	0.755**	0.866**	1	-0.540**	0.736**	-0.185
L^*	-0.625**	-0.641**	-0.711**	0.496**	-0.630**	-0.540**	1	-0.770**	0.565**
a^*	0.826**	0.815**	0.770**	0.785**	0.902**	0.736**	-0.770**	1	-0.293*
b^*	-0.486**	-0.458**	-0.603**	-0,091	-0.196	-0.185	0.565**	-0.293*	1

** korelasyon 0.01 düzeyinde anlamlıdır (*correlation is significant at the 0.01 level*)

* korelasyon 0.05 düzeyinde anlamlıdır (*correlation is significant at the 0.05 level*).



Şekil 1. Bal örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri ile (a) L^* değerleri, (b) a^* değerleri ve (c) antioksidan kapasite değerleri arasındaki ilişki

Figure 1. Correlation between total phenolic contents and (a) L^* values, (b) a^* values and (c) antioxidant capacities of honey samples

Sonuç olarak Çorum yöresi balları üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada toplam fenolik madde, toplam flavonoid, renk ve antioksidan kapasite değerleri bakımından oldukça geniş bir aralıkta sonuçlar elde edilmiş olup, botanik ve coğrafi özellikler, iklim koşulları, arı türü gibi balın bileşimini etkileyen pek çok parametrenin bu anlamda etkili olabileceği söylenebilir. Fenolik bileşenler ile renk ve antioksidan kapasite değerleri arasındaki ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve genel olarak koyu renkli balların toplam fenolik madde içeriklerinin, dolayısıyla antioksidan kapasitelerinin daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

19004.15.004 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları maddi destekten dolayı Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve bal örneklerinin temin edilmesini sağlayan Çorum İli Arı Yetiştiricileri Birliği yönetimi ve üyelerine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Akbulut, M., Ozcan, M.M., Coklar, H. (2009). Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia. *Int J Food Sci Nutr*, 60(7): 577-589.

Al, M.L., Daniel, D., Moise, A., Bobis, O., Laslo, L., Bogdanov, S. (2009). Physicochemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania. *Food Chem*, 112(4): 863-867.

Alvarez-Suarez, J.M., Tulipani, S., Diaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., Damiani, E., Astolfi, P., Bompadre, S., Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem Toxicol*, 48(8-9): 2490-2499.

Alvarez-Suarez, J.M., Giampieri, F., Gonzalez-Paramas, A.M., Damiani, E., Astolfi, P., Martinez-Sanchez, G., Bompadre, S., Quiles, J.L., Santos-Buelgab, C., Battino, M. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte

membranes against oxidative damage. *Food Chem Toxicol*, 50(5): 1508-1516.

Alves, A., Ramos, A., Goncalves, M.M., Bernardo, M., Mendes, B. (2013). Antioxidant activity, quality parameters and mineral content of Portuguese monofloral honeys. *J Food Compos Anal*, 30(2): 130-138.

Bahçeci, K.S., Güzel, N., Çelik, S., Alkın, T., Marap, Z., Dağlar, M. (2015a). Evaluation of some physicochemical properties of honeys from various regions of Turkey. FHTT 2015 International Congress on Safety and Authenticity of Bee Products, May 21-22, İstanbul, Turkey, 84 p.

Bahçeci, K.S., Güzel, N., Uluşu, S., İnceyılmaz, G., Kahraman, R., Kocataş, M. (2015b). Antioxidant capacities of some Turkish honeys and their correlations with total phenolics and color characteristics. FHTT 2015 International Congress on Safety and Authenticity of Bee Products, May 21-22, İstanbul, Turkey, 84 p.

Bardy, J., Slevin, N.J., Mais, K.L., Molassiotis, A. (2008). A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care. *J Clin Nurs*, 17(19): 2604-2623.

Battino, M., Forbes-Hernandez, T.Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Zhang, J., Manna, P.P., Reboredo-Godriguez, P., Lopez, A.V., Quiles, J.L., Mezzetti, B., Bompadre, S., Xiao, J., Giampieri, F. (2019). Relevance of functional foods in the Mediterranean diet: the role of olive oil, berries and honey in the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(6): 893-920.

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chem*, 105(2): 822-828.

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *J Am Coll Nutr*, 27(6): 677-689.

Burlando, B., Cornara, L. (2013). Honey in dermatology and skin care: A review. *J Cosmet Dermatol*, 12(4): 306-313.

- Can, Z., Yıldız, O., Sahin, H., Akyuz-Turumtay, E., Silici, S., Kolaylı, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physic-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food Chem*, 180: 133-141.
- da Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Costa, A.C.O., Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chem*, 196: 309-323.
- Escuredo, O., Miguez, M., Fernandez-Gonzalez, M., Seijo, M.C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chem*, 138(2-3): 851-856.
- Feas, X., Pires, J., Iglesias, A., Estevinho, M.L. (2010). Characterization of artisanal honey produced on the Northwest of Portugal by melissopalynological and physico-chemical data. *Food Chem Toxicol*, 48(12): 3462-3470.
- Ferreira, I., Aires, E., Barreira, J.C.M., Estevinho, L. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chem*, 114(4): 1438-1443.
- Flores, M.S.R., Escuredo, O., Seijo, M.C. (2015). Assessment of physicochemical and antioxidant characteristics of *Quercus pyrenaica* honeydew honeys. *Food Chem*, 166, 101-106.
- Gambaro, A., Ares, G., Gimenez, A., Pahor, S. (2007). Preference mapping of color of Uruguayan honeys. *J Sens Stud*, 22(5): 507-519.
- Gonzalez-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernandez-Recamales, M.A., Heredia, F.J. (2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honeys and by their botanical origin. *J Agric Food Chem*, 53(7): 2574-2580.
- Governa, P., Carullo, G., Biagi, M., Rago, V., Aiello, F. (2019). Evaluation of the in vitro wound-healing activity of Calabrian honeys. *Antioxidant*, 8(36): 1-16.
- Halouzka, R., Tarkowski, P., Cavar-Zeljko, S. (2016). Characterization of phenolics and other quality parameters of different types of honey. *Czech J Food Sci*, 34(3): 244-253.
- Kırca, A., Özkan, M. (2010). *Değişik Amaçlı Bazı Test ve Analiz Yöntemleri. Gıda Analizleri*, Cemeroglu, B. (ed.), Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. Ankara, Türkiye, s. 157-199.
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoglu, S., Ulusoy, E., Baltacı, C., Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*, 100(2): 526-534.
- Lay-Flurrie, K. (2008). Honey in wound care: Effects, clinical application and patient benefit. *Br J Nurs*, 17(11): S30-S36.
- Manzanares, A.B., Garcia, Z.H., Galdon, B.R., Rodriguez, E.R., Romero, C.D. (2014). Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *LWT-Food Sci Technol*, 55(2): 572-578.
- Özcan M.M., Ölmez, C. (2014). Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food Chem*, 163: 212-218.
- Perez-Perez, E., Vit, P., Huq, F. (2013). Flavonoids and polyphenols in studies of honey antioxidant activity. *Int J Med Plant Altern Med*, 1(4): 63-72.
- Pita-Calvo, C., Valquez, M. (2017). Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends Food Sci Technol*, 59: 79-87.
- Rababah, T.M., Al-Omouh, M., Brewer, S., Alhamad, M., Yang, W.D., Alrababah, M., Al-Ghazawi, A.A., Al-U'Datt, M., Ereifej, K., Alsheyab, F., Esoh, R., Almajwal, A. (2014). Total phenol, antioxidant activity, flavonoids, anthocyanins and color of honey as affected by floral origin found in the Arid and Semiarid Mediterranean areas. *J Food Process Preserv*, 38(3): 1119-1128.
- Sağdıç, O., Silici, S., Ekici, L. (2013). Evaluation of the phenolic content, antiradical, antioxidant, and antimicrobial activity of different floral sources of honey. *Int J Food Prop*, 16: 658-666.
- Sant'Ana, L.D., Ferreira, A.B.B., Lorenzon, M.C.A., Berbara, R.L.L., Castro, R.N. (2014). Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity. *Int J Food Prop*, 17: 65-76.

- Sancho, M.T., Pascual-Mate, A., Rodriguez-Morales, E.G., Oses, S.M., Escriche, I., Periche, A., Fernandez-Muino, M.A. (2016). Critical assessment of antioxidant-related parameters of honey. *Int J Food Sci Technol*, 51(1): 30-36.
- Subramanian, A.P., John, A.A., Vellayappan, M.V., Balaji, A., Jaganathan, S.K., Mandal, M., Supriyanto, E. (2016). Honey and its phytochemicals: Plausible agents in combating colon cancer through its diversified actions. *J Food Biochem*, 40(4): 613-629.
- Tezcan, F., Kolayli, S., Sahin, H., Ulusoy, E., Erim, F.B. (2011). Evaluation of organic acid, saccharide composition and antioxidant properties of some authentic Turkish honeys. *J Food Nutr Res*, 50(1): 33-40.
- Tuberoso, C.I.G., Jerkovic, I., Sarais, G., Congiu, F., Marijanovic, Z., Kus, P.M. (2014). Color evaluation of seventeen European unifloral honey types by means of spectrophotometrically determined CIE L^* C^*_{ab} h°_{ab} chromaticity coordinates. *Food Chem*, 145: 284–291.
- Wilczynska, A. (2014). Effect of filtration on colour, antioxidant activity and total phenolics of honey. *LWT-Food Sci Technol*, 57(2): 767-774.



THE EFFECTS OF DRYING METHODS ON THE QUALITY OF TURKISH NOODLE WITH LEGUME FLOURS

Hacer Levent^{1*}, Saliha Yeşil²

¹Karamanoğlu Mehmetbey University, Health Sciences Faculty, Department of Nutrition and Dietetics, Karaman, Turkey

²Karamanoğlu Mehmetbey University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Karaman, Turkey

Received / Geliş: 24.05.2019; Accepted / Kabul: 05.11.2019; Published online / Online baskı: 21.11.2019

Levent, H., Yeşil, S. (2019). The effects of drying methods on the quality of Turkish noodle with legume flours. *GIDA* (2019) 44 (6): 1161-1173 doi: 10.15237/gida.GD19082

Levent, H., Yeşil, S. (2019). Kurutma metodlarının baklagil unlu Türk erişte kalitesi üzerine etkileri. *GIDA* (2019) 44 (6): 1161-1173 doi: 10.15237/gida.GD19082

ABSTRACT

In this study, legume flours (lentil, faba bean, chickpea and common bean) replaced wheat flour (30%, w/w) in Turkish noodle formulation. The effects of the addition of legume flours to the formulation and the different drying conditions (room, hot oven and microwave) on the physicochemical, cooking and sensory properties of noodles were investigated. The use of legume flour in noodle formulation increased the ash, protein, fat, Ca, Fe, Mg, Cu, total phenolic content and antioxidant activity of noodle samples ($P < 0.05$). In addition to shortening the drying time, microwave drying revealed higher total phenolic content and antioxidant activity values among other drying techniques. Legume flours, excluding faba bean, gave acceptable sensory analysis results in noodle samples. The results show that legume flour is an important source for improving the nutritional properties of noodles and microwave drying can be recommended to maintain the total phenolic content and antioxidant activity of the noodles.

Keywords: Noodle, legume, drying, microwave, oven

KURUTMA METOTLARININ BAKLAGİL UNLU TÜRK ERİŞTE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ

Bu çalışmada, baklagil unları (mercimek, bakla, nohut ve fasulye), Türk eriştesi formülasyonunda buğday unu ile yer değiştirmiştir (30%, w/w). Formülasyona baklagil unları ilavesinin ve farklı kurutma koşullarının (oda, sıcak fırın ve mikrodalga) erişte örneklerinin fizikokimyasal, pişme ve duyuşal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Baklagil ununun erişte formülasyonunda kullanılması, erişte numunelerinin kül, protein, yağ, Ca, Fe, Mg, Cu, toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitesini arttırmıştır ($P < 0.05$). Kurutma süresini kısaltmaya ek olarak, mikrodalga kurutma diğer kurutma teknikleri arasında daha yüksek toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri açığa çıkarmıştır. Bakla unu hariç baklagil unları, erişte örneklerinde kabul edilebilir duyuşal analiz sonuçları vermiştir. Sonuçlar, baklagil ununun erişte besinsel özelliklerini iyileştirmek için önemli bir kaynak olduğunu ve eriştenin toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitesini korumak için mikrodalga kurutmanın tavsiye edilebileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Erişte, baklagil, kurutma, mikrodalga, fırın

*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar/

✉ hacerlevent@hotmail.com,

☎ (+90) 338 226 2131

☎ (+90) 338 226 2134

INTRODUCTION

Turkish noodle (erişte) is a traditional cereal product of Turkey. Wheat flour, egg, and salt are the main ingredients in the production of noodles. In some parts of Turkey, milk, whey or other additives can also be used in the formulation (Özkaya et al., 2004). Traditionally, erişte is usually dried in the sun, in room conditions, in hot air oven or in a hot pan (Özkaya et al., 2001). Raw material quality and drying methods are important parameters affecting the quality of the product (Özkaya et al., 2001; Bilgiçli, 2009).

Drying is one of the important processes in food production to increase storage time, facilitate transportation and produce value added products (Mujumdar and Law, 2010). Ideally, drying processes can be designed to reduce drying time and minimize energy costs while maintaining high product quality (Basman and Yalcin, 2011). Pasta is traditionally dried at low temperature, but the drying temperature has been increasing with the advancement of technology. High temperature and very high temperature drying methods, as well as an emerging ultra high temperature drying have been quickly adopted (Ogawa et al., 2017). In recent years, microwave drying is an alternative way to improve the quality of dried products (Maskan, 2001). Pasta products are difficult to dry, because moisture migrates slowly to the surface. Hot air itself is relatively effective in removing free water at or near the surface, whereas it takes time for internal moisture to move to the surface (Altan and Maskan, 2005). In conventional heating or drying methods, heat is transported 10-20 times more slower from surface to center compared to microwave heating (Berteli and Marsaioli, 2005). During microwave processing, heat is generated throughout the material, resulting in faster heating rates, shorter processing times, less operational costs, and a sharper pasteurization effect on the end product compared to conventional heating (Maurer et al., 1971; Gowen et al., 2006). Microwave drying is considered as a fast product rehydration method in noodle products, because volumetric heating can form porous structures in the food product (Pongpichaiudom and Songsermpong, 2018). Furthermore, the products to be dried may be

heat sensitive and therefore require careful drying; conventionally drying in hot air can damage bioactive components. In addition, high temperature may cause adversities such as denaturation in the product, case hardening and discoloration (Altan and Maskan, 2005; Mujumdar and Law, 2010).

Legumes play an important role in human nutrition throughout the world. They are excellent sources of protein, dietary fibre, oligosaccharides, phytochemicals, vitamins and minerals which provide protective and therapeutic effects on chronic health problems such as obesity, cardiovascular diseases, diabetes and cancer (Geil and Anderson, 1994; Messina, 1999; Iqbal et al., 2006; Patterson et al., 2009). As well as being a rich source of protein, legumes provide high amounts of essential amino acid lysine which is lacking in cereal grains. Legumes are usually deficient in sulphur-containing amino acids, methionine and cystine. On the other hand, cereal-grain contains lower amounts of proteins which are deficient in lysine but have adequate amounts of sulphur-containing amino acids. Therefore, legume proteins may be a natural supplement to cereal proteins in producing an overall essential amino acid balance (Rockland and Radke, 1981; Singh and Singh, 1992). Globally, unhealthy diets and physical inactivity are the leading causes of major chronic diseases (Patterson et al., 2009). In addition, protein-calorie malnutrition is believed to be the primary nutritional problem, particularly affecting children in most developing countries (Singh and Singh, 1992; Iqbal et al., 2006). Due to its unique composition, legumes enhance the nutritional status of cereal-based foods and alleviate protein-calorie malnutrition problems.

Noodles generally lack nutrients such as protein, dietary fiber, vitamins and bioactive components that are lost during wheat milling or processing conditions. There are many studies on the use of different legume flours in noodle and noodle type products, but these studies have generally focused on the chemical composition of noodles, cooking quality, starch digestibility, texture etc. There are limited studies on the effect of drying conditions

on total phenolic content and antioxidant activity of end product. Therefore, the aim of this study was to determine the effects of legume flours (lentil, faba bean, chickpea and common bean) on noodle quality and to compare the effects of different drying techniques (room, hot oven and microwave) on the cooking quality, physicochemical and sensory properties of noodles.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The ingredients wheat flour with a 0.57% ash and 11.38% protein content (Hekimoğlu, Turkey), egg (Yumkar, Turkey), lentil, chickpea, common bean (Yayla, Turkey) and salt (Salina, Turkey) were purchased from local markets in Karaman, Turkey. Vital wheat gluten was obtained from Sinerji Food, Istanbul, Turkey. Sodium stearoyl 2-lactylate (SSL) was kindly provided by Teknaroma Agency Local&Foreign Trade, Istanbul, Turkey. Faba bean were obtained from local producers in Mersin, Turkey. In order to obtain legume flours, legumes were soaked in distilled water for 12 h at room temperature, cooked in water for 30 min at 90 ± 2 °C, then dried in room conditions for 5 days and milled to flour with a hammer mill (Perten-3100, Perten Instruments, AB, Huddinge, Sweden) according to Demi et al. (2010).

Noodle preparation

Noodle samples were prepared according to Özkaya et al. (2001) with some modifications. Wheat flour (200 g), egg (40 g), salt (1 g) and water were mixed for 6 min in the Kitchen-aid mixer (Artisan Series, Greenville, OH, USA) and the dough was allowed to stand at room temperature for 30 min to prepare control Turkish noodles. Lentil, faba bean, chickpea and common bean flour replaced wheat flour at the level of 30% (w/w). The amount of water used in the noodle formulation varies between 75-90 ml according to the dough consistency. Vital wheat gluten was used due to the reduced gluten content of wheat flour substituted with legume flours. Vital wheat gluten (3%) and SSL (0.5%)(w/w) were added to the noodle formulation enriched with legume flours based on the wheat flour used. The dough pieces were thinned and allowed to rest for about

15 min and then were passed through cutting blades of noodle machine for obtaining noodle strips (Shule Pasta Machine, China). The noodle samples were dried to a moisture content of less than 10% by different drying methods: Room conditions at 25 °C for 5 days; Drying cabinet (Nüve FN-500, Turkey) at 50 °C for 18 h; microwave oven (Arçelik, 2450 MhZ) at 350W for 7 min. The samples were stored in polyethylene bags at 4 °C until use.

Chemical analysis

Moisture, ash, crude protein and fat contents of wheat flour, legume flours and noodle samples were analyzed by using standard methods (AACC, 2000). Noodle samples dried at room conditions were used for ash, protein, fat, phytic acid, phytate phosphorus, and mineral analysis but all noodle samples dried under different drying conditions were analyzed for total phenolic content and antioxidant activity. Phytic acid was measured by a colorimetric method according to the method given by Haug and Lantzsch (1983). Phytic acid in the sample was extracted with hydrochloric acid solution and precipitated with Fe III solution. The amount of iron remaining in the extract was determined by spectrophotometric method and the amount of phytic acid was calculated. For determining phytate phosphorus, the phytic acid value was divided by a factor of 3.546. Mineral contents were determined according to the method given by Biçer (2018) with some modifications. Ground sample (1 g) was precisely weighted and transferred into the burning cup and mixed with pure nitric acid (15 mL) and samples were kept at room temperature overnight. After addition of 4 mL of per chloric acid, samples were heated up to 130 °C for 5-6 hours using a hot plate. After cooling the samples at room temperature, 5 mL of hydrogen peroxide was added and samples were heated again until discoloration was observed. After filtration and dilution, the mineral contents of samples were determined by atomic absorption spectrometer (AAS) using Perkin Elmer PinAAcle 900.

Total phenolic content (TPC) was determined spectrophotometrically using Folin-Ciocalteu reagent. Two grams of each sample were

extracted at room temperature (25 °C) with 10 mL solvent (methanol/HCl/water, 8:1:1, v/v/v) for 2 h. The mixture was then centrifuged at 3000 rpm for 10 min (Gao et al., 2002; Beta et al., 2005). Methanolic extracts (0.1 mL) were transferred into test tubes and mixed with 1.5 mL of saturated solution of sodium carbonate and 0.5 mL of diluted Folin-Ciocalteu reagent. It was filled with water up to 10 mL at room temperature. The mixture is allowed to stand at room temperature for 2 h then the absorbance was measured at 760 nm by using spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan). TPC was expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per kg of dry weight.

Antioxidant activity (AA) was determined according to the modified method of Wronkowska et al. (2010), using 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) as the free radical. Ground samples (1g) were extracted with 80% aqueous methanol (10 mL) and centrifuged at 3000 rpm for 10 min. The DPPH solution was prepared by mixing 10 mg of DPPH with 25 mL of 80% methanol. The supernatant (100 µL) was reacted with freshly made DPPH solution (250 µL) and 80% methanol (2 mL). After the mixture was incubated in the dark at room temperature for 20 minutes, the absorbance was measured at 517 nm against the blank composed of 80% methanol and the reagent solution without sample extract. AA was calculated as a percentage of discoloration:

$$AA\% = [1 - (\text{Abs sample}_{t=20} / \text{Abs control}_{t=0})] * 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Cooking properties

All noodle samples dried under different drying conditions were analyzed for cooking properties. For the determination of volume increase (VI), weight increase (WI) and cooking losses (CL), 10 g noodles were boiled in 300 mL of distilled water for 18 minutes. After draining and waiting for 2 min to remove residual water, the volumes of uncooked and cooked samples were determined by placing them in a graduated cylinder filled with a certain amount of water. Volume increase was calculated as shown in Equation 2. The weight

increase was determined by the differences between uncooked and cooked noodle weights and calculated as shown in Equation 3. To determine the CL, the cooking water (~300 mL) was evaporated and dried to dryness in an oven at 105 °C for 12 h in pre-weighted erlenmeyer flask and calculated as shown in Equation 4 (Bilgiçli, 2013).

$$VI(\%) = (\text{Cooked noodle volume} - \text{uncooked noodle volume}) * 100 / \text{uncooked noodle volume} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$WI(\%) = (\text{Cooked noodle weight} - \text{uncooked noodle weight}) * 100 / \text{uncooked noodle weight} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$CL(\%) = \text{Weight of dry residue} * 100 / \text{uncooked noodle weight} \quad (\text{Eq. 4})$$

Physical properties of noodle samples

All noodle samples dried under different drying conditions were analyzed for color parameters. The color of noodle samples were evaluated by measuring the L*(100=white; 0=black), a* (+, red; -, green) and b*(+, yellow; -, blue) values using Minolta CR-400 (Minolta Camera, Osaka, Japan). Chroma (C*) describes the brightness or vividness of color. Hue angle indicates the hue or intensity of noodle samples (Gómez et al., 2008; Bilgiçli, 2013). Chroma and hue angle were calculated according to following equations (Francis, 1998). Color values were measured at five different points on samples. Values are the mean of five measurements.

$$\text{Chroma (C*)} = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (\text{Eq. 5})$$

$$\text{Hue angle (hue)} = \arctan [b^*/a^*] \quad (\text{If } a > 0 \text{ and } b > 0) \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\text{Hue angle (hue)} = (\arctan [b^*/a^*] + 180^\circ) \quad (\text{If } a < 0 \text{ and } b > 0) \quad (\text{Eq. 7})$$

Textures of freshly cooked noodle samples were carried out with TAXT plus Texture Analyser (Stable Microsystems, Surrey, UK) equipped with a cutting device A/LKB-F. The maximum force required to determine the hardness (Fmax) was

taken from the graph of the force-time diagram (Schoenlechner et al., 2010).

Sensory analysis

Sensory evaluation was performed in raw and cooked noodle samples. For cooked noodle preparation, 100 g noodle sample was boiled in 500 mL of unsalted water for 18 min and drained to remove excess water. Noodle samples were served to 14 panelists (male and female) to evaluate the surface smoothness, speck, crack and appearance of uncooked noodle and taste, odor, stickiness and chewiness of cooked noodle on a 1-9 scale where 1- dislike extremely, 9- like extremely. The samples were served in plastic dishes which were coded with letters, immediately after cooking. The sample presentation sequence was completely randomly selected to ensure that panelists are protected against any bias.

Statistical analysis

The data were analysed by using statistical software JMP 8.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA)

and expressed as the mean \pm standard deviation. The means which were statistically different from each other were compared using Tukey's HSD comparison test at a 5% confidence interval.

RESULTS AND DISCUSSION

Raw material properties

The chemical properties, mineral contents and color values of the raw materials used in the production of noodle samples are given in Table 1. As expected, legume flours showed higher ash, protein, fat, phytic acid, total phenolic content and antioxidant activity values compared to wheat flour. The ash, protein and fat content of the raw materials of the noodle samples ranged from 0.57% to 3.51%, 11.38% to 24.80% and 0.72% to 4.80%, respectively. Ca, Fe, Mg and Cu contents of all legume flours were found richer than wheat flour. In general, similar results were reported for the chemical composition of wheat flour and legume flours by Patterson et al. (2009), Mlyneková et al. (2014) and Demi et al. (2010).

Table 1. Some chemical properties, mineral contents and color values of wheat flour and legume flours

	Wheat flour	Lentil flour	Faba bean flour	Chickpea flour	Common bean flour
Ash (%)	0.57 \pm 0.03 ^e	3.06 \pm 0.02 ^c	3.22 \pm 0.03 ^b	2.43 \pm 0.04 ^d	3.51 \pm 0.01 ^a
Protein (%)	11.38 \pm 0.20 ^d	23.15 \pm 0.16 ^b	24.80 \pm 0.21 ^a	21.45 \pm 0.14 ^c	22.73 \pm 0.11 ^b
Fat (%)	0.72 \pm 0.10 ^d	3.02 \pm 0.13 ^c	3.76 \pm 0.17 ^b	4.80 \pm 0.18 ^a	3.11 \pm 0.14 ^c
PA (mg/100g)	162.50 \pm 5.37 ^e	1080.60 \pm 6.70 ^a	710.40 \pm 9.19 ^d	820.50 \pm 6.51 ^c	951.78 \pm 7.31 ^b
PP (mg/100g)	45.83 \pm 2.79 ^e	304.74 \pm 2.81 ^a	200.34 \pm 2.40 ^d	231.39 \pm 0.83 ^c	268.41 \pm 1.23 ^b
TPC (mg GAE/kg)	438.52 \pm 6.25 ^e	1520.76 \pm 8.57 ^b	1813.08 \pm 6.19 ^a	966.92 \pm 7.81 ^c	836.15 \pm 7.03 ^d
AA (Inhibition%)	8.92 \pm 0.31 ^e	54.25 \pm 0.52 ^b	56.42 \pm 0.34 ^a	38.74 \pm 0.61 ^d	41.34 \pm 0.42 ^c
Ca (mg/100g)	24.70 \pm 2.62 ^e	47.64 \pm 1.17 ^d	72.56 \pm 2.06 ^c	85.70 \pm 2.40 ^b	132.40 \pm 3.11 ^a
Fe (mg/100g)	2.15 \pm 0.10 ^e	4.77 \pm 0.04 ^a	2.80 \pm 0.03 ^d	3.62 \pm 0.07 ^c	3.96 \pm 0.06 ^b
Mg (mg/100g)	38.55 \pm 0.48 ^e	83.70 \pm 0.64 ^c	121.30 \pm 0.37 ^a	76.37 \pm 0.57 ^d	118.60 \pm 0.89 ^b
Cu (mg/100 g)	0.21 \pm 0.03 ^d	0.46 \pm 0.02 ^b	0.53 \pm 0.03 ^{ab}	0.34 \pm 0.04 ^c	0.58 \pm 0.01 ^a
L*	95.62 \pm 0.55 ^a	62.59 \pm 0.27 ^e	80.16 \pm 0.43 ^d	84.33 \pm 0.21 ^c	86.46 \pm 0.31 ^b
a*	-0.81 \pm 0.04 ^d	0.15 \pm 0.02 ^b	-0.07 \pm 0.05 ^c	-0.79 \pm 0.03 ^d	0.99 \pm 0.06 ^a
b*	8.41 \pm 0.13 ^e	20.61 \pm 0.10 ^b	14.67 \pm 0.14 ^d	29.51 \pm 0.23 ^a	15.31 \pm 0.25 ^c
C*	8.45 \pm 0.14 ^e	20.61 \pm 0.10 ^b	14.67 \pm 0.13 ^d	29.52 \pm 0.24 ^a	15.35 \pm 0.25 ^c
hue	95.50 \pm 0.17 ^a	89.59 \pm 0.13 ^c	90.26 \pm 0.25 ^c	91.53 \pm 0.21 ^b	86.29 \pm 0.20 ^d

The means with the different letter in row are significantly different ($P < 0.05$); Results are dry-weight basis; PA: Phytic acid; PP: Pyhtate phosphorus; TPC: Total phenolic content ; AA: Antioxidant activity

Legume flours have lower lightness (L*) and hue, higher yellowness (b*) and chroma (C*) values than wheat flour. The highest redness (a*) value

was obtained with common bean flour. Lentil flour showed the lowest L* whereas chickpea flour showed the highest b* values. Dry noodle

quality largely depends on flour characteristics and conditions during noodle preparation (Oh et al., 1985a).

Chemical properties of noodle samples

Ash, protein, fat, phytic acid and phytate phosphorus values were significantly ($P < 0.05$) affected by the legume flour addition (Table 2). Ash and protein content of noodle samples ranged between 1.10-1.58%, 13.10-17.89%,

respectively. The low ash content in flour is always an advantage for noodles since flour ash is traditionally viewed as causing noodle discoloration (Oh et al., 1985b). The highest protein content in noodle samples was obtained by the addition of faba bean flour. It has been reported that pulses contain relatively high amounts of protein and are an indispensable source of dietary protein (Tiwari and Singh, 2012).

Table 2. Some chemical properties of noodle samples prepared with legume flours

	Ratio (%)	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	Phytic acid (mg/100g)	Phytate phosphorus (mg/100g)
Control	0	1.10±0.06 ^d	13.10±0.16 ^c	2.31±0.16 ^c	148.92±4.70 ^e	42.00±2.62 ^d
Lentil	30	1.38±0.04 ^{b^c}	16.90±0.25 ^b	2.74±0.10 ^{b^c}	418.70±6.53 ^a	118.08±3.79 ^a
Faba bean	30	1.50±0.03 ^{a^b}	17.89±0.11 ^a	3.07±0.14 ^{a^b}	306.12±6.11 ^d	86.33±2.44 ^c
Chickpea	30	1.24±0.05 ^{c^d}	16.56±0.20 ^b	3.51±0.21 ^a	338.50±3.82 ^c	95.46±4.33 ^{b^c}
Common bean	30	1.58±0.04 ^a	16.72±0.27 ^b	2.80±0.13 ^{b^c}	368.20±4.95 ^b	103.84±2.88 ^b

The means with the different letter in column are significantly different ($P < 0.05$); Results are dry-weight basis.

The fat content of noodle samples increased from 2.31(control) to 3.51% by the addition of chickpea flour. Unlike other pulses and cereals, chickpeas are reported to have a relatively high fat content (Messina, 1999; Asif et al., 2013). The phytic acid and phytate phosphorus contents of control noodle samples increased from 148.92 to 418.70 mg/100g and from 42.00 to 118.08 mg/100g, respectively, with legume flour usage in accordance with Herken et al. (2007) who found that addition of cowpea flour (10, 15 and 20%) to the formulation increased the phytic acid content of macaroni samples. Similarly, Demi et al. (2010) reported that chickpea flour in noodle formulation at 0-50% levels increased the phytic acid content from 182.5 to 515.30 mg/100g. The highest phytic acid and phytate phosphorus values were obtained in noodle samples prepared with lentil flour.

Mineral contents of noodle samples are presented in Table 3. The Ca, Fe, Mg and Cu contents of noodle samples containing legume flours increased from 26.30 to 74.52 mg/100g, 2.27 to 4.92 mg/100g, 41.36 to 65.38 mg/100g and 0.28 to 0.51 mg/100g, respectively, compared to control. In noodle samples, the highest increases in mineral content by using legume flour were 2.8 times in Ca, 2.2 times in Fe, 1.6 times in Mg and 1.8 times in Cu. The rich mineral contents of legume flours (Table 1) are directly reflected in the mineral content of the final product. Tiwari and Singh (2012) reported that pulses are good source of phosphorus (P), potassium (K), calcium (Ca) and magnesium (Mg). Bilgiçli (2013) reported that chickpea and soy flour in gluten-free noodle formulation caused a significant increase in the mineral content of the end product.

Table 3. Mineral contents of noodle samples prepared with legume flours

	Ratio (%)	Ca (mg/100g)	Fe (mg/100g)	Mg (mg/100g)	Cu (mg/100g)
Control	0	26.30±1.27 ^d	2.27±0.04 ^d	41.36±0.34 ^e	0.28±0.04 ^b
Lentil	30	48.65±1.61 ^c	4.92±0.07 ^a	47.83±0.33 ^c	0.35±0.01 ^b
Faba bean	30	65.13±2.21 ^b	4.63±0.03 ^b	65.38±0.40 ^a	0.51±0.06 ^a
Chickpea	30	51.40±2.39 ^c	3.18±0.04 ^c	46.21±0.27 ^d	0.32±0.03 ^b
Common bean	30	74.52±1.95 ^a	3.21±0.06 ^c	62.75±0.38 ^b	0.41±0.04 ^{a^b}

The means with the different letter in column are significantly different ($p < 0.05$); Results are dry-weight basis.

All legume flours significantly increased total phenolic content and antioxidant activity values of noodle samples ($P < 0.05$). Total phenolic contents and antioxidant activity values of noodle samples containing legume flours ranged from 767.83 to 1030.66 mg GAE/kg and 18.86 to 25.54%, respectively (Table 4). The total phenolic contents and antioxidant activity values of the control samples were 430.76 mg GAE/kg and 7.94%, respectively. High total phenolic content

and antioxidant activity values of legume flours affected the results of the end product. Similarly, Levent (2019) reported that the use of legume hulls and flours in gluten-free tarhana formulation significantly increased total phenolic content and antioxidant activity of tarhana samples. Legumes contain varied amounts of polyphenols and possess a wide range of antioxidant activity (Bouchenak and Lamri-Senhadj, 2013).

Table 4. Cooking properties, total phenolic content and antioxidant activity values of noodle samples prepared with legume flour

	Volume increase (%)	Weight increase (%)	Cooking loss (%)	TPC (mg GAE/kg)	AA (%Inhibition)
<i>Noodle types</i>					
Control	225.85±2.60 ^a	178.35±2.60 ^c	7.43±0.12 ^c	430.76±25.37 ^e	7.94±0.42 ^c
Lentil	248.48±83.82 ^a	210.27±16.18 ^{ab}	9.12±1.06 ^a	918.16±39.78 ^b	23.82±3.16 ^a
Faba bean	249.52±23.82 ^a	203.20±31.73 ^{abc}	7.60±0.58 ^{bc}	1030.66±36.59 ^a	25.54±2.51 ^a
Chickpea	231.32±67.83 ^a	190.13±14.41 ^{bc}	8.93±0.66 ^a	872.03±33.01 ^c	20.28±2.93 ^b
Common bean	265.46±46.59 ^a	223.00±23.29 ^a	8.68±0.40 ^{ab}	767.83±46.89 ^d	18.86±2.55 ^b
<i>Drying conditions</i>					
Room	254.27±17.66 ^a	184.92±9.69 ^b	8.46±0.95 ^a	776.15±222.36 ^b	17.18±5.72 ^c
Oven	287.77±39.17 ^a	204.99±19.40 ^a	8.54±1.22 ^a	789.79±205.09 ^b	18.64±6.08 ^b
Microwave	190.35±36.91 ^b	213.06±31.51 ^a	8.07±0.50 ^a	845.72±221.46 ^a	22.05±7.77 ^a

The means with the different letter in column for noodle types and drying conditions are significantly different ($p < 0.05$); TPC: Total phenolic content; AA:Antioxidant activity.

Among the noodle samples, the highest antioxidant activity values were obtained in noodles containing faba bean flour and lentil flour, followed by noodles containing chickpea and common bean flour. Amarowicz and Shahidi (2018) investigated the polyphenolic profiles and antioxidant properties of faba bean extract and faba bean was reported as a potentially valuable legume crop with high antioxidant potential.

The highest total phenolic content and antioxidant activity values were determined in microwave-dried samples. Değirmencioglu et al. (2016) used oat flour (20-100%, w/w) in tarhana formulation and fermented dough samples were dried by different drying methods: (Sun dried, 5 days at 20 °C; Oven dried: 48 h at 55 °C; Microwave dried: 15 min at 900 W, 2450 MHz). It was reported that oven- and microwave- drying can be recommended to retain the highest for phenolic compounds as well as maximal antioxidant capacity in enriched tarhana samples.

Cooking properties of noodle samples

The cooking quality of noodle is one of the most important noodle properties for consumers. VI, WI and CL values for noodle samples are presented in Table 4. VI and WI values increased from 225.85% (control) to 265.46% and 178.35% (control) to 223.00% with the use of legume flour, respectively. However, these increases were not statistically significant in VI and in WI (except lentil and common bean) compared to control. On the other hand, it was reported that 30% or more of chickpea flour decreased the volume and weight increase values of noodles samples compared to control (Demi et al., 2010). In this study, the dilution of wheat gluten and starch by using legume flour was tried to be eliminated with vital wheat gluten. Therefore, the use of legume flour may not decrease the VI and WI values. The cooking loss values of noodle samples were higher than the control samples except for the noodle samples containing faba bean flour in accordance with Gallegos-Infante et al. (2012)

who found that the addition of 30% common bean flour to semolina increased the CL of spaghetti samples. In a study, the semolina used in the spaghetti formulation was replaced with 5-30% milled flours of green pea, yellow pea, chickpea and lentil. CL was reported to increase with the increase in legume flour content (Zhao et al., 2005). Due to the replacement of wheat protein with legume protein, cooking losses can be attributed to structural changes in the protein network (Torres et al., 2007).

Microwave-dried samples had the lowest VI in noodle samples. Oven and microwave drying improved WI values of samples. In this study, 50 °C was used for oven drying. In the study by Padalino et al. (2016), spaghetti samples were dried using different temperature profiles: 50 °C (very low temperature), 65 °C (low temperature), 75 °C (high temperature), 80 °C and 90 °C (very high temperature). Similarly, the sample dried at 50 °C and 65 °C was reported to exhibit a significant increase in water absorption compared to the sample dried at 90 °C. This was attributed to the fact that the higher drying temperature increases the hydrophobic properties of the gluten network and limits the water absorption behavior (Padalino et al., 2016).

Microwave drying yielded a low cooking loss value but this difference was not significantly different from room and oven-dried samples. Pongpichaiudom and Songsermpong (2018) reported that the higher drying rate of microwave drying compared to infrared drying and hot air drying results in less cooking loss. In another study, it was reported that microwave caused reduction in total organic matter (TOM) of pasta samples, which is the amount of organic matter released from the cooked pasta during exhaustive rinsing compared to conventional drying. Comparison of TOM mean values of samples dried by hot air and microwaves showed no significant difference (De Pilli et al., 2009).

Physical properties of noodle samples

Color values of noodle samples are presented in Table 5. Yellow color and bright appearance are preferred in Turkish noodles (Özkaya et al., 2001).

The use of legume flours significantly reduced the lightness (L^*) of noodle samples, except common bean flour ($P < 0.05$). Zhao et al. (2005) reported that the color of spaghetti samples became darker with the increase of legume flours in the formulation ($P < 0.05$). Negative correlation of protein content with L^* was reported by Kaur et al. (2015). Oven-dried noodle samples showed the highest, while microwave-dried samples showed the lowest lightness values. Hayta et al. (2002) used different drying methods (home and industrial type microwave drying, tunnel drying and freeze drying) in tarhana production. Freeze-dried tarhana samples were reported to have the highest lightness and the home microwave-dried samples had the lowest lightness value (Hayta et al., 2002). Noodle samples containing chickpea flour had the highest yellowness (b^*) and chroma (C^*) values. The microwave-dried samples revealed the highest redness (a^*) and yellowness (b^*) values. Mohammed et al. (2012) reported that as the chickpea flour level increased in bread formulation, a^* and b^* values of bread crumb increased. A more red and yellow crumb was obtained by replacing chickpea flour. It has been reported that discoloration may be caused by non-enzymatic browning reactions between proteins and carbohydrates or by the destruction of naturally occurring pigments by heat treatment (Hayta et al., 2002).

The firmness is defined as the resistance that occurs during biting in cooked noodles (Schoenlechner et al., 2010). In general, the use of legume flour in noodle formulation increased the firmness value (Table 5). Similarly, Zhao et al. (2005) reported that firmness of the spaghetti samples prepared with legume flours (5% to 30%) increased with an increase in legume flour content. According to the drying conditions, it was found that the firmness values of noodle samples were not statistically different from each other. De Pilli et al. (2009) compared the effects of microwave and conventional drying (hot air) on the quality characteristics of cooked pasta and reported that pasta dried by microwaves had a higher firmness than samples dried by hot air.

The effects of drying conditions on noodle quality

Table 5. Some physical properties of noodle samples prepared with legume flours

	L*	a*	b*	C*	hue	Firmness (g)
<i>Noodle types</i>						
Control	85.63±2.72 ^a	1.57±1.28 ^a	18.38±3.34 ^b	16.64±0.71 ^b	85.54±2.89 ^{bc}	310.83±24.72 ^{bc}
Lentil	76.10±3.87 ^d	0.97±1.64 ^b	18.30±4.10 ^b	18.36±4.20 ^b	87.73±4.10 ^a	286.38±24.26 ^c
Faba bean	78.94±4.27 ^c	1.74±1.56 ^a	17.51±3.54 ^b	17.62±3.69 ^b	84.94±3.71 ^c	380.13±26.50 ^a
Chickpea	82.55±3.46 ^b	1.75±1.84 ^a	24.51±2.34 ^a	24.62±2.48 ^a	86.21±3.71 ^b	369.93±32.15 ^a
Common bean	84.48±3.46 ^a	1.52±1.39 ^a	18.24±2.88 ^b	18.32±3.01 ^b	85.70±3.34 ^{bc}	353.17±22.02 ^{ab}
<i>Drying conditions</i>						
Room	82.55±4.21 ^b	0.76±0.37 ^b	17.81±3.30 ^b	17.83±3.29 ^b	87.46±1.39 ^b	348.52±45.95 ^a
Oven	84.72±2.90 ^a	0.29±0.34 ^c	16.87±2.92 ^b	16.94±2.93 ^b	89.05±1.23 ^a	340.16±46.35 ^a
Microwave	77.35±4.22 ^c	3.48±0.40 ^a	23.48±2.13 ^a	22.58±3.57 ^a	81.57±0.73 ^c	331.59±41.85 ^a

The means with the different letter in column for noodle types and drying conditions are significantly different ($P < 0.05$).

Sensory analysis

The use of faba bean flour in noodle formulation reduced all sensory attributes in raw samples (Table 6). Noodle samples dried at room conditions received higher scores in terms of surface smoothness and appearance compared to oven and microwave-dried samples. Drying conditions did not significantly affect the speck and crack scores of noodle samples. The control samples received the highest taste scores among the noodle samples; this was followed by noodle samples containing lentil, chickpea, common bean and faba bean flour. Zhao et al. (2005) used green pea, yellow pea, chickpea and lentil flours in spaghetti formulation (5 and 30%) and reported that spaghetti samples containing legume flour had beany off-flavor, which might be derived from the raw legume flour. In this study, legume flour was obtained after soaking, cooking, drying and milling of legumes. For that reason noodles

containing legume flours had no beany off-flavor. Microwave-dried samples had higher taste scores than oven-dried samples. In the study by Pongpichaiudom and Songsermpong (2018), microwave-dried instant noodle had a higher score than fried samples in terms of odor, texture, and overall acceptability. Noodle samples containing legume flours had similar or lower taste, odor and chewiness scores compared to the control samples. Noodle types and drying conditions did not significantly affect the stickiness of noodles. Noodles containing faba bean flour had the lowest chewiness scores among the noodle samples. High flour protein causes a strong adhesion between starch and protein, thus resulting in a tight noodle structure (Oh et al., 1985b). In general, the sensory analysis scores of microwave-dried cooked noodles were found to be similar or higher than those dried in other drying conditions (Table 7).

Table 6. Sensory properties of raw (uncooked) noodle samples

	Surface smoothness	Speck	Crack	Appearance
<i>Noodle types</i>				
Control	8.57±0.45 ^a	7.83±0.46 ^{ab}	8.43±0.37 ^{ab}	8.73±0.37 ^a
Lentil	8.13±0.62 ^{ab}	7.43±0.43 ^b	7.90±0.62 ^b	8.03±0.73 ^b
Faba bean	6.77±0.76 ^c	5.23±0.71 ^c	6.73±0.33 ^c	6.90±0.50 ^c
Chickpea	7.73±0.61 ^b	8.40±0.25 ^a	8.63±0.16 ^a	8.63±0.16 ^{ab}
Common bean	8.0±0.67 ^{ab}	7.57±0.30 ^b	8.30±0.33 ^{ab}	8.57±0.38 ^{ab}
<i>Drying conditions</i>				
Room	8.38±0.57 ^a	7.58±0.94 ^a	8.18±0.81 ^a	8.56±0.63 ^a
Oven	7.54±0.94 ^b	7.18±1.17 ^a	7.92±0.70 ^a	7.90±0.80 ^b
Microwave	7.60±0.77 ^b	7.12±1.44 ^a	7.90±0.86 ^a	8.06±0.92 ^b

The means with the different letter in column for noodle types and drying conditions are significantly different ($P < 0.05$).

Table 7. Sensory properties of cooked noodle samples

	Taste	Odor	Stickiness	Chewiness
<i>Noodle types</i>				
Control	8.23±0.41 ^a	8.37±0.34 ^a	8.57±0.29 ^a	7.77±0.34 ^a
Lentil	7.23±1.21 ^b	7.87±0.28 ^{ab}	8.47±0.22 ^a	7.17±0.45 ^{ab}
Faba bean	5.77±0.46 ^c	7.27±0.42 ^c	8.33±0.33 ^a	4.83±0.71 ^c
Chickpea	6.83±0.35 ^b	7.83±0.12 ^{abc}	8.50±0.21 ^a	6.83±0.38 ^b
Common bean	6.27±0.36 ^{bc}	7.40±0.46 ^{bc}	8.27±0.31 ^a	7.0±0.61 ^{ab}
<i>Drying conditions</i>				
Room	6.82±1.00 ^{ab}	7.80±0.33 ^a	8.46±0.26 ^a	6.54±1.19 ^b
Oven	6.50±0.96 ^b	7.62±0.68 ^a	8.36±0.29 ^a	6.56±1.31 ^{ab}
Microwave	7.28±1.13 ^a	7.82±0.49 ^a	8.46±0.31 ^a	7.06±0.84 ^a

The means with the different letter in column for noodle types and drying conditions are significantly different ($P < 0.05$).

CONCLUSION

In this study, the effects of legume flours addition and different drying techniques on noodle quality were investigated. Legume flours significantly increased the ash, protein, fat, Ca, Fe, Mg, Cu, total phenolic contents and antioxidant activity of noodle samples ($P < 0.05$). Phytic acid and phytate phosphorus content increased by using legume flour in noodle samples. Microwave and oven-dried samples gave the highest WI value in noodle samples. While drying conditions did not affect CL, microwave-dried samples gave the highest total phenolic content and antioxidant activity values. The lightness values of the legume flour added samples decreased except for common bean flour samples. Microwave drying decreased lightness and increased redness and yellowness values in noodle samples. The control and noodle samples containing lentil flour had a lower firmness values than the other samples. The use of faba bean flour in uncooked noodle samples decreased all sensory properties. As a result of this study, it was determined that legume flour is an important ingredient for nutritional enrichment of cereal products and microwave drying can be recommended for drying of pasta products to keep bioactive components. In future studies, pasta-type products can be dried at different high temperature norms or by different drying techniques and results can be compared with microwave drying method.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Karamanoğlu Mehmetbey University, Scientific and

Technological Researches Application and Research Center for technical support.

REFERENCES

- AACC. (2000). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists* (8th ed.). St. Paul, MN: AACC International.
- Altan, A., Maskan, M. (2005). Microwave assisted drying of short-cut (ditalini) macaroni: Drying characteristics and effect of drying processes on starch properties. *Food Res Int*, 38, 787-796, doi: 10.1016/j.foodres.2005.02.006.
- Amarowicz, R., Shahidi, F. (2018). Antioxidant activity of faba bean extract and fractions thereof. *J Food Bioactives*, 2, 112-118, doi: 10.31665/JFB.2018.2146.
- Asif, M., Rooney, L.W., Ali, R., Riaz, M.N. (2013). Application and opportunities of pulses in food system: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53, 1168-1179, doi: 10.1080/10408398.2011.574804.
- Basman, A., Yalcin, S. (2011). Quick-boiling noodle production by using infrared drying. *J Food Eng*, 106, 245-252, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.05.019.
- Berteli, M.N., Marsaioli Jr, A. (2005). Evaluation of short cut pasta air dehydration assisted by microwaves as compared to the conventional drying process. *J Food Eng*, 68, 175-183, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.04.043.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapiststein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity

- of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chem*, 82, 390-393, doi: 10.1094/CC-82-0390.
- Biçer, Ü.N.S. (2018). Determination of heavy metal contents in some varieties of molasses produced in Karaman with ICP-OES and AAS methods. Ms Thesis, Karamanoğlu Mehmetbey University, Karaman, Turkey, 152 p.
- Bilgiçli, N. (2009). Effect of buckwheat flour on cooking quality and some chemical, antinutritional and sensory properties of erişte, Turkish noodle. *Int J Food Sci Nutr*, 60(sup4), 70-80, doi: 10.1080/09637480802446639.
- Bilgiçli, N. (2013). Some chemical and sensory properties of gluten-free noodle prepared with different legume, pseudocereal and cereal flour blends. *J Food and Nutr Res*, 52, 251-255.
- Bouchenak, M., Lamri-Senhadj, M. (2013). Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *J Med Food*, 16, 185-198, doi: 10.1089/jmf.2011.0238.
- De Pilli, T.D., Giuliani, R., Derossi, A., Severini, C. (2009). Study of cooking quality of spaghetti dried through microwaves and comparison with hot air dried pasta. *J Food Eng*, 95, 453-459, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.06.005.
- Değirmenciöglü, N., Gürbüz, O., Herken, E.N., Yıldız, A.Y. (2016). The impact of drying techniques on phenolic compound, total phenolic content and antioxidant capacity of oat flour tarhana. *Food Chem*, 194, 587-594, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.065.
- Demi, B., Bilgiçli, N., Elgün, A., Demi, M.K. (2010). Effects of chickpea flours and whole egg on selected properties of erişte, Turkish noodle. *Food Sci Technol Res*, 16, 557-564, doi: 10.3136/fstr.16.557.
- Francis, F.J., (1998). Colour analysis, In: *Food analysis*, Nielsen SS (Ed), An Aspen Publishers, Maryland, Gaithersburg, USA, 599-612.
- Gallegos-Infante, J.A., Rivas, M.G., Chang, S., Manthey, F., Yao, R.F., Reynoso-Camacho, R., ... Gonzalez-Laredo, R.F. (2012). Effect of the addition of common bean flour on the cooking quality and antioxidant characteristics of spaghetti. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*, 2, 730-744.
- Gao, L., Wang, S., Oomah, B.D. and Mazza, G., (2002). Wheat quality: antioxidant activity of wheat millstreams. In: Ng, P., Wrigley, C.W. (Eds.), *Wheat Quality Elucidation*. AACC International, St. Paul, MN, 219-233.
- Geil, P.B., Anderson, J.W. (1994). Nutrition and health implications of dry beans: a review. *J Am Coll Nutr*, 13, 549-558, doi: 10.1080/07315724.1994.10718446.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C. M., Pando, V., Fernández, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat-chickpea flour blends. *LWT-Food Sci Technol*, 41(9): 1701-1709, doi: 10.1016/j.lwt.2007.11.024.
- Gowen, A., Abu-Ghannam, N., Frias, J., Oliveira, J. (2006). Optimisation of dehydration and rehydration properties of cooked chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing microwave-hot air combination drying. *Trends Food Sci Tech*, 17, 177-183, doi: 10.1016/j.tifs.2005.11.013.
- Haug, W. and Lantzsch, H.J., 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal product. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1423-1426, doi: 10.1002/jsfa.2740341217.
- Hayta, M., Alpaslan, M., Baysar, A. (2002). Effect of drying methods on functional properties of tarhana: A wheat flour-yogurt mixture. *J Food Sci*, 67, 740-744, doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10669.x.
- Herken, E.N., İbanoğlu, Ş., Öner, M.D., Bilgiçli, N., Güzel, S. (2007). Effect of storage on the phytic acid content, total antioxidant capacity and organoleptic properties of macaroni enriched with cowpea flour. *J Food Eng*, 78, 366-372, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.10.005.
- Iqbal, A., Khalil, I. A., Ateeq, N., Khan, M.S. (2006). Nutritional quality of important food legumes. *Food Chem*, 97, 331-335, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.011.
- Kaur A., Singh N., Kaur S., Katyal M., Virdi A.S., Kaur D., Ahlawat A.K., Singh A.M. (2015) Relationship of various flour properties with noodle making characteristics amongst durum

- wheat varieties. *Food Chem*, 188, 517–526, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.05.009.
- Levent, H. (2019). Physical, chemical and sensory evaluation of gluten-free tarhana with legume hulls and flours. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 1-10, doi: 10.3920/QAS2018.1538
- Maskan, M. (2001). Drying, shrinkage and rehydration characteristics of kiwifruits during hot air and microwave drying. *J Food Eng*, 48, 177-182, doi: 10.1016/S0260-8774(00)00155-2.
- Maurer, R.L., Tremblay, M.R., Chadwick, E.A. (1971). Microwave of pasta: improves product, reduces cost and production time, *Food Technol*, 25, 32–37.
- Messina, M. J. (1999). Legumes and soybeans: Overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr*, 70:439S–450S, doi: 10.1093/ajcn/70.3.439s.
- Mlyneková, Z., Chrenková, M., Formelová, Z. (2014). Cereals and Legumes in Nutrition of People with Celiac. *Int J Celiac Dis*, 2, 105-109, doi: 10.12691/ijcd-2-3-3.
- Mohammed, I., Ahmed, A. R., Senge, B. (2012). Dough rheology and bread quality of wheat–chickpea flour blends. *Ind Crop Prod*, 36, 196-202, doi: 10.1016/j.indcrop.2011.09.006.
- Mujumdar, A.S., Law, C.L. (2010). Drying technology: Trends and applications in postharvest processing, *Food Bioprocess Tech*, 3, 843-852, doi: 10.1007/s11947-010-0353-1.
- Torres, A., Frias, J., Granito, M., Vidal-Valverde, C. (2007). Germinated *Cajanus cajan* seeds as ingredients in pasta products: Chemical, biological and sensory evaluation. *Food Chem*, 101, 202-211, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.01.018.
- Ogawa, T., Chuma, A., Aimoto, U., Adachi, S. (2017). Effects of drying temperature and relative humidity on spaghetti characteristics. *Drying Technology*, 35(10): 1214-1224, doi: 10.1080/07373937.2016.1236812
- Oh, N.H., Seib, P.A., Chung, D.S. (1985a). Noodles III. Effects of processing variables on quality characteristics of dry noodles. *Cereal Chem*, 62, 437-440.
- Oh, N.H., Seib, P.A., Ward, A.B., Deyoe, C.W. (1985b). Noodles IV. Influence of flour protein, extraction rate, particle size, and starch damage on the quality characteristics of dry noodles. *Cereal Chem*, 62, 441-446.
- Özkaya, B., Özkaya, H., Buyukikiz, E. (2001). The cooking properties of Eriste (Turkish noodle) produced by traditional methods. *Getreide Mehl und Brot*, 55, 120–125.
- Özkaya B, Özkaya H, Bayrak H, Gökpinar F. (2004). The effect of drying process on the quality of erişte In: Proceedings of the Traditional Foods Symposium Van, Yüzüncü Yıl University, Turkey, 60–66.
- Padalino, L., Caliendo, R., Chita, G., Conte, A., Del Nobile, M.A. (2016). Study of drying process on starch structural properties and their effect on semolina pasta sensory quality. *Carbohydr Polym*, 153, 229-235, doi: 10.1016/j.carbpol.2016.07.102
- Patterson, C.A., Maskus, H., Dupasquier, C. (2009). Pulse crops for health. *Cereal Food World*, 54(3), 108, doi: 10.1094/CFW-54-3-0108.
- Pongpichaiudom, A., Songsermpong, S. (2018). Characterization of frying, microwave-drying, infrared-drying, and hot-air drying on protein-enriched, instant noodle microstructure, and qualities. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(3), e13560, doi: 10.1111/jfpp.13560
- Rockland, L. B., Radke, T.M. (1981). Legume protein quality. *Food Technology (USA)*.
- Schoenlechner, R., Drausinger, J., Ottenschlaeger, V., Jurackova, K., & Berghofer, E. (2010). Functional properties of gluten-free pasta produced from amaranth, quinoa and buckwheat. *Plant Foods Hum Nutr*, 65(4): 339-34, doi: 10.1007/s11130-010-0194-0.
- Singh, U., Singh, B. (1992). Tropical grain legumes as important human foods. *Economic Botany*, 46(3), 310-321, doi: 10.1007/BF02866630.
- Tiwari, B. K., Singh, N. (2012). *Pulse Chemistry and Technology*, Royal Society of Chemistry. United Kingdom: Royal Society of Chemistry Publishing.

Wronkowska, M., Zielińska, D., Szawara-Nowak, D.-Troszyńska, A. and Soral-Śmietana, M. (2010). Antioxidative and reducing capacity, macroelements content and sensorial properties of buckwheat enhanced gluten-free bread. *Int J Food Sci Tech*, 45, 1993–2000, doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02375.x.

Zhao, Y.H., Manthey, F.A., Chang, S.K., Hou, H.J., Yuan, S.H. (2005). Quality characteristics of spaghetti as affected by green and yellow pea, lentil, and chickpea flours. *J Food Sci*, 70(6), 371-376, doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb11458.x.



PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANILAN STARTER KÜLTÜRLER*

Şehriban Oğuz**, Seval Andiç

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye

Geliş / Received: 22.07.2019; Kabul / Accepted: 25.09.2019; Online baskı / Published online: 21.11.2019

Oğuz, Ş., Andiç, S. (2019). Peynir üretiminde kullanılan starter kültürler. *GIDA* (2019) 44 (6): 1174-1196
doi: 10.15237/gida.GD19121

Oğuz, Ş., Andiç, S. (2019). Starter cultures used for the manufacture of cheese. *GIDA* (2019) 44 (6): 1174-1196 doi:
10.15237/gida.GD19121

ÖZ

Ülkemizde ve dünyada üretilen sütün önemli bir kısmı dayanıklı mamullere işlenmekte ve bu ürünler içerisinde peynir, önemli bir yer tutmaktadır. Peynir, günümüzde çiğ ve/veya pastörize sütün yapılmaktadır. Çiğ sütün üretilen peynirlerin tüketilmesi sonucunda çeşitli enfeksiyon ve intoksikasyon riskleri bulunmaktadır. Bu nedenle endüstriyel olarak üretilen peynirlerin çoğunda pastörize süt kullanılmaktadır. Pastörizasyon işlemi, süt içerisinde bulunan ve ürünün kalitesini olumsuz yönde etkileyecek olan zararlı ve patojen mikroorganizmalar gibi bozulma etmenlerini yok etmektedir. Bu işlem ile peynir üretimi sırasında spontan asitlenmeyi ve peynirin olgunlaşmasını sağlayan laktik asit bakterilerinin de büyük kısmı inaktive olmaktadır. Bu nedenle alışılga gelen ve arzu edilen tat ve aromada standart kalitede bir ürün elde edebilmek için peynir üretiminde starter kültür kullanılması teknolojik bir zorunluluktur. Bu derlemede, peynir üretiminde kullanılan starter kültürler ve özellikleri hakkında bilgiler sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Peynir starterleri, starter kültür, birincil starter kültürler, doğal starter kültürler

STARTER CULTURES USED FOR THE MANUFACTURE OF CHEESE

ABSTRACT

Both globally and nationally, a significant portion of milk obtained is processed into durable dairy products, of which cheeses are the majority. Today, cheese is made from raw and/or pasteurized milk. There are various risks of infection and intoxication caused by consumption of cheeses made of raw milk. For this reason, pasteurized milk is generally used in most of the cheeses industrially manufactured. Pasteurization process eliminates some of the deterioration factors such as spoilage and pathogenic microorganisms. Meanwhile, the most of lactic acid bacteria, which provide spontaneous acidification and maturation of cheese during cheese production, are also inactivated by this heat treatment. Therefore, it is a technological requirement to use starter cultures in cheese production in order to get a standard quality along with usual and desirable taste and aroma. In this review, general information about these starter cultures, used in cheese production, is presented.

Keywords: Cheese starters, starter culture, primary starter cultures, natural starter cultures.

* Bu çalışma Şehriban Oğuz'un doktora çalışmasının bir bölümüdür / This paper is a part of Ph. D study of Şehriban Oğuz

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ sehribanoguz@yyu.edu.tr

☎ (+90) 432 225 1727 / 28340

☎ (+90) 432 225 1730

GİRİŞ

Süt, içerisinde bulunan bileşenler nedeniyle insan beslenmesi açısından mükemmel bir gıda maddesidir (Metin, 2014). Çiğ sütün doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar ile sağım sırasında ve sonrasında kontaminasyonlar nedeniyle sütün içerisinde zengin bir mikrobiyota yer almaktadır. Sütün içerisinde bulunan yüksek besin içeriği bu mikrobiyotanın gelişimini desteklemektedir. Bu mikroorganizmaların sütün fermantasyonunu sağlamak (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium* ve bazı küfler ve mayalar), sütte bozulmalara neden olmak (*Pseudomonas*, sporlu bakteriler ve termodurik mikroorganizmalar), sağlığı destekleyici etki oluşturmak (*Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.) veya hastalıklara neden olmak (*Listeria*, *Salmonella*, patojenik *Escherichia coli*, *Campylobacter* ve mikotoksin üreten küfler) gibi bir takım rolleri vardır (Quigley vd., 2013; Panthi vd., 2017; Klaubauf ve Segers, 2018).

Süt, mikroorganizmaların gelişmesi için ideal bir ortam olması nedeniyle mikrobiyel bozulmalara karşı oldukça hassas bir maddedir (Kongo, 2013; Rakhmanova vd., 2018). Ülkemizde ve dünyada üretilen sütün önemli bir kısmı dayanıklı mamullere işlenerek hem sütün bozulması önlenmekte hem de tat, aroma ve yapı bakımından yeni süt ürünleri elde edilmektedir. Bu ürünler içerisinde peynir önemli bir yer tutmaktadır (Fox ve McSweeney, 2017; Sancak vd., 2018)

Peynir, dünyanın her yerinde çok çeşitli aroma ve formlarda üretilen, süt bazlı fermente bir gıda grubuna verilen ortak bir isimdir (Puniya vd., 2016; Fox vd., 2017a). Ayrıca insanlığın ürettiği en eski fermente gıdalardan biri olarak da bilinmektedir (Irlinger vd., 2015). Türk Gıda Kodeksi'nde ise "Hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz,

teknikğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünüdür" şekilde tanımlanmaktadır (Anonymous, 2015).

Peynir, en eski süt ürünlerinden biri olmakla birlikte dayanıklılığı yanında besin değeri ile toplumun gelişen damak zevki ve isteklerine yanıt verebilen önemli bir süt ürünüdür. Sütün pıhtılaştırılması ve peyniraltı suyunun ayrılmasından sonra pıhtının değişik şekillerde işlenmesiyle elde edilen peynir, taze veya çeşidine özgü tat, aroma ve tekstür kazanması için belirli bir süre olgunlaştırıldıktan sonra tüketime arz edilmektedir (Eroğlu ve Özcan, 2018). Uygurluğa geçişin ilk simgelerinden biri olarak görülen peynir, süt ürünleri içerisinde çeşitliliği en fazla olan üründür (Kamber, 2015). Peynir, eski zamanlarda sütün bozulmadan değerlendirilmesi için üretilen bir ürün iken günümüzde daha çok lezzeti ve besleyici özelliklerinden dolayı sevilerek tüketilen bir süt ürünü olmuştur (Sancak vd., 2018). Hem dünyada hem de ülkemizde gerek peynir üretimi gerekse de peynir tüketimi gün geçtikçe artmaktadır (Kara ve Akkaya, 2015).

Peynirin geçmişi yazılı tarih öncesine kadar dayanmakta ise de ilk kez nerede, ne zaman ve kim tarafından üretildiğine ilişkin kesin bilgiler bulunmamaktadır. Çok uzun yıllar önce Orta Asya'da göçebe Türk boylarının peynir ve benzeri süt ürünlerini ürettikleri bilinmektedir. Avrupa tarihinde ise Roma Dönemi öncesine dayanmakla birlikte Asyalı gezginlerin peynircilik sanatını Avrupa'ya getirdikleri düşünülmektedir. Yazılı tarih kaynaklarında peynir üretiminin İ.Ö. 8000 (koyun ve keçinin ilk evcilleştirildiği dönem) ile İ.Ö. 3000 arasında bir döneme dayandırıldığı görülmektedir. Her ne kadar Orta Asya ve Ortadoğu ülkelerinde peynirin bilinirliği çok eski dönemlere kadar dayansa da iklim ve coğrafi avantajlarından dolayı peynir üretiminin Avrupa ülkelerinde yayılımı daha hızlı olmuştur (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Anonymous, 2017a).

Dünya genelinde çok farklı çeşitlerde peynirler bulunur. Dünyadaki peynir çeşitlerinin sayısı hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte bazı

kaynaklara göre 4000 civarında bazı kaynaklara göre ise 1800'ün üzerinde peynir çeşidi bulunmaktadır (Elmalı ve Uylaşer, 2012; Anonymous, 2018a). Aynı durum Türkiye'de de mevcut olup kimi kaynağa göre 50, kimi kaynağa göre 130 bazı kaynaklara göre ise 160 civarında peynir çeşidi ülkemizde üretilmektedir (Ebrahimi, 2013; Kırmacı vd., 2015; Sancak vd., 2018). Rakamlar arasındaki değişkenlik bazı peynirlerin üretim tekniklerinin farklı olmasına rağmen farklı bölgelerde aynı isimle, bazı peynirlerin ise üretim tekniklerinin aynı olmasına rağmen farklı bölgelerde farklı isimlerle anılmasından kaynaklanmaktadır. Ülkemizde üretimi ve tüketimi en fazla olan peynir çeşitleri Beyaz peynir, Kaşar peyniri ve Tulum peyniridir (Kamber, 2015; Kiraz, 2018). Son yıllarda geleneksel peynirlerin üretildiği şehirler dışından da talep görmesi nedeniyle Lor, Çeçil, Dil, Örgü, Otlu, Tel, Hellim ve Mihaliç gibi peynirlerin endüstriyel olarak üretimine başlanmış ve bu ürünlerin tanınırlığı artmıştır (Kamber, 2015; Soran, 2018).

Peynir üretiminde enzimatik ve asit pıhtılaştırma yöntemleri mevcuttur. Enzimatik pıhtılaştırma yönteminde başlıca süt, rennet (peynir mayası), starter kültür (birincil ve ikincil kültürler) ve tuz kullanılmaktadır (Gobbetti vd., 2015; Fox vd., 2017b). Peynir üretimi, bu dört bileşen arasındaki karmaşık bir etkileşimin/prosesin sonucu olarak meydana gelmektedir. Enzim kullanılarak gerçekleştirilen peynir üretimi pıhtı oluşumu, peyniraltı suyunun (PAS) uzaklaştırılması, asit üretimi ve tuz ilavesi gibi bir takım ortak adımlarla gerçekleştirilmekte ve bu işlemleri bir olgunlaşma periyodu izlemektedir. Bileşenlerin oranlarındaki değişimler ve sonrasında gerçekleşen işlemler peynir çeşitlerinin tat, aroma, yapı gibi bazı özelliklerinde farklılaşmalara neden olmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Karabıyık ve Erdoğan, 2018).

Çiğ sütlerin bakteriyolojik kalitesi önemli ölçüde farklılık gösterdiği için çiğ süttten üretilen peynirlerin tüketilmesi sonucunda çeşitli enfeksiyon ve intoksikasyon riskleri bulunmaktadır (Akan vd., 2016; Soran, 2018). Gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından güvenli ürün elde etmek amacıyla, endüstriyel olarak

üretilen peynirlerin çoğunda pastörize süt kullanılmaktadır (Hoier vd., 2010; Yüce, 2017). Fakat peynire işlenecek sütün pastörize edilmesi sonucunda süt içerisinde bulunan ve ürünün kalitesini olumsuz yönde etkileyecek olan zararlı ve patojen mikroorganizmalar gibi bozulma etmenleriyle birlikte peynir üretimi sırasında spontan asitlenmeyi ve peynirin olgunlaşmasını sağlayan laktik asit bakterilerinde büyük bir kısmı inaktive edilmektedir (Metin, 2014; Soran ve Çelik, 2018). Bu durumda istenilen (standart) kalitede peynir üretimi güçleşmektedir. Ayrıca pastörizasyonla inaktive edilemeyen ısıl işleme dirençli mikroorganizma sporları ya da peynir üretimi aşamalarında bulaşabilen mikroorganizmalar, sütte kolaylıkla gelişerek ortama egemen olmakta ve peynirde çeşitli kusurlara yol açmaktadırlar (Metin, 2014; Fox vd., 2017b).

Peynire işlenecek süte uygulanan ısıl işlem sıcaklığı, pıhtı işleme teknikleri gibi işlem parametrelerindeki değişiklikler peynir türlerine ait özelliklerin şekillenmesinde önemli bir rol oynarken peynir mikroflorasındaki mikroorganizmalar ise peynir çeşitlerine özgü tat, aroma ve yapı gibi özelliklerinin gelişmesinde kritik ve önemli bir rol oynamaktadır (Yaygın ve Kılıç, 1993; Kılıç, 2014, Yerlikaya, 2014). Bu nedenle alışlagelen ve arzu edilen tat ve aroma da standart kalitede bir ürün elde edebilmek için pastörizasyon işlemi ile kaybedilen laktik asit bakterilerinin süte ilave edilmesi teknolojik bir zorunluluktur (Quigley vd., 2013; Bachmann vd., 2015; Picon, 2018). Laktik asit bakterileri peynir üretimi sırasında laktozu laktik aside metabolize etme kabiliyetleri, olgunlaşma sırasında peynir lezzetinin gelişmesine katkıda bulunmaları ve oluşturdukları metabolitleri ile istenmeyen mikroorganizmaların inhibasyonunu sağlamaları nedeniyle peynir üretimi için önemli bir mikroflorayı temsil etmektedir (Bottari vd., 2013; Sgarbi vd., 2014; Demirgöl ve Sağdıç, 2017). Ayrıca bu bakterilerin bazıları probiyotik özellik de göstermektedir (Castro vd., 2016). Bu nedenlerle laktik asit bakterilerini içeren starter kullanımı, peynirlerin çoğunun üretiminde vazgeçilmez bir gerekliliktir (Johnson, 2013; Altieri vd., 2017).

Starter kültür ürüne özgü tat, aroma, yapının oluşmasını sağlamak ve gıdada bulunan zararlı mikroorganizmaların gelişimini sınırlamak amacıyla kullanılan faydalı mikroorganizmalardır (Metin, 2014). Starter kültür ayrıca “Gıda ham maddelerinin fermentasyonu için kullanılan ve kontrollü koşullar altında ürünün biyokimyasal bileşiminde ve duyuşal özelliklerinde spesifik değişiklikler meydana getirerek standart kalitede ürün elde edilmesini sağlayan mikroorganizmalardır” şeklinde de tanımlanmaktadır (Halkman ve Taşkın, 2001; Speranza vd., 2017).

Starter kültürler elde edilmiş kaynaklarına, işlevlerine, bileşim temeline (içerdikleri mikroorganizma suşuna) veya optimum gelişme sıcaklıklarına göre sınıflandırılabilirler.

- Elde edilmiş kaynaklarına göre doğal (artizanal) ve ticari (endüstriyel) starter kültürler,
- İşlevlerine göre starter (birincil) ve starter olmayan (ikincil/sekonder) kültürler,
- İçerdikleri mikroorganizma kompozisyonuna göre tanımlanmış ve tanımlanmamış suşlu starter kültürler,
- Optimum gelişme sıcaklıklarına göre mezofilik ve termofilik starter kültürler olmak üzere çeşitli sınıflara ayrılırlar (Rodríguez vd., 2012; Sulieman, 2017).

Starter olarak kullanılacak mikroorganizmalar, peynir üretiminden önce dikkatle seçilir ve peynir yapımı öncesinde belirlenen plan dâhilinde süte eklenirler. Bu kültürlerin öncelikli görevi asit üretiminden sorumlu olmalarıdır. Ayrıca peynirlerin olgunlaşması sırasında da önemli görevleri bulunmaktadır (Tunail ve Köşker, 1989; Kılıç, 2010; Hayaloğlu ve Özer, 2011; Vandera vd., 2019). Peynir çeşidine bağlı olarak starter kültürlerin kullanım şekli değişmektedir. Starter kültürler, tek tek veya çeşitli karışımlar şeklinde (*Lactococcus lactis* (subsp. *lactis*, subsp. *cremoris*, subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*), *Leuconostoc* spp., *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. delbrueckii* (subsp. *lactis* ve subsp. *bulgaricus*) ve bazı bilim adamlarına göre *Enterococcus* spp.) kullanılabilirler. Bu kültürler geleneksel yöntemler ile süt işletmelerinde üretilebileceği gibi ticari starter kültür olarak da

tedarikçilerinden temin edilebilmektedirler (Hoier vd., 2010; Gürsoy ve Türkmen, 2018).

ELDE EDİLİŞ KAYNAKLARINA GÖRE STARTER KÜLTÜRLER

Doğal (Artizanal) Starter Kültürler

Geleneksel (artizanal) peynirlerin üretimi sırasında çiğ süt kullanılmakta ve starter kültür kullanılmamaktadır (Riquelme vd., 2015; Rašović, 2017). Bu peynirlerin üretiminde çiğ süttten gelen ve canlılığını koruyarak çoğalan mikroorganizmaların oluşturduğu mikrofloradan yararlanılmaktadır (Kongo, 2013). Mikroorganizmaların zenginleşmesi sonucu ortama hâkim olan flora, peynir üretim sıcaklığında gelişebilen bakterilerin seçici zenginleşmesine neden olur. Bundan dolayı geleneksel peynirler ayırt edici ve farklı duyuşal özellikleri ile tanınmaktadır (Montel vd., 2014; Rašović, 2017).

Doğal starterler bakteriyolojik kalitesi yüksek çiğ süttten, peyniraltı suyundan (PAS) veya PAS ile rennin karışımından elde edilmekte olup 20. yüzyılın başlarına kadar peynir üretiminde bu doğal kültürlerden faydalanılmıştır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Fox ve Mcsweeney, 2017). Dünya çapında birçok peynirin üretiminde doğal starterlerin yerini ticari (endüstriyel) starterler alsa da özellikle İtalya, Fransa ve İsviçre gibi Avrupa ülkelerinde ve Güney Amerika’da PDO (Protected Designation of Origin – Korunmuş Menşe ünvanı) statüsündeki peynirlerin üretiminde doğal starterler yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde bu kültürler ile üretilen tanınmış çok sayıda peynir çeşidi bulunmaktadır. Minas, Parmigiano Reggiano, Grana Padano, Mozzarella, Emmental, Comté gibi çeşitler ile ülkemizde üretilen Kars Kaşarı bu peynirlerden sadece birkaçıdır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Gatti vd., 2014; Fox vd., 2017a).

Doğal starter kültürler peynir işletmelerinde günlük olarak üretilmekte olup arzu edilen mikroflora, çiğ süte ve PAS’a uygulanan bir takım seçici koşulların (ısı işlem, inkübasyon sıcaklığı, pH, rekabet ve/veya antagonizma) sonucunda elde edilmektedir. Amaç, seçici koşullara en iyi adapte olmuş suşları seçmektir. Kültürün

karmaşıklığı büyük ölçüde inkübasyon koşullarının seçiciliğine bağlıdır. Bu nedenle farklı tür ve/veya suşların tanımlanmamış karışımlarını içermektedirler. Doğal süt kültürlerinin mikrobiyolojik bileşimi, peynir üreticilerinin kültürü hazırlama işlemlerindeki farklılıkları dışında çığ sütün alındığı coğrafi farklılıklara göre de değişmektedir (Altieri vd., 2017; Parente vd., 2017). Bu kültürler, faj saldırılarına karşı genellikle dirençli olup faj varlığında çoğalabilirler (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Giraffa vd., 2018). Bunu farklı fajlara karşı geliştirdikleri “faja direnç mekanizmaları” ile sağlamaktadırlar. Laktik asit bakterilerinin faj adsorbsiyonunun engellenmesi, restriksiyon (sınırlama, kısıtlama)/modifikasyon sistemleri, abortif enfeksiyon, lizojenik bağışıklık, faja dayanıklı plazmidler ve birkaç yıl önce keşfedilen CRISPR/Cas sistemi olmak üzere çeşitli faj direnç mekanizmaları bulunmaktadır. Bakteriler bu mekanizmalardan birini bulundurabileceği gibi birden fazla mekanizmaya da sahip olabilmektedir (Kılıç, 2014; Zago vd., 2017; Hatti-Kaul vd., 2018).

Doğal starterlerin elde edilmesinde kullanılan maddelerden biri olan doğal PAS kültürlerinin hazırlanmasında genel olarak bir gün önce elde edilen PAS kullanılmaktadır (Guidone vd., 2016; Parente vd., 2017). Bu PAS'dan bir miktar alınarak içerisindeki bakterilerin gelişebilmesi/zenginleşebilmesi için uygun bir sıcaklık (42-50°C) ve sürede (yaklaşık 18-24 saat) inkübasyona bırakılır. Elde edilen bu kültüre “termofilik PAS kültürü” de denilmektedir (Rodríguez vd., 2012; Fox vd., 2017a). PAS'ın mikrobiyotasında çoğunlukla asidürik ve/veya *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis/bulgaricus* gibi homofermentatif termofilik laktik asit bakterileri baskındır. *Lb. helveticus* (> %85 - baskın flora), *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis/bulgaricus*, *Lb. fermentum* ve *S. thermophilus* ortama hakim olan bakterilerdir (Gatti vd., 2014; Guidone vd., 2016; Coloretto, 2017). Elde edilen düşük pH'lı (pH 4.0 - 4.5) starter kültür Grana Padano, Parmigiano Reggiano gibi ekstra sert peynirlerin, Arjantin tipi sert peynirlerin, İsviçre tipi peynirlerin, pasta filata tipi İtalyan peynirlerin ve Kaşar peynirinin üretiminde kullanılmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Soran ve Çelik, 2018; Cuffia vd., 2019).

Pasta filata tipi peynirler genellikle Güney İtalya kökenli olup taze olarak tüketilen yumuşak ve yarı-yumuşak çeşitler ile tüketilmeden önce olgunlaştırılan sert ve yarı-sert çeşitlerden oluşmaktadır. Ülkemizde üretilen Kaşar peyniri de bu gruba girmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Hayaloğlu, 2016).

Peynir üreticileri, doğal PAS kültürlerinin yanı sıra süttten hazırlanan doğal süt starterlerini de tercih etmektedirler. Yumuşak ve yarı sert peynirlerin üretiminde ağırlıklı olarak süt kaynaklı kültürler kullanılmaktadır (Carminatti vd., 2015; Budak vd., 2018). Periyodik olarak alınan bakteriyolojik kalitesi yüksek süt, 60-65°C'de 10-15 dk ısıtma işlemine tabi tutulmakta ve 45°C'ye soğutulmaktadır. Ardından bu sıcaklıkta inkübasyona bırakılarak sütün asitleşmesi sağlanmaktadır. Bu şekilde sütün kendi florasında bulunan termofilik laktik mikrofloranın (özellikle *S. thermophilus*'un) sayısının ve aktivitesinin artması yani kültürün zenginleşmesi sağlanır. Süt asitliği %0.4 - 0.5 laktik aside ulaştığında (yaklaşık 5-6 saat sonra) inkübasyon durdurulur ve oluşan pıhtı sonraki gün işlenecek peynir sütüne katılır. Mozeralla, Caciocavallo, Asiago, Montasio peynirleri doğal süt starterlerinden üretilmektedirler (Rodríguez vd., 2012; Majhenič, vd., 2014; Fox vd., 2017a).

PAS-rennin karışımında ise kaynatılmış ya da deproteinize edilmiş PAS'a eklenen kurutulmuş buzağı şirdeninin bir süre bekletilmesi sonucu elde edilen yüksek asitliğe sahip (%1.25 - 1.35 laktik asit) kültür, Gruyere ve Emmental gibi İsviçre tipi peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bu yöntem küçük işletmeler tarafından tercih edilmektedir. Bu tip kültürlerde genellikle termofilik ve heterofermantatif *Lactobacillus* suşları baskındır. Değişik sayıda tür veya suşları içermesi ve kompozisyonlarının tam olarak bilinmemesi nedeniyle bu kültürler "Tanımlanmamış Kültürler" de denilmektedir. (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Ticari Starter Kültürler

Ticari olarak satılan starter kültürler, süt ürünlerinde kullanılan teknoloji dikkate alınarak geliştirilmiş olan ve fermente gıdaların üretiminde kullanılmak üzere standardize edilmiş çeşitli

formlardaki kültürlerdir (Hansen, 2014; Gürsoy ve Türkmen, 2018). Ticari starter kültür üretimi olarak ilk Danimarka'da kurulmuş olan Chr. Hansen laboratuvarında gerçekleştirilmiş olup peynir ve krema olgunlaştırılmasında kullanılmak amacıyla üretilen starter kültürlerin üretimine 1890 yılında başlanmıştır (Chr. Hansen, 2019). Sonrasında ise Amerika Birleşik Devletlerinde, Almanya ve Fransa'da çeşitli laboratuvarlar kurulmuş ve üretilen kültürler süt işletmelerinde kullanılmıştır. İlk başlarda sıvı starter kültürler üretilirken 2. Dünya savaşı sırasında dondurarak kurutma (liyofilizasyon) tekniğinin gelişmesine paralel olarak dondurulmuş ve dondurarak kurutulmuş (liyofilize) kültürler üretilmiş ve pazarlanmıştır (Kandasamy vd., 2018). Günümüzde, starter kültür endüstrisinde dondurma ve dondurarak kurutma yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Conte vd., 2014; Malo ve Urquhart, 2016; Pophaly vd., 2018). Bu kültürlerin üretimde tercih edilmesi ile işletmelerdeki ana, ara ve işletme kültürü hazırlama işlemi ortadan kalkmış ve böylece hem toplu kültür hazırlığı ile ilgili maliyetler hem de kültürün bakteriyofaj ile enfeksiyon riski azalmıştır (Parente vd., 2017; Taslika, 2017). Türkiye'deki çalışmalar ise ancak 1970 yılından sonra başlamış olup sırasıyla Etlik Veteriner Araştırma ve Kontrol Enstitüsü, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mikrobiyolojisi Kürsüsü starter kültür ile ilgili araştırmalar yapmıştır. Starter kültür üretimi ile ilgili araştırma ve projeler yapılmış olmasına rağmen ülkemizde gerçek anlamda starter kültür üretimi yapan ticari bir işletme yoktur (Halkman ve Yalçın, 2001; Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Ticari starter kültürler sıvı, toz ve dondurulmuş starter kültürler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (Demirgül ve Sağdıç, 2017; Parente vd., 2017).

Sıvı Starter Kültürler

Starter kültür üretiminin tarihi incelendiğinde ilk olarak sıvı kültürler geliştirilmiş ve 1960'lı yılların başlarına kadar başarıyla kullanılmıştır (Høier vd., 2010; Kılıç, 2014). Sıvı kültürler hazırlanırken öncelikle kullanılacakları ürüne özgü bakteri/bakteriler belirlenir. Yağsız süt tozu ile

hazırlanan steril süte belirlenen bakterinin/bakterilerin ekimi yapılır ve steril sütler uygun koşullarda inkübasyona bırakılır. Bu kültürler aşırı asitlenmeden etkilenir ve bu nedenle depolama sırasında canlılıklarını yitirebilirler. Bunu önlemek için steril süte kalsiyum karbonat ilave edilerek canlılık kaybı geciktirilebilirse de tamamen önlenemez. Elde edilen kültür ($\sim 10^9$ kob/mL) hemen soğutulmuş farklı hacimlerdeki sterilize şişelere doldurulur ve özel ambalajların içinde işletmelere sevk edilir. Sevk edilen kültürler, bakterilerin aktivitesini kaybetmemesi için $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmaktadır (Kılıç, 2014; Taskıla, 2017; Anonymous, 2019a). Sıvı kültürlerin kullanımı kolay ve maliyeti düşüktür. Bu avantajlara rağmen sıvı kültürlerin kısa raf ömrüne sahip olması bu kültür çeşidinin dezavantajıdır. Kültürün aktif kalabilme süresi birkaç günden birkaç haftaya kadar değişebilmektedir (Hansen, 2014). Bu kültürler direkt olarak kullanılmadıkları için sırasıyla ana, ara ve işletme kültürü hazırlanarak peynir üretiminde kullanılabilirler. Fakat bu kültürlerin kontaminasyona ve faj enfeksiyonuna açık olduğu unutulmamalıdır (Surono ve Hosono, 2011; Kılıç, 2014). Gerek ülkemizde gerekse de dünyada sıvı kültürlerin yerini toz ve dondurulmuş starter kültürler almıştır.

Toz (Kurutulmuş) Starter Kültürler

Starter kültür üreticileri, kullanımdaki sorunlar nedeniyle sıvı kültürler yerine bilinen en eski kültür koruma yöntemi olan kurutma yöntemini tercih ederek toz formdaki starter kültürleri üretmişlerdir (Öztürk ve Çakır, 2015). 1960'ların başlarında ilk olarak vakumda kurutma yöntemi denenmiştir. Bu yöntemde, atmosfer basıncının altındaki bir basınç değeri kullanılarak düşük sıcaklıkta kültürdeki nem miktarı kontrollü bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Süreksiz bir işlemde vakumda kurutma işleminin süresi yaklaşık 10-20 saat arasında değişmektedir. Gerek vakum sırasındaki dehidrasyonun neden olduğu hücre hasarı gerekse de son üründe kalan yüksek nem miktarı kültürün depolanma süresini olumsuz etkilemiştir (Gong vd., 2014; Foerst ve Santivarangkna, 2015). Bu nedenle yeni bir yöntem arayışına girilmiş olup biyoteknoloji alanındaki ilerlemeler sayesinde püskürtmeli

kurutma (spray drying) ve dondurarak kurutma (liyoofilizasyon/ freeze drying) yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır (Peighambardoust vd., 2011; Engels vd., 2017). Yeni yöntemlerde hücrelerin aktivitelerini kaybetmemeleri amaçlanmıştır. Bu yöntemler ile üretilen kültürler püskürtmeli kurutma yöntemi ile üretilen starter kültürler, dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen starter kültürler (normal liyoofilize kültürler) ve dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen konsantre starter kültürler (konsantre liyoofilize kültürler) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

Püskürterek kurutma yönteminin temeli 1914 yılında Rogers'in kurutulmuş kültür hazırlama çalışmalarına dayanmaktadır (Peighambardoust vd., 2011; Ferreira, 2016). İkinci Dünya Savaşı sırasında, büyük miktardaki gıdanın uzun raf ömrü, düşük ağırlık ve düşük hacim ile taşınması vb. gibi sorunların olması nedeniyle bu teknik geliştirilmiştir (Silva vd., 2011). Bu yöntemde, sıvı kültür bir atomizerden geçirilerek 150-200°C sıcaklığındaki sıcak hava akışına yüksek bir hız ve basınçta püskürtülmekte ve uygulanan işlem sonrasında toz formda starter kültür edilmektedir (Öztürk ve Çakır, 2015; Ferreira, 2016; Pak, 2019a). Püskürterek kurutma yöntemi düşük enerji maliyeti nedeniyle dondurarak kurutma yöntemine göre daha ekonomik ve verimlidir. Ayrıca kurutma işleminin sürekliliği ve yüksek hızda kurutma yapılabilmesi ise yöntemin diğer avantajlarıdır. Fakat kurutma süresince mikroorganizmalarda yüksek oranda canlılık ve aktivite kaybının olması, kültürlerin depolanması süresince daha düşük stabilitenin izlenmesi ve ürünün rehidrasyonundaki zorluklar dikkate alındığında dondurarak kurutma yöntemine kıyasla daha az tercih edilen bir yöntem olmuştur (Peighambardoust vd., 2011; Gong vd., 2014; Demirgöl ve Sağdıç, 2017).

Dondurarak kurutma yöntemi (liyoofilizasyon), 2. Dünya Savaşı sırasında tıbbi malzemelerin korunması için geliştirilmiş (Kılıç, 2014; de Melo Carvalho, 2018) ve mikroorganizmaların korunması için önemli bir kültür koruma yöntemi olmuştur (Fonseca vd., 2015; Dolci ve Cocolin, 2018). Dondurarak kurutma, ticari starter kültür

üretiminde mikroorganizma hücrelerinin canlılığını koruması ve üretilen kültürün raf ömrünü artırması nedeniyle dondurma yöntemine kıyasla daha çok tercih edilen bir yöntemdir (Fellows, 2017; Taskila, 2017; Rama vd., 2019). Dondurarak kurutma işlemi hücre süspansiyonunun dondurulması (1), süblimasyon (birinci kurutma) ile buzun uzaklaştırılması (2) ve desorpsiyon (ikinci kurutma) ile donmamış suyun ayrılması (3) olmak üzere üç aşamada yapılmaktadır. Üründeki çözücü miktarı biyolojik ve/veya kimyasal reaksiyonları desteklemeyecek değerlere ($a_w < 0.2$) düşene kadar desorpsiyon işlemine devam edilir. Bu işlem son ürünün özelliklerini, stabilitesini ve verimini etkilemektedir. Ayrıca hücrelerin canlılığını ve aktivitesini uzun süre koruyabilmesi için doldurularak kurutulacak sıvı kültüre kriyoprotektif ajanlar da eklenebilmektedir (Fonseca vd., 2015; Karagül ve Altuntaş, 2018; Anonymous, 2019b). Liyoofilize kültürde yaklaşık olarak 10^{12} kob/g mikroorganizma bulunabilmektedir (Kılıç, 2014; Parente vd., 2017). Liyoofilizasyon tekniği diğer kurutma yöntemleri ile kıyaslandığında yüksek maliyetli bir yöntemdir (Foerst ve Santivarangkna, 2015; de Melo Carvalho, 2018). İşlem sırasında yüksek miktarda enerji gerekmesi ve üretim süresinin uzun olması üretim maliyetlerinin artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, bu alandaki süreç gelişimi, ürün kalitesini korurken kurutma sürelerini minimize etmeye odaklanmıştır (Taskila, 2017; de Melo Carvalho, 2018).

Dondurularak kurutulmuş kültürler, normal liyoofilize kültürler ve konsantre liyoofilize kültürler olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır. Normal liyoofilize kültürler hazırlanırken elde edilen aktif sıvı kültür -40°C / -80°C'de dondurulduktan sonra kültürün ihtiva ettiği donmuş su, 0.1 mmHg gibi çok düşük bir basınç altındaki vakumda süblimasyon ile ortamdan uzaklaştırılır. Bu yöntem ile hazırlanmış olan kültürler ambalajlanırken paket içerisindeki hava alınır ve/veya paket içerisine inert gaz verilir. Bu kültürlerin düşük miktarda su ihtiva ettiği göz önüne alındığında içerisindeki mikroorganizmalar canlılıklarını uzun süre koruyabilirler (Kılıç, 2014, Fonseca vd., 2015). Konsantre liyoofilize kültürlerde ise aktif sıvı kültür önce santrifüjlenir

sonrasında ise liyofilizatörde dondurularak kurutulur ve toz haline getirilir. İçerisindeki canlı mikroorganizma sayısı normal liyofilize kültüre göre daha fazladır. Bu özelliği nedeniyle doğrudan işletme kültürü hazırlanarak veya direkt peynire işlenecek süte katılarak (DVS/DVI) kullanılabilirler. Raf ömrü uzun olduğu için işletmelere sevkiyatı, işletmelerde muhafazası ve kullanımı çok kolaydır. Ayrıca kültür üretimi için laboratuvar ve personel gerekmemektedir (Kılıç, 2014; Karagül ve Altuntaş, 2018).

Dondurulmuş Starter Kültürler

Dondurulmuş starter kültürler, sıvı kültürlerin -40°C, -80°C, -196°C gibi düşük sıcaklarda dondurulması ile elde edilmektedir. Dondurulmuş kültürlerde hücre canlılığı ve hücrelerin dayanıklılığı yüksektir. Bakterilerin canlılığının ve aktivitesinin uzun süreli korunması için doldurulacak sıvı kültüre kriyoprotektif ajanlar da eklenebilmektedir. Dondurulmuş kültürde yaklaşık olarak 10^{10} - 10^{11} kob/g mikroorganizma bulunabilmektedir. Bu nedenle doğrudan peynir üretiminde (DVS/DVI) kullanılabilirler (Parente vd., 2017; Dolci ve Cocolin, 2018). Sıvı kültürün dondurulması sırasında uygulanan sıcaklık değeri düşükçe donma işlemi daha hızlı gerçekleşeceğinden hücreler daha az hasar görür ve canlılıklarını daha uzun süre muhafaza ederler (Foerst ve Santivarangkna, 2015; Tanimomo vd., 2016; Coulibaly vd., 2018).

Dondurulmuş starter kültürler, normal dondurulmuş kültürler ve konsantre dondurulmuş kültürler olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır (Høier vd., 2010; Engels vd., 2017). Normal dondurulmuş kültürler, aktif saf kültürün steril süte %2-3 oranında eklenmesi ve hazırlanan karışımın özel ambalajlara konularak, -20°C'de geleneksel dondurma, -40°C / -80°C'de derin dondurma veya -196°C'de sıvı azotta ultra düşük sıcaklıkta dondurması ile üretilirler. Bu kültürler, -40°C'nin altında depolandığında canlılıklarını yıllarca koruyabilirler (Polo vd., 2017; Taskila, 2017). Kültürlerin hücre hasarını en az düzeye indirmek için kültürler mümkün olduğunca kısa sürede dondurulmalı ve kullanım sırasında ise hızlıca çözülmelidir. Kültürler kullanılmadan önce 20°C'deki suda buzunu eriyene kadar bekletilip kullanıma hazır hale getirilir (Parante ve ark.,

2017; Sharma vd., 2017; Taskila, 2017). Sevk edilecek dondurulmuş starter kültürlerin kuru buz ile örtülerek işletmelere gönderilme maliyetinin yüksek olması ve bu kültürlerin üretimi sırasında kullanılan enerji maliyetinin yüksek olması yöntemin önemli dezavantajlarıdır (Hansen, 2014; Ferreira, 2016; Dolci ve Cocolin, 2018).

Konsantre dondurulmuş kültürler ise aktif saf kültürlerinin aseptik koşullarda santrifüjden geçirilmesi sonucu konsantrasyonu artırılan sıvı kültürün -196°C'deki sıvı azota daldırılarak dondurulması ile üretilirler (Kılıç, 2014; Demirgöl ve Sağdıç, 2017; Sulieman, 2017). Konsantre dondurulmuş kültürlerdeki mikroorganizma sayısı daha fazla olduğu için peynir üretiminde kullanılacak süte doğrudan (DVS/DVI) katılabilirler (Nasrollahi, 2016). Dondurulmuş kültürlerle kıyasla daha stabil olup kullanımları daha kolaydır. Ancak sıvı azotta donduruldukları için kültürlerin saklanması ve taşınması zor olup işletmeler için yüksek maliyet oluşturmaktadır (Kılıç, 2014; Demirgöl ve Sağdıç, 2017; Coulibaly vd., 2018).

İŞLEVLERİNE GÖRE STARTER KÜLTÜRLER

Birincil (Primary) Starter Kültürler

Peynir, eski zamanlarda, çiğ süttten gelen ve çevreden bulaşan mikrofloranın sütte meydana getirdikleri spontan fermantasyon ile üretilmekteydi. Nihai ürünün kalitesi ise mikrobiyel yüke ve ham maddenin özelliklerine göre değişmekteydi (Kongo, 2013). Sonrasında ise spontan fermantasyon sonucu elde edilen istenilen nitelikteki üründen bir miktar alınarak bir sonraki üretimin aşılması yoluna gidilmiştir. Bu yöntem ile fermente edilecek kitleye belirli suşların baskın olduğu süt ve/veya peyniraltı suları eklendiği için fermantasyon süresi kısalmıştır. Bu işlem "back-slopping" olarak adlandırılmış ve önceki üretilere kıyasla bu yöntem ile daha başarılı fermantasyonlar gerçekleştirilmiştir (Hansen, 2014; Corbo vd., 2017). Starter kültürler mikrobiyoloji bilim dalındaki ilerlemelere paralel olarak asit üretim hızını standartlaştırmak amacı ile 19. yüzyılın sonlarına doğru, Türkiye'de ise 1970'ler itibarıyla kullanılmaya başlanmıştır. Starter kullanımı, peynir kalitesini iyileştirmiş ve standardize etmiştir (İrkin, 2017).

Laktik asit bakterileri, starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların en önemli grubunu oluşturmaktadır (Parente vd., 2016; Picon, 2018). Bu gruptaki bakterilerin tümü Gram pozitif, katalaz negatif, *Sporolactobacillus inulinus* hariç spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, düz çubuk, değişik formlu çubuk veya kok şeklinde olan ve bazı istisnalar hariç hareketsiz bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Bu bakterilerin büyük çoğunluğu homofermantatiftir (Tunail ve Köşker, 1989; Tunail, 2009; Albayrak, 2017). Laktik asit bakterileri, genellikle güvenilir kabul edilen (GRAS) mikroorganizmalardandır (Widyastuti ve Febrisiantosa, 2014; de LeBlanc vd., 2018). Bu bakteriler fermente gıdaların üretiminde starter kültür olarak uzun bir kullanım geçmişine sahip heterolog bir mikroorganizma grubu olup çığ sütün doğal mikrobiyotasını oluştururlar (Kılıç, 2010; Domingos-Lopes vd., 2017; de LeBlanc vd., 2018). Ayrıca geleneksel süt ürünlerinin duysal, biyokimyasal ve tekstürel lezzet özelliklerinin gelişmesinde önemli katkıları vardır (Domingos-Lopes vd., 2017; Pophaly vd., 2018). *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinslerine ait bakteriler, kullanımı en yaygın olan peynir starterleridir. *Leuconostoc* ve *Enterrococcus* cinslerine ait suşlarda starter kültür olarak kullanılmaktadır (Fernández vd., 2015; Vázquez-Velázquez vd., 2018).

Starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin peynir teknolojisinde iki temel görevi bulunmaktadır. Bunların ilki peynir üretimi sırasında işlem parametrelerinin uygulanabilmesi için öngörülen sürede laktozdan laktik asit üretimini sağlamaktır (Ertürkmen, 2014; Ladero vd., 2015). İkincisi ise peynirin olgunlaşması esnasında peynirin karakteristik lezzetini geliştirmeye yardımcı olan biyokimyasal değişiklikleri gerçekleştirmektir. Söz konusu bakterilere, peynir üretiminde birincil amaç olan laktik asit üretimini başlattıkları için başlatıcı (starter), birincil kültür (primary cultures) veya starter laktik asit bakterileri denilmektedir (Conte vd., 2014; Irlinger vd., 2017).

Birincil kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri, sütte bulunan laktozu laktik aside dönüştürerek sütün pıhtılaşması için gerekli olan pH düşüşünü sağlarlar (Ladero vd., 2015; Şimşek

vd., 2016). Asit üretiminin pıhtı oluşumu, peynir suyunun ayrılması, tekstür, tat ve koku oluşumunun başlaması, patojenlere karşı ürünün korunması ve ürünün raf ömrünün uzatılması gibi olumlu etkileri vardır (Widyastuti ve Febrisiantosa, 2014; Fox vd., 2017a). Starter kültürler sahip oldukları ve/veya dolaylı olarak salınan enzimlerinin aracılığı ile proteinleri (proteoliz), karbohidratları (glikoliz) ve yağları (lipoliz) hidrolize ederek peynirde tat-aroma maddelerinin oluşumunda ve peynir olgunlaşmasında önemli rol oynarlar (Ertürkmen, 2014; Yerlikaya, 2014). Peynirdeki çığ süt mikrobiyotasının daha fazla proteoliz ve lipolize neden olması ve aynı zamanda daha iyi lezzet oluşturması nedeniyle peynir üreticilerinin çoğu üretimde çığ süt kullanmakta veya peynir sütüne çığ süt eklemektedirler (Quidley vd., 2013; İrlinger vd., 2015). Fakat çığ sütte doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri, çığ süttten yapılan peynirlere çok yüksek kalitede duysal özellikler yerine istenmeyen özelliklerde kazandırabilirler. Bu tür istenmeyen durumların yaşanmaması için laktik asit bakterilerini içeren starter kullanımının, peynir üretiminde vazgeçilmez bir gereklilik olduğu unutulmamalıdır (Halkman ve Taşkın, 2001; Hayaloğlu ve Özer, 2011; Bintsis ve Papademas, 2018).

Peynirlerde birincil starter kültür olarak kullanılacak bakterilerin aşağıdaki işlevlerden birini veya birkaçını yerine getirmesi gerekmektedir.

- Laktoz metabolizması (laktik asit üretimi, peynir üretiminde olmazsa olmazdır ve peynirdeki bozulmaya neden olan ve patojenik etki gösteren mikroorganizmaları minimize eder)
- Çok sayıda enzim ve metabolik ürünün üretimi (lezzet profilinin oluşturması ve peynirin olgunlaşması sırasında organoleptik özellikleri arttırmada etkin rol oynamaktadır)
- Patojenlerin hayatta kalma ve çoğalma riskini azaltan diğer antimikrobiyel maddelerin üretimi (organik asitler (çoğunlukla laktik asit), hidrojen peroksit ve bakteriyosinler dâhil olmak üzere birçok antimikrobiyal bileşiği sentezleyerek, bozulmayı ve patojenik bakterilerin gelişmesini engelleyebilirler)

d) Sağlığı teşvik edici özellikleri artırma (sütün fermantasyonu sırasında mikroorganizmalar tarafından üretilen vitaminler, gama-aminobütirik asit, biyoaktif peptitler, bakteriyosinler, enzimler, konjuge linoleik asit ve ekzopolisakaritler gibi biyoaktif bileşikler, anti-hipertansif, anti-kanser, anti-inflamatuvar, anti-diyabetik, anti-oksidan ve kalsiyum bağlama gibi sağlığa faydalı etkiler göstermektedirler)

Bu özelliklerin peynir yapımı ve peynirde lezzet gelişimi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Örneğin peynir yapımı sırasında üretilen laktik asit oranı ve miktarı kaybedilen nem miktarını, son pH'yı ve peynirdeki kalan laktozu belirleyecektir (Linares vd., 2017; Marco, 2017).

İkincil (Sekonder) Starter Kültürler

Peynir mikroflorası, peynire özgü özelliklerin oluşmasında oldukça önemlidir. Peynir üretiminden peynirin olgunlaştırılmasına kadar geçen sürede mikrobiyel yük giderek artmaktadır. Bu mikrobiyel yükü oluşturan flora birincil starter kültürler ve ikincil starter kültürlerdir (Karabiyik ve Erdoğan, 2019). Birincil starter kültürler, peynir üretimi sırasında sütte bulunan laktozdan laktik asit üretmek ile görevli iken ikincil starter kültürlerin asit üretiminde hiçbir görevleri yoktur (Engels vd., 2017; Fox vd., 2017). İkincil kültürlerin asıl görevleri, peynirin olgunlaşması sırasında peynirde meydana gelen organoleptik ve biyokimyasal değişikliklere neden olan reaksiyon serisini tetiklemektir (Hayek ve İbrahim, 2013; Yüce vd., 2017; Bintsis, 2018). Peynir çeşitlerindeki lezzet oluşumu ve peynir çeşitlerinin karakteristik özellikleri, olgunlaşma sürecinde hem starter hem de starter olmayan laktik asit bakterilerinin sinerjistik aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Bu etki ile peynirlerin olgunlaşma süreci de hızlanmaktadır (Widyastuti ve Febrisiantosa, 2014).

Peynir üretiminde kullanılan ikincil kültürler hem taksonomik hem de işlevsel açıdan oldukça çeşitli olup starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB), küfler ve mayalar, propiyonik asit bakterileri, stafilokoklar ve korineformlardan oluşmaktadır (Hayaloğlu, 2016; Gürsoy ve Türkmen, 2018). Geleneksel peynirlerdeki ikincil

mikrobiyotaya süttten, peynir üretiminde kullanılan malzeme-ekipmanlardan ve/veya peynir fabrikası ortamından kaynaklanmaktadır. Mavi peynirlerin üretimi sırasında küflü ekmelek parçalarının peynir pıhtısı ile karıştırılması, yüzeyi olgunlaştırılmış peynirlerin seyreltik tuzlu suyla yıkanması ile oluşan suya taze peynirlerin batırılıp çıkarılması da geleneksel peynirler için ikincil kültür kaynaklarını oluşturmuştur. Geleneksel peynirlerin endüstriyel olarak üretiminin yapılabilmesi için öncelikle bu peynirdeki mikroflora tespit edilmiş ve ticari ikincil/sekonder kültürler üretilmiştir (İrlinger vd., 2017). Hollanda tipi peynirlere eklenen sitrat pozitif *Lactococcus*, *Leuconostoc* spp., İsviçre tipi peynirlere eklenen *Propionibacterium*, mavi peynir çeşitlerine eklenen *Penicillium roqueforti*, Camembert-Brie peynirlerine eklenen *Penicillium camemberti* ile Tilsit ve Limburger gibi yüzeyden olgunlaştırılan peynirlerde kullanılan *Brevibacterium linens* yaygın olarak kullanılan ikincil kültürlerdir. Bu kültürler peynir kitlesinin iç veya yüzey kısımlarında duyuusal, biyokimyasal ve tekstürel değişiklikler meydana getirmektedirler. İsviçre (Emmental) peynirinde *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *sbermanii* tarafından üretilen CO₂ nedeniyle peynir kitlesinde delikli yapının oluşması, mavi peynir çeşitlerine eklenen *Pen. roqueforti* gelişiminin neden olduğu mavi damarlar veya Camembert ve Brie peynirlerinin olgunlaşması sırasında *Pen. camemberti*'nin gelişmesi ile peynir yüzeyini kaplayan kadifemsi beyaz küfün oluşturduğu kabuk bu tip değişikliklere örnek olarak verilebilir (Gürsoy ve Türkmen, 2018; Gobbetti vd., 2018b).

NSLAB, oldukça heterojen bir grup olup peynir üretimindeki asit üretiminden sorumlu değildirler. Asıl görevleri peynirlerin olgunlaşma sürecinde lezzet oluşumuna katkıda bulunmaktır (Pogačić vd., 2013; Levante vd., 2017). Bazı mezofilik *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Enterococcus* spp.'lar ile bazı termofilik laktik asit bakterileri NSLAB'ni oluşturmaktadırlar (Montel, 2014; Picon, 2018). Çiğ süttten üretilen peynirlerde NSLAB'nin temel kaynağı çiğ süt ve peynir üretim alanıdır. Pastörize süttten üretilen bazı peynirlerde de bu bakteri grubuna rastlanması pastörizasyon sonrası bulaşmayı veya pastörizasyon işleminde bu bakterilerin inaktive olmadığını

düşündürmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Vandera vd., 2019). Bu bakteriler, hemen hemen tüm olgunlaştırılmış peynir çeşitlerinin mikrobiyel popülasyonunun önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte peynirdeki pıhtı dönüşümünde temel rol alan enzimlerin salınımını da sağlamaktadırlar (Widyastuti ve Febrisiantosa, 2014). Ayrıca bazı pH değerlerine (pH = 4.9'a kadar), tuz konsantrasyonlarına (%6), nem miktarına (< %50) ve çeşitli sıcaklık (2-53°C) derecelerine karşı toleranslıdırlar. Pastörizasyon işlemi sonrası sütte görünmelerinin bir nedeni de budur (Montel, 2014).

Olgunlaşma sırasındaki NSLAB'nin mikrobiyel sayıları üretilen peynirin türüne (yumuşak, yarı sert, sert), peynirin olgunlaşma süresinin uzunluğuna, peynir üretiminde starter kültür kullanıp kullanılmadığına ve starter kültür kullanıldı ise kullanılan starter kültürün kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir (Montel, 2014; Sgarbi vd., 2014; Cotter ve Beresford, 2017). Peynir üretiminde NSLAB'nin kontrolsüz çoğalması istenmeyen tat ve aromaya neden olabilmektedir. Standart peynir lezzetini korumak için geliştirilecek türlerin NSLAB olarak kullanılması önerilmektedir (Law, 2010; Widyastuti ve Febrisiantosa, 2014). Mezofilik *Lactobacillus* spp. en yaygın kullanılan NSLAB'dir (Montel, 2014). *Lb. helveticus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum/paraplantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. sake*, *Lb. pentosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. reuteri*, *Lb. johnsonii*, *Lb. crispatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. buchneri* ve *Lb. gasseri* türleri daha sık rastlanan starter olmayan laktik asit bakterileridir (Fernández vd., 2015).

Propiyonik asit bakterileri (PAB), çoğunlukla süt ve süt ürünlerinde bulunan bir bakteri grubudur ve peynir üretiminde starter kültürler ile birlikte ikincil kültür olarak kullanılırlar. (Raus-Madiedo ve Rodríguez, 2017; Cheng, vd., 2018). PAB, İsviçre tipi peynirlerin karakteristik mikrobiyotasıdır. Çiğ sütün içerisinde yeterli miktarda PAB bulunsa da pastörize süt ile üretilen peynirlerde 10^3 kob/g seviyesinde süte eklenmelidir. Peynir yapımı sırasında yüksek pişirme sıcaklığında (~54°C) canlı kalır ve ılık (14-15°C) olgunlaşma döneminden sonra 10^8 - 10^9

kob/g seviyesine kadar çoğalabilirler (Picon, 2018). *Propionibacterium* cinsine ait süt kökenli bakteriler *Pro. freudenreichii*, *Pro. acidipropionici*, *Pro. jensenii* ve *Pro. thoenii*'dir (Picon, 2018). Sert peynirlerin olgunlaşmasında en yaygın kullanılan ikincil kültür olan bu bakteri grubu, son zamanlarda biyokoruyucu (antimikrobiyel maddeler nedeniyle) ve probiyotik olarak da kullanılmaya başlanmıştır (Bintsis ve Papademas, 2018). PAB, birçok peynir çeşidinin olgunlaşması süresince gelişebilmekte ve Emmental, Gruyère, Comte gibi İsviçre tipi peynirlerin karakteristik florasını oluşturmaktadır. Mezofilik PAB, 25-32°C'de ve pH 6.0 - 7.5 aralığında optimum gelişim göstermektedir (Özer ve Kesentaş, 2012; Öztürkcan ve Acar, 2017; Cheng vd., 2018). Bu peynirlerdeki karakteristik aromalar ile tipik göz oluşumundan PAB sorumludur. PAB, peynirin olgunlaşması sırasında laktik asit bakterilerinin laktozu hidrolize etmesi sonucu oluşan laktatı parçalayarak propiyonik asit, asetik asit ve CO₂ oluşturarak peynirdeki tat oluşumuna katkıda bulunurlar. Bu bileşenler peynirin olgunlaşması sırasındaki organoleptik özelliklerin oluşmasına katkıda bulunur (Gagnaire vd., 2015). Emmental peynirleri ile çiğ sütlerden izole edilmiş 5-6 adet PAB suşu olmasına rağmen saf kültür olarak çoğunlukla *Pro. freudenreichii* subsp. *shermanii* suşu kullanılmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Gagnaire vd., 2015; Ojala vd., 2017). *P. freudenreichii* subsp. *freudenreichii* ve *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* en yaygın olarak kullanılan türlerdir. *Pro. freudenreichii* subsp. *shermanii*, İsviçre tipi peynirlerin *Pro. freudenreichii* subsp. *freudenreichii* ise Comte peyniri üretiminde kullanılmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Metin, 2014; Raus-Madiedo ve Rodríguez, 2017). Ülkemizde ise Mihaliç ve Gravyer peynirinin endüstriyel üretiminde PAB sekonder kültür olarak kullanılmakta ve peynirde arzu edilen karakteristik göz oluşumunu sağlamaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011; Metin, 2014; Topuk ve Sezer, 2015).

İkincil kültür olarak kullanılan küfler ve mayalar yumuşak ve yarı sert peynirlerin üretiminde kullanılmakta olup olgunlaşma, doku gelişimi ve lezzet bileşenlerinin oluşmasında rol oynamaktadırlar. Bu kültürler peynir çeşidine göre değişen oranlarda ya kazan sütüne eklenir ya da

kalıplardan çıkarılan taze peynirlerin üzerine çözelti halinde püskürtülür (Metin, 2014). Küfler ile olgunlaştırılan peynirler iki grup altında incelenmektedir. Bunlardan ilki Brie, Camembert gibi yüzeyi küf ile olgunlaştırılan peynirler ikincisi ise Cabrales, Danablu, Gorgonzola, Stilton ve Roquefort gibi küfle olgunlaştırılan mavi peynirler (mavi damarlı peynirler)'dir. Bu peynirler en iyi bilinen ve en yaygın tüketilen küfle olgunlaştırılan peynirlerdir. *Pen. camemberti*, *Pen. roquefortii*, *Pen. candidum* başlıca kullanılan küf türleridir (Majcher vd., 2017; Yunita ve Dodd, 2018; Karabıyık ve Erdoğmuş, 2019).

Mayalar ise geleneksel olarak olgunlaştırılmış peynirlerin hemen hemen hepsinde önemli bir rol oynamaktadır. Çiğ sütte olduğu kadar sütün işlendiği ortamda da mevcut olan mayalar, diğer mikroorganizmalar ile birlikte karmaşık bir flora oluşturarak taze peynirlerin yüzeyine kolayca kolonize olurlar. Ayrıca işletme ekipmanlarında, havada ve salamurada da bulunabilmektedirler (Banjara vd., 2015; Fröhlich-Wyder vd., 2019). Mayalar, starter bakteriler tarafından oluşturulan laktik asidi parçalayarak ortam pH'sını yükseltir ve olgunlaşmaya yardımcı olan starter mikrofloraya yardımcı olurlar. Yükselen pH ise ikincil kültürlerin gelişip çoğalmasına yardımcı olarak olgunlaşmanın ikinci aşamasını başlatır. Olgunlaşma sırasında meydana gelen biyokimyasal olaylar sonucunda arzu edilen tat, aroma ve tekstür gelişir. Gruyère, Tilsit, Reblochon, Munster gibi yüzeyi olgunlaştırılan peynirlerin tipik görünümüne önemli ölçüde katkıda bulunurlar. Yüzeyi mayalar ile olgunlaştırılmış peynirlerin çocuğunda *Geothricum candidum* ve *Debaryomyces hansenii* türleri en baskın olan mayalardır (Yalçın vd., 2011; Gobbetti vd., 2018b; Kandasamy, 2018; Fröhlich-Wyder vd., 2019).

MİKROORGANİZMA KOMPOZİSYONLARINA GÖRE STARTER KÜLTÜRLER

Tanımlanmış Suşlu Starter Kültürler

Endüstriyel düzeydeki peynir üretiminde kültür kompozisyonundaki farklılığa göre iki ayrı starter kültür çeşidi kullanılmaktadır. Bunlar tanımlanmış suşlu starter (defined strain starter – DSS)

kültürler ve tanımlanmamış suşlu starter kültürlerdir (Smid vd., 2014; Spus vd., 2015). DSS kültürleri, genellikle karakteristik özellikleri bilinen geleneksel üründen izole edilmiş bir veya daha fazla suştan oluşan bir starter çeşididir. Bu starter çeşidi, bazı kaynaklarda tek suşlu starter kültürler (single strain starter – SSS) ve çok suşlu starter kültürler (karışık – mixed strain starter – MSS) bazı kaynaklar ise tek suşlu starter kültürler, çift suşlu starter kültürler ve çok suşlu starter kültürler olmak üzere 3 gruba ayırmıştır (Tunail, 2009; Smid vd., 2014; Kelleher vd., 2015; Bintsis, 2018).

Tek suşlu starterlerin (SSS) kullanılması ilk olarak Yeni Zelanda'da (1935'lerde) başlamıştır (Fox vd., 2017a). Bu starter çeşidindeki tek suşlar genellikle tanımlanmamış MSS kültürlerden izole edilmekte ve çoğunluğunu mezofilik laktokoklar oluşturmaktadır (Smid vd., 2014; Blaya vd., 2018). Ayrıca bu starter çeşidindeki suş ve/veya türlerin oranı belli olduğu için teknolojik performansları son derece tekrarlanabilir olmuştur. Bu özellik, endüstriyel üretim yapan işletmeler için oldukça arzulanan bir özelliktir (Altieri vd., 2017; Parente vd., 2017). SSS kültürlerin bakteriyofajlara olan yüksek duyarlılıkları nedeni ile 1940'lı yıllarda Yeni Zelanda kültür sisteminde tek suşların eşleştirilmesi yöntemine gidilmiştir. Eşleştirme sonucu elde edilen çift suşlu starterler, üretim parametrelerinin daha iyi kontrol edilmesine neden olmuştur. Suş çiftleri belirlenirken faj duyarlılığı olmayan suşların seçilmesine dikkat edilmiş ve kültür günlük rotasyon yapılarak kullanılmıştır. Suş rotasyonunun faj enfeksiyonlarından korunmasının zor olması nedeniyle 1970'lerde suş çiftlerinin yerini çok suşlu starter kültürler almıştır (Hoier vd., 2010; Mullan, 2017).

Çok suşlu starterler (MSS) ise özellikleri bilinen üç veya daha fazla suşun belli oranlarda karışımından oluşmaktadır. Bu starter çeşidi, endüstriyel şirketler ve/veya araştırma enstitüleri tarafından belirlenen koşullar altında incelenen tanımlanmamış MSS kültürlerinden elde edilmektedir (Altieri, 2017; Dolci ve Cocolin, 2018). Kültürler hazırlanırken seleksiyonu özenle yapılan ve faj akrabalığı olmayan suşlar ayrı ayrı

üretildikleri için bir suşun daha baskın duruma geçmesi gibi bir durum söz konusu değildir. Tanımlanmış MSS kültürlerinin kültürün hazırlanmasında rotasyona gerek kalınmaması, hazırlanan kültürün faja yakalanma riskinin düşük olması, hazırlanan kültürden daha düşük oranda kullanılabilme olanağı ve starter kültür aktivitesinin daha düzenli olması gibi avantajları vardır. Bu kültürler önceleri işletme kültürü tankına katılmış, daha sonra ise (1990'larda) direkt aşılama kültür (DVS/DVI) olarak kullanılmışlardır (Høier vd., 2010; Fox ve McSweeney, 2017; Parente vd., 2017).

Tanımlanmış mezofilik MSS kültürleri, peynir üretiminde sık kullanılan bir starter çeşidi olup *Lac. lactis* subsp. *lactis*, *Lac. lactis* subsp. *cremoris*, *Lac. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* ve *Leuconostoc* spp.'in bilinen farklı oranlardaki suşlarını içermektedirler (Johansen vd., 2014; Blaya, 2018). Tanımlanmış termofilik MSS kültürleri ise genellikle *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Str. thermophilus*, *Lb. fermentum* türlerinin belirlenmiş farklı oranlarındaki karışımlarından oluşmaktadır (Parente vd., 2017). Starter kültürün kompozisyonu ve çeşitliliği, starter performansını yüksek oranda etkilemektedir. Karışımdaki türler asitlendirme hızlarına, gelişmiş bakteriyofaj direncine veya arzu edilen lezzet profiline göre belirlenmektedir (Johansen vd., 2014).

Tanımlanmamış (Karışık) Suşlu Starter Kültürler

Endüstriyel peynir üretimine geçilmeden önce peynir çeşitlerinin çoğunun üretiminde tanımlanmamış MSS kültürleri kullanılmıştır. Doğal ya da artizanal starterler olarak adlandırılan starter grubu, tanımlanmamış MSS kültürlerinden oluşmaktadır (Guidone vd., 2016; Kandasamy vd., 2018). Tanımlanmamış MSS'leri oluşturan suşların fajlara direnç oluşturma ve asit oluşturma gibi özellikleri farklılık göstermektedir. Suşlardan biri faj enfeksiyonu yüzünden aktivitesini yitirdiğinde diğer suşlar çalışmaya devam ederek fermentasyonun normal yürümesini sağlamaktadırlar. Bir suşun baskın duruma geçme ihtimalinin olması ise bu starter grubunun dezavantajıdır (Budak vd., 2018; Gobbetti vd., 2018a).

Tanımlanmamış MSS kültürleri, çeşitli mezofilik ve termofilik LAB suşlarının karışımlarından oluşmakta olup suş oranları farklılık göstermektedir. Bu starter çeşidinde yer alan suşların; beslenme gereksinimlerindeki farklılıklar, optimal büyüme koşulları ve mikrobiyel popülasyonlarının büyüme hızlarındaki farklılıklar nedeniyle peynir üretiminde göstereceği özellikler tamamen öngörülebilir değildir (Smid ve Lacroix, 2013; Sulieman, 2017). Bu nedenle çeşitli ülkelerde gerek suşların sayısını azaltmak ve gerekse de bileşimi ve aktivitesi tanımlanmış kültürleri oluşturmak için yoğun çaba harcanmıştır. Endüstriyel üretime geçiş ile standart kalitede ürün almak için stabil ve öngörülebilir sonuçlar veren starter kültürler olan talebin artması tanımlanmış MSS kültürlerin üretilmesine neden olmuştur (Bassi vd., 2015; Bintsis ve Papademas, 2018).

Tanımlanmamış MSS kültürler içerisinde bakteriler ile birlikte bazı küfler ve mayalarda yer alabilmektedir. Bu mikroflora, üretilen üründe farklı biyokimyasal değişimler meydana getirir. Bu değişimler ise son üründe farklı tat ve aroma gibi özelliklerin gelişmesine neden olmaktadır (Altieri, 2017). Bu nedenle günümüzde Parmigiano Reggiano, Grana Padano, Provolone, Mozzarella, Caciocavallo, Silano gibi bazı geleneksel/artizanal peynirlerin üretiminde geleneksel yöntem ile (back-slopping) hazırlanan tanımlanmamış MSS kültürleri hâlâ kullanılmaktadır (Parente vd., 2016). Tanımlanmış ve tanımlanmamış MSS kültürleri arasındaki en önemli fark bu kültür çeşitlerinin bakteriyofaj saldırısına karşı olan duyarlılıklarıdır. Genel olarak tanımlanmış starterler, peynir üretimi sırasında tanımlanmamış starterlere göre bakteriyofaj saldırısına karşı daha savunmasızdırlar. Bu özellik, ilginç fonksiyonel özelliklere sahip yeni suşların izolasyonu için bir kaynak işlevi gören karışık suşlu kültürler olan ilgiyi artırmaktadır (Smid vd., 2014; Gobbetti vd., 2018a).

GELİŞME SICAKLIKLARINA GÖRE STARTER KÜLTÜRLER

Mezofilik Starter Kültürler

Birincil starterler, optimum gelişme sıcaklıklarına göre mezofilik starterler ve termofilik starterler

olarak sınıflandırılmaktadır (Yaygın ve Kılıç, 1993). Mezofilik starterler homofermantatif ve heterofermantatif laktokok türlerinden oluşan, yaklaşık 30°C'de optimum gelişerek asit üreten, tek ve çok şıslu kültürlerdir (Rodríguez vd., 2012; Taskila, 2017). Mezofilik starterler çoğunlukla asit üreten *Lac. lactis* subsp. *lactis* ve/veya *Lac. lactis* subsp. *cremoris* türleri ile bazı *Leuconostoc* suşlarını içermektedir. *Lac. lactis* subsp. *lactis* ve/veya *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve *Leu. lactis* gibi sitratı kullanabilen aromatik türleri de sıklıkla içerirler. *Lac. lactis* subsp. *cremoris* türü ise diğer mezofilik türlere göre sıcaklığa daha duyarlıdır (Fox vd., 2017b; Blaya vd., 2018). Aromatik suşların temel görevi sitratı metabolize ederek CO₂ ve aroma bileşenlerini üretmektir. Peynir olgunlaşması sırasında açığa çıkan CO₂, bazı peynirlerde göz oluşumuna neden olur. Bu suşlar Gouda, Edam, Cheddar, Camembert ve Beyaz peynir gibi pek çok peynirin üretiminde ve olgunlaştırılmasında kullanılmaktadır (Rodríguez vd., 2012; Kongo, 2013; Parente vd., 2017).

Mezofilik starter kültürler kendi içerisinde tanımlanmış şıslu ve tanımlanmamış şıslu mezofilik starter kültürler (mezofilik MSS) olarak da sınıflandırılmaktadır (Fox vd., 2017b). Mezofilik MSS'ler geleneksel peynirlerin üretiminde kullanılmakta olup çoğunlukla *Lac. lactis*'in alt türlerinden (*Lac. lactis* ssp. *cremoris* ve *Lac. lactis* ssp. *lactis*, *Lac. lactis* ssp. *diacetylactis*) ve %1-10 oranında *Leuconostoc* spp. türlerinden oluşturmaktadır (Frantzen vd., 2017; Carminati vd., 2018). *Leuconostoc* popülasyonunun starter içerisindeki oranı, nihai ürünün özelliklerini ve kalitesini etkilemektedir. *Lac. lactis* ssp. *cremoris* ve *Lac. lactis* ssp. *lactis* asit üretiminden sorumlu iken *Lac. lactis* ssp. *diacetylactis* ve *Leuconostoc* spp. sitratı metabolize ederek (diasetil, asetoin ve CO₂) peynirde aroma ve tekstür oluşumuna katkı sağlamaktadır (Frantzen vd., 2017). Bu özellikleri nedeniyle Gouda, Tilsitter gibi yarı sert peynirler ile Camembert gibi bazı yumuşak peynirlerin üretiminde tercih edilirler (Şatana, 2018). Tanımlanmış mezofilik starter kültürler ise genellikle *Lac. lactis* ssp. *cremoris*'in faj dirençli suşlarından (2-6) oluşmaktadır ve günümüzde çoğu Cheddar peynirinin üretiminde kullanılmaktadır. Bazen de Cheddar peynirinin

üretiminde mezofilik ve termofilik türlerin hem tanımlanmış hem de tanımlanmamış suşları birlikte kullanılabilir (Bottari vd., 2013; Fox vd., 2017b).

Termofilik Starter Kültürler

Termofilik starter kültürler mezofiliklere göre daha yüksek sıcaklıklarda (~42°C) gelişen ve laktik asit üreten kültürlerdir (Fox vd., 2017b). Termofilik starterler *Str. thermophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* gibi türleri içermektedir. Bu starter tipi telemesi haşlanan Grana, Pecorino, Mozzarella gibi İtalyan tipi peynirler ile Emmental, Sbrinz, Gruyère gibi İsviçre tipi sert ve yarı sert peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır (Moser vd., 2017; Blaya vd., 2018; Bioprox, 2019).

Tanımlanmamış termofilik MSS kültürleri *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Str. thermophilus*, *Lb. fermentum* gibi türlerden oluşmaktadır. Genellikle İtalyan ve İsviçre tipi peynirlerin üretiminde kullanılırlar ve bu peynirlerin çoğu PDO etiketine sahiptir (Parente vd., 2016; 2017). Ülkemizde ise geleneksel olarak üretilen Kaşar peynirinin mikroflorası tanımlanmamış termofilik MSS oluşturmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Sert ve yarı sert peynirlerin endüstriyel ölçekteki üretiminde ise *Str. thermophilus* ve *Lb. helveticus*'u içeren tanımlanmış MSS kültürleri kullanılmaktadır (Gobbetti ve Di Cagno, 2017). Özellikle *Lb. helveticus* İsviçre tipi peynirler ve uzun süre olgunlaştırılan İtalyan peynirleri için oldukça önemli bir starterdir. Ayrıca Cheddar peynirlerinde, protein parçalanmasını hızlandırmak ve peynir olgunlaşması sırasında lezzet gelişimini arttırmak için de termofilik kültürlerden faydalanılmaktadır (Stefanovic vd., 2017).

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Şehriban Oğuz'un Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen FDK-2019-7684 No'lu doktora tez çalışmasının bir bölümünden hazırlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Akan, E., Yerlikaya, O., Akpınar, A., Kınık, Ö., Uysal, H. R. (2016). Çiğ Süt Peynirlerinin Mikrobiyolojik Açından Yararları ve Yol Açtığı Riskler. Türkiye 12. Gıda Kongresi, 05-07 Ekim 2016, Edirne, Türkiye, 99 s.
- Albayrak, Ç. B., (2017). Antifungal Aktivite Üreten Laktik Asit Bakterileri. *ADÜ Ziraat Derg.*, 14(1): 79-85. Doi: 10.25308/aduziraat.295740.
- Altieri, C., Ciuffreda, E., Di Maggio, B., Sinigaglia, M. (2017). Lactic Acid Bacteria as Starter Cultures. In: *Starter Cultures in Food Production*, Speranza, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 1-15.
- 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 (2017a). History of Cheese. www.idfa.org/news-views/media-kits/cheese/history-of-cheese (Accessed: 15/07/2017).
- Anonymous (2018a). Find over 1800 Specialty Cheeses from 74 Countries in The World's Greatest Cheese Resource. www.cheese.com (Accessed: 15/06/2018).
- Anonymous (2019a). Cultures and Starter Manufacture. <https://dairyprocessinghandbook.com/chapter/cultures-and-starter-manufacture> (Accessed: 17/04/2019).
- Anonymous (2019b). Liyofilize Ürünlerin Validasyonu. https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/70524/mod_resource/content/0/15.hafta.pdf (Erişim Tarihi: 06/06/2019).
- Bachmann, H., Pronk, J. T., Kleerebezem, M., Teusink, B. (2015). Evolutionary Engineering to Enhance Starter Culture Performance in Food Fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 32: 1-7. Doi: /10.1016/j.copbio.2014.09.003.
- Banjara, N., Suhr, M. J., Hallen-Adams, H. E. (2015). Diversity of Yeast and Mold Species from A Variety of Cheese Types. *Curr. Microbiol.*, 70(6): 792-800. Doi: 10.1007/s00284-015-0790-1.
- Bassi, D., Puglisi, E., Cocconcelli, P. S. (2015). Comparing Natural and Selected Starter Cultures in Meat and Cheese Fermentations. *Curr. Opin. Food Sci.*, 2: 118-122. Doi: 10.1016/j.cofs.2015.03.002.
- Bintsis, T. (2018). Lactic Acid Bacteria as Starter Cultures: An Update in Their Metabolism and Genetics. *AIMS Microbiol.*, 4(4): 665-684. Doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665.
- Bintsis, T., Papademas, P. (2018). An Overview of The Cheesemaking Process. In: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, Papademas, P., Bintsis, T. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 120-156.
- Bioprox (2019). Cheesemaking Technologies. www.bioprox.com/en/products/cheesemaking-technologies/ (Accessed: 30/04/2019).
- Blaya, J., Barzideh, Z., LaPointe, G. (2018). Interaction of Starter Cultures and Nonstarter Lactic Acid Bacteria in The Cheese Environment. *J. Dairy Sci.*, 101: 1-19. Doi: 10.3168/jds.2017-13345.
- Bottari, B., Agrimonti, C., Gatti, M., Neviani, E., Marmiroli, N. (2013). Development of A Multiplex Real Time PCR to Detect Thermophilic Lactic Acid Bacteria in Natural Whey Starters. *Int. J. Food Microbiol.*, 160(3): 290-297. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.10.011.
- Budak, Ş. Ö., Koçak, C., Bron, P. A., De Vries, R. P. (2018). Role of Microbial Cultures and Enzymes During Cheese Production and Ripening. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, the USA, pp. 182-203.
- Carminati, D., Giraffa, G., Zago, M., Marcó, M. B., Guglielmotti, D., Binetti, A. (2016). Lactic Acid Bacteria for Dairy Fermentations: Specialized Starter Cultures to Improve Dairy Products. In: *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria. Novel Applications*, Mozzi F., Raya, R. R., Vignolo, G. M. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 191-208.

- Castro, R. D., Oliveira, L. G., Sant'Anna, F. M., Luiz, L. M. P., Sandes, S. H. C., Silva, C. I. F., Silva, A. M., Nunes, A. C., Penna, C. F. A. M., Souza, M. R. (2016). Lactic Acid Microbiota Identification in Water, Raw Milk, Endogenous Starter Culture, and Fresh Minas Artisanal Cheese from The Campo Das Vertentes Region of Brazil During The Dry and Rainy Seasons. *J. Dairy Sci.*, 99(8): 6086-6096. Doi: 10.3168/jds.2015-10579.
- Cheng, L., Marinelli, L. J., Grosset, N., Fitz-Gibbon, S. T., Bowman, C. A., Dang, B. Q., Russell, D. A., Jacobs-Sera, D., Shi, B., Pellegrini, M., Miller, J. F., Gautier, M., Hatfull, G. F., Modlin, R. L. (2018). Complete Genomic Sequences of *Propionibacterium Freudenreichii* Phages from Swiss Cheese Reveal Greater Diversity than *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) Acnes Phages. *BMC Microbiol.*, 18(1): 19. Doi: 10.1186/s12866-018-1159-y.
- Chr. Hansen (2019). The Start of The Starter Cultures. www.chr-hansen.com/en/about-us/history#15 (Accessed: 17/05/2019).
- Coloretti, F., Chiavari, C., Luise, D., Tofalo, R., Fasoli, G., Suzzi, G., Grazia, L. (2017). Detection and Identification of Yeasts in Natural Whey Starter for Parmigiano Reggiano Cheese-making. *Int. Dairy J.*, 66: 13-17. Doi: 10.1016/j.idairyj.2016.10.013.
- Conte, A., Lacivita, V., Esposito, D., Saccotelli, M. A., A Del Nobile, M. (2014). Patents on The Advances in Dairy Industry. *Recent Patents on Engineering*, 8(1): 41-49.
- Corbo, M. R., Racioppo, A., Monacis, N., Speranza, B. (2017). Commercial Starters or Autochthonous Strains? That is the question. In: *Starter Cultures in Food Production* (1st Edition), Speranza, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 174-198.
- Coulibaly, I., Kouassi, Kouassi, E. K., N'guessan, E., Destain, J., Béra, F., Thonart, P., (2018). Lyophilization (Drying Method) Cause Serious Damages to the Cell Viability of Lactic Acid Bacteria. *Annul. Res. Rev. Biol.*, 24(4): 1-15. Doi: 10.9734/ARRB/2018/39265.
- Cotter, P. D., Beresford, T. P. (2017). Microbiome Changes During Ripening. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 389-409.
- Cuffia, F., Bergamini, C. V., Wolf, I. V., Hynes, E. R., Perotti, M. C. (2019). Influence of The Culture Preparation and The Addition of An Adjunct Culture on The Ripening Profiles of Hard Cheese. *J. Dairy Res.*, 86(1): 120-128.
- de LeBlanc, A. D. M., Luerce, T. D., Miyoshi, A., Azevedo, V., LeBlanc, J. G. (2018). Functional Food Biotechnology: The Use of Native and Genetically Engineered Lactic Acid Bacteria. In: *Omics Technologies and Bio-Engineering Towards Improving Quality of Life*, Volume 2, Academic Press, London, pp. 105-128.
- de Melo Carvalho, T. (2018). Consistent Scale-Up of The Freeze-Drying Process, Doctoral Dissertation, Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark, 135 p.
- Demirgöl, F., Sağdıç, O. (2017). Laktik Starter Kültür Üretim Teknolojisi. *EJOSAT*, 7: 27-37.
- Dolci, P., Cocolin, L. S. (2017). Starter Strains and Adjunct Non-Starter Lactic Acid Bacteria (NSLAB) in Dairy Products. In: *Microbiology in Dairy Processing: Challenges and Opportunities* (1st Edition), Poltronieri, P. (Ed.), John Wiley & Sons Ltd and The Institute of Food Technologists, West Sussex, UK, pp. 177-189.
- Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E., Silva, C. C. G. (2017). Genetic Diversity, Safety and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Artisanal Pico Cheese. *Food Microbiol.*, 63: 178-190. Doi: 10.1016/j.fm.2016.11.014.
- Elmalı, G., Uylaşer, V. (2012). Geleneksel Gıdalarda Çeçil Peynirinin Üretimi ve Özellikleri. *Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 26(1): 83-92.
- Engels, W., Dusterhoft, E. M., Huppertz, T. (2017). Starter Cultures for Cheese Manufacture. In: *Reference Module in Food Science*, Elsevier, New York, the USA, pp. 1-4.

- Eroğlu, E., Özcan, T. (2018). Sütün Enzimatik Koagülasyonu ve Peynir Üretiminde Bitkisel Pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(2): 201-214.
- Ertürkmen, P. (2014). Beyaz Peynir Üretimi için Starter Kültür İzolasyonu ve Bu Kültürlerin Peynirin Özellikleri Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 107 s.
- Fellows, P. J. (2017). Freeze Drying and Freeze Concentration. In: *Food Processing Technology*, Woodhead Publishing, Duxford, UK, pp. 929-945.
- Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., de los Reyes-Gavilán, C. G. (2015). Impact on Human Health of Microorganisms Present in Fermented Dairy Products: An Overview. *Bio. Med. Res. Int.*, 1-13. Doi: 10.1155/2015/412714.
- Ferreira, A. A. (2016). Biodiversity of Lactic Acid Bacteria and Preserving by Freeze and Spray Drying of *Lactobacillus plantarum* from Marajó Cheese. Master Thesis, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil.
- Foerst, P., Santivarangkna, C. (2015). Advances in Starter Culture Technology: Focus on Drying Processes. In: *Advances in Fermented Foods and Beverages*, Holzappel, W. (Ed.), Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 249-270.
- Fonseca, F., Cenard, S., Passot, S. (2015). Freeze-drying of Lactic Acid Bacteria. In: *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*, Walker, J. M., Oldenhof, H. (Eds.), Springer, New York, the USA, pp. 477-488.
- Fox, P. F., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2017b). Factors That Affect the Quality of Cheese. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 617-641.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. (2017a). *Fundamentals of Cheese Science*. 2nd Edition, Springer, New York, 799 p. ISBN: 978-1-4899-7679-6.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (2017). Overview of Cheese Manufacture. In: *Fundamentals of Cheese Science* (2nd Edition), Springer, New York, pp. 11-25.
- Frantzen, C. A., Kot, W., Pedersen, T. B., Ardö, Y. M., Broadbent, J. R., Neve, H., Hansen, L. H., Bello F. D., Østlie, H. M., Kleppen, H. P., Vogensen, F. K., Holo, H. (2017). Genomic Characterization of Dairy Associated *Leuconostoc* species and Diversity of *Leuconostocs* in Undefined Mixed Mesophilic Starter Cultures. *Front Microbiol.*, 8: 132. Doi: 10.3389/fmicb.2017.00132.
- Fröhlich-Wyder, M. T., Arias-Roth, E., Jakob, E. (2019). Cheese Yeasts. *Yeasts*, 36(3): 129-141. Doi: 10.1002/yea.3368.
- Gagnaire, V., Jardin, J., Rabah, H., Briard-Bion, V., Jan, G. (2015). Emmental Cheese Environment Enhances *Propionibacterium freudenreichii* Stress Tolerance. *PLoS One*, 10(8): e0135780. Doi: 10.1371/journal.pone.0135780.
- Gatti, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E., Mucchetti, G. (2014). Invited Review: Microbial Evolution in Raw-Milk, Long-Ripened Cheeses Produced Using Undefined Natural Whey Starters. *J. Dairy Sci.*, 97: 1-19. Doi: 10.3168/jds.2013-7187.
- Giraffa, G., Zago, M., Carminati, D. (2018). Lactic Acid Bacteria Bacteriophages in Dairy Products: Problems and Solutions. In: *Microbiology in Dairy Processing*, John Wiley & Sons Ltd and The Institute of Food Technologists, West Sussex, UK, pp. 233-250.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L., Fox, P. F. (2015). Pros and Cons for Using Non-starter Lactic Acid Bacteria (NSLAB) As Secondary/Adjunct Starters for Cheese Ripening. *Trends Food Sci. Technol.*, 45(2): 167-178. Doi: 10.1016/j.tifs.2015.07.016.
- Gobbetti, M., Di Cagno, R. (2017). Extra-hard varieties. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 809-828.

- Gobbetti, M., Di Cagno, R., Calasso, M., Neviani, E., Fox, P.F., De Angelis, M. (2018a). Drivers That Establish and Assembly The Lactic Acid Bacteria Biota in Cheeses, *Trends Food Sci. Technol.*, 78: 244-254. Doi: 10.1016/j.tifs.2018.06.010.
- Gobbetti, M., Neviani, E., Fox, P. (2018b). *The Cheeses of Italy: Science and Technology*. 1st Edition, Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 288 p. ISBN: 978-3-319-89854-4.
- Gong, P., Zhang, L., Han, X., Shigwedha, N., Song, W., Yi, H., Du, M., Cao, C. (2014). Injury Mechanisms of Lactic Acid Bacteria Starter Cultures During Spray Drying: A Review. *Dry. Technol.*, 32(7): 793-800. Doi: 10.1080/07373937.2013.860458.
- Guidone, A., Ricciardi, A., Romaniello, A., Bonomo, M. G., Morone, G., Zotta, T., Parente, E. (2016). Microbial Changes of Natural Milk Cultures for Mozzarella Cheese During Repeated Propagation Cycles. *LWT-Food Sci. Technol.*, 65: 572-579. Doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.031.
- Gürsoy, A., Türkmen, N. (2018). Adjunct Cultures in Cheese Technology. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, Hershey PA, the USA, pp. 234-256.
- Halkman, A. K., Taşkın, Y. (2001). Süt Ürünleri Endüstrisinde Starter Kültür. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 10: 13-18.
- Hansen, E. B. (2014). Starter Cultures: Uses in the Food Industry. In: *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Edition), Batt, C. A., Tortorello, M. L. (Chief Eds.), Volume 3, Academic Press, Amsterdam, 529-534 p. ISBN: 9780123847331.
- Hayaloğlu, A., Özer, B. (2011). *Peynir Biliminin Temelleri*. Sidas Medya, İzmir, Türkiye, 643 s. ISBN: 0310182863.
- Hayaloğlu, A. A. (2016). Cheese: Microbiology of Cheese. In: *Reference Module in Food Sciences*. Elsevier, New York, the USA, pp. 1–11. Doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.00675-2.
- Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T., Enshasy, H. E. (2018). Lactic Acid Bacteria: From Starter Cultures to Producers of Chemicals. *FEMS Microbiol. Lett.*, 365(20): fny 213. Doi: 10.1093/femsle/fny213.
- Hayek, S. A., İbrahim, S. A. (2013). Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food Nutr. Sci.*, 4(11): 73-87. Doi: 10.4236/fns.2013.411A010.
- Høier, E., Janzen, T., Rattray, F., Sørensen, K., Børsting, M. W., Brockmann, E., Johansen, E. (2010). The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. In: *Technology of Cheesemaking* (2nd Edition), Law, A. B., Tamime, A. Y. (Eds.), Blackwell Publishing, the UK, pp. 166-189.
- Irlinger, F., Layec, S., Helinck, S., Dugat-Bony, E. (2015). Cheese Rind Microbial Communities: Diversity, Composition and Origin. *FEMS Microbiol Lett*, 362: 1-11. Doi: 10.1093/femsle/fnu015.
- Irlinger, F., Helinck, S., Jany, J. L. (2017). Secondary and Adjunct Cultures. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 273-300.
- İrkin, R. (2017). Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Beyaz Peynirlerdeki Starter Kültür Bakterilerinin Canlılıklarına Etkisi. *Akademik Gıda*, 15(3): 308-314. Doi: 10.24323/akademik-gida.345276.
- Johansen, P., Vindeløv, J., Arneborg, N., Brockmann, E. (2014). Development of Quantitative PCR and Metagenomics-Based Approaches for Strain Quantification of A Defined Mixed-Strain Starter Culture. *Syst. Appl. Microbiol.*, 37(3): 186-193. Doi: 10.1016/j.syapm.2013.12.006.
- Johnson, M. E. (2013). Mesophilic and Thermophilic Cultures Used in Traditional Cheesemaking. *Microbiol Spectr.*, 1(1): CM-0004-2012. Doi: 10.1128/microbiolspec.CM-0004-2012.
- Kamber, U. (2015). Traditional Turkey Cheeses and Their Classification. *Van Vet. J.*, 26(3): 161-171.
- Kandasamy, S., Kavitate, D., Shetty, P. H. (2018). Lactic Acid Bacteria and Yeasts as Starter Cultures for Fermented Foods and Their Role in Commercialization of Fermented Foods.

- In: *Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries*, Panda S., Shetty P. (Eds.), Springer, Switzerland, pp. 25-52.
- Kara, R., Akkaya, L. (2015). Afyon Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Fiziko-Kimyasal Özellikleri ile Laktik Asit Bakteri Dağılımlarının Belirlenmesi. *Aku J. Sci. Eng.* 15: 1-6. Doi: 10.5578/fmbd.8717.
- Karabıyık, Ş., Erdoğan, S. (2019). Peynir Üretiminde Mikroorganizmaların Rolü ve Önemli Mikroorganizma Grupları. *JRENS*, 1: 35-45.
- Karagül, M. S., Altuntaş, B. (2018) Liyofilizasyon: Genel Proses Değerlendirmesi. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 29(1): 62-69.
- Kelleher, P., Murphy, J., Mahony, J., Van Sinderen, D. (2015). Next-Generation Sequencing as An Approach to Dairy Starter Selection. *Dairy Sci. Technol.*, 95(5): 545-568. Doi: 10.1007/s13594-015-0227-4.
- Kılıç, S., (2010). *Süt mikrobiyolojisi*. Sidas Medya, İzmir, 643.
- Kılıç, S. (2014). *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir, Türkiye, s. 451.
- Kırmacı, H. A., Hayaloğlu, A. A., Özer, H. B., Atasoy, A. F., Levent, O. (2015). Effects of Wild-Type Starter Culture (Artisanal Strains) on Volatile Profile of Urfa Cheese Made from Ewe Milk. *Int. J. Food Prop.*, 18(9): 1915-1929. Doi: 10.1080/10942912.2014.942782.
- Kiraz, Ş. (2018). Çorum Yöresinde Üretilen Geleneksel Kargı Tulum Peynirlerinin Bazı Bileşim Özelliklerinin Belirlenmesi. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Çorum, Türkiye, 45 s.
- Klaubauf, S., Segers, F. J. J. (2018). Research Tools and Methods for the Analysis of Microbiota in Dairy Products. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, Hershey PA, the USA, pp. 23-53.
- Kongo, J. M. (2013). Lactic Acid Bacteria As Starter-Cultures for Cheese Processing: Past, Present and Future Developments. In: *Lactic Acid Bacteria - R&D for Food, Health and Livestock Purposes*, Intech, Rijeka, Croatia, pp. 3-22.
- Ladero, V., Martín, M. C., Redruello, B., Mayo, B., Flórez, A. B., Fernández, M., Alvarez, M. A. (2015). Genetic and Functional Analysis of Biogenic Amine Production Capacity Among Starter and Non-starter Lactic Acid Bacteria Isolated from Artisanal Cheeses. *Eur. Food Res. Technol.*, 241(3): 377-383. Doi: 10.1007/s00217-015-2469-z.
- Levante, A., De Filippis, F., La Stora, A., Gatti, M., Neviani, E., Ercolini, D., Lazzi, C. (2017). Metabolic Gene-Targeted Monitoring of Non-Starter Lactic Acid Bacteria During Cheese Ripening. *Int. J. Food Microbiol.*, 257: 276-284. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.07.002.
- Linares, D. M., Gomez, C., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadajo, M. E., Ross, R. P., Stanton, C. (2017). Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. *Front. Microbiol.*, 8: 1-11 (Article 846). Doi: 10.3389/fmicb.2017.00846.
- Majcher, M. A., Myszka, K., Gracka, A., Grygier, A., Jeleń, H. H. (2017). Key Odorants of Lazur, a Polish Mold-Ripened Cheese. *J. Agr. Food Chem.*, 66(10): 2443-2448. Doi: 10.1021/acs.jafc.6b04911.
- Majhenič, A. Č., Matijašić, B. B., Trmčić, A., & Rogelj, I. (2014). Tailor-Made Starter Cultures for Preserving the Uniqueness of Traditional Cheeses. In: *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*, Vittal, R. R., Aswathanarayan, J. B. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, the USA, pp. 34-53.
- Malo, P. M., Urquhart, E. A. (2016). Fermented Foods: Use of Starter Cultures. In: *Encyclopedia of Food and Health*, Caballero, B., Finglas, Paul M., Toldrá, F. (Eds.), Academic Press, Waltham MA, the USA, pp. 681-685.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., Hutkins, R. (2017). Health Benefits of Fermented Foods: Microbiota and Beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 44: 94-102. Doi: 10.1016/j.copbio.2016.11.010.

- Metin, M. (2014). *Süt Teknolojisi-Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, Türkiye, s. 802. ISBN: 978-975-483-279-2.
- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmaures, N., Berthier, F. (2014). Traditional Cheeses: Rich and Diverse Microbiota with Associated Benefits. *Int. J. Food Microbiol.*, 177: 136-154. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019.
- Moser, A., Berthoud, H., Eugster, E., Meile, L., Irmeler, S. (2017). Detection and Enumeration of *Lactobacillus helveticus* in Dairy Products. *Int. Dairy J.*, 68: 52-59. Doi: 10.1016/j.idairyj.2016.12.007.
- Mullan, W. M. A. (2017). Microbiology of Starter Cultures. <https://www.dairyscience.info/index.php/cheese-starters/49-cheese-starters.html> (Accessed: 10 June, 2019).
- Nasrollahi, S., Nasrollahi, A., Esmacili, P., Kaviani, M., Shariati, M. A. (2016). A Short Review on Cheese Starters Cultures. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.*, 5(1): 18-20.
- Ojala, T., Laine, P. K., Ahlroos, T., Tanskanen, J., Pitkänen, S., Salusjärvi, T., Kankainen, M., Tynkkynen, S., Paulin, L., Auvinen, P. (2017). Functional Genomics Provides Insights into The Role of *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *sbermanii* JS in Cheese Ripening. *Int. J. Food Microbiol.*, 241: 39-48. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.09.022.
- O'Sullivan, O., Cotter, P. D. (2017). Microbiota of Raw Milk and Raw Milk Cheeses. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 301-316.
- Özer, E., Kesenkaş, H. (2012). Propiyonik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması. *Akademik Gıda*, 10(1): 92-96.
- Öztürk, S., Çakır, İ. (2015). Mikroorganizma Kültürlerinin Korunmasında Kullanılan Kurutma Yöntemleri. *Akademik Gıda*, 13(1): 94-100.
- Öztürkcan, A., Acar, S. (2017). Yaygın Olarak Kullanılan Antimikrobiyal Gıda Katkı Maddeleri ile İlgili Genel Bir Değerlendirme. *IGUSABDER*, 1: 1-17.
- Panthen, R. R., Jordan, K. N., Kelly, A. L., Sheehan, J. D. (2017). Selection and Treatment of Milk for Cheesemaking. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 23-50.
- Parente, E., Cogan, T. M., Powell, I. B. (2017). Starter Cultures: General Aspects. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 201-226.
- Parente, E., Guidone, A., Matera, A., De Filippis, F., Mauriello, G., Ricciardi, A. (2016). Microbial Community Dynamics in Thermophilic Undefined Milk Starter Cultures. *Int. J. Food Microbiol.*, 217: 59-67. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.014.
- Peighambardoust, S. H., Tafti, A. G., Hesari, J. (2011). Application of Spray Drying for Preservation of Lactic Acid Starter Cultures: A Review. *Trends Food Sci. Technol.*, 22(5): 215-224. Doi: 10.1016/j.tifs.2011.01.009.
- Picon, A. (2018). Cheese Microbial Ecology and Safety. In: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, Papademas, P., Bintsis, T. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 71-99.
- Pogačić, T., Mancini, A., Santarelli, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E., Gatti, M. (2013). Diversity and Dynamic of Lactic Acid Bacteria Strains During Aging of a Long Ripened Hard Cheese Produced from Raw Milk and Undefined Natural Starter. *Food Microbiol.*, 36(2): 207-215. Doi: 10.1016/j.fm.2013.05.009.
- Polo, L., Mañes-Lázaro, R., Olmeda, I., Cruz-Pio, L. E., Medina, Á., Ferrer, S., Pardo, I. (2017). Influence of Freezing Temperatures Prior to Freze-drying on Viability of Yeasts and Lactic Acid Bacteria Isolated from Wine. *J. Appl. Microbiol.*, 122(6): 1603-1614. Doi: 10.1111/jam.13465.
- Pophaly, S. D., Chauhan, M., Lule, V., Sarang, P., Tarak, J., Thakur, K., Tomar, S. K. (2018). Functional Starter Cultures for Fermented Dairy

- Products. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, the USA, pp. 54-68.
- Puniya, A. K., Kumar, S., Puniya, M., Malik, R. (2016). Fermented Milk and Dairy Products: An Overview. In: *Fermented Milk and Dairy Products*, Puniya, A. K. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, the USA, pp. 3-24.
- Quigley, L., O'sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. (2013). The Complex Microbiota of Raw Milk. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37(5): 664-698. Doi: 10.1111/1574-6976.12030.
- Rakhmanova, A., Khan, Z. A., Shah, K. (2018). A Mini Review Fermentation and Preservation: Role of Lactic Acid Bacteria. *MOJ Food Process Technol.*, 6(5): 414-417.
- Rama, G. R., Kuhn, D., Beux, S., Maciel, M. J., de Souza, C. F. V. (2019). Potential Applications of Dairy Whey for The Production of Lactic Acid Bacteria Cultures. *Int. Dairy J.*, (in press). Doi: 10.1016/j.idairyj.2019.06.012.
- Rašović, M. (2017). Potential of Indigenous Lactobacilli As Starter Culture in Dairy Products. *APTEFF*, 48: 39-52. Doi: 10.2298/APT1748039B.
- Raus-Madiedo, P., Rodríguez, A. (2017). Non-starter Bacteria 'Functional' Culture. In: *Starter Cultures in Food Production*, Speranza, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 64-78.
- Riquelme, C., Câmara, S., Maria de Lurdes, N., Vinuesa, P., da Silva, C. C. G., Malcata, F. X., Rego, O. A. (2015). Characterization of The Bacterial Biodiversity in Pico Cheese (An Artisanal Azorean Food). *Int. J. Food Microbiol.*, 192: 86-94. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.031.
- Rodríguez, A., Martínez, B., Suárez, J. E. (2012). Dairy Starter Cultures. In: *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology* (2nd Edition), Hui, Y. H. (Chief Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, the USA, pp. 31-48.
- Sancak, H., İşleyici, Ö., Tuncay, R. M., Sancak, Y. C. (2018). Geleneksel Olarak Üretilen Bitlis Tulum Peyniri ve Kimyasal Kalite Nitelikleri. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2): 380-389.
- Sgarbi, E., Bottari, B., Gatti, M., Neviani, E. (2014). Investigation of The Ability of Dairy Nonstarter Lactic Acid Bacteria to Grow Using Cell Lysates of Other Lactic Acid Bacteria as The Exclusive Source of Nutrients. *Int. J. Dairy Technol.*, 67(3): 342-347. Doi: 0.1111/1471-0307.12132.
- Sharma, S. K., Kumar, R., Vaishnav, A., Sharma, P. K., Singh, U. B., Sharma, A. K. (2017). Microbial Cultures: Maintenance, Preservation and Registration. In: *Modern Tools and Techniques to Understand Microbes*, Varma, A., Sharma, A. K. (Eds), Springer International Publishing, Cham, Switzerland, pp. 335-367.
- Smid, E. J., Erkuş, O., Spus, M., Wolkers-Rooijackers, J. C.M., Alexeeva, S., Kleerebezem, M. (2014). Functional Implications of The Microbial Community Structure of Undefined Mesophilic Starter Cultures. *Microb. Cell Fact.*, 13(Suppl 1):S2. Doi: 10.1186/1475-2859-13-S1-S2.
- Smid, E. J., Lacroix, C. (2013). Microbe-microbe Interactions in Mixed Culture Food Fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 24(2): 148-154. Doi: 10.1016/j.copbio.2012.11.007.
- Soran, G. Ş. (2018). Geleneksel Peynirlerin Üretimine Uygun Doğal Starter Kültürlerin Üretimi ile Bu Kültürlerin Laktik Asit Bakteri Floralarının Tanımlanması ve Karakterizasyonu. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Şanlıurfa, Türkiye, 106 s.
- Soran, G. Ş., Çelik, Ş. (2018). Telemesi Haşlanan Geleneksel Peynirlerimizin Üretimine Uygun Doğal Starter Kültür Geliştirilmesi. *HU. Müh. Derg.*, 3(1): 15-19.
- Speranza, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (Eds.). (2017). *Starter Cultures in Food Production*. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, 421 p.
- Spus, M., Li, M., Alexeeva, S., Wolkers-Rooijackers, J. C. M., Zwietering, M. H., Abee, T.,

- Smid, E. J. (2015). Strain Diversity and Phage Resistance in Complex Dairy Starter Cultures. *J. Dairy Sci.*, 98(8): 5173-5182. Doi: 10.3168/jds.2015-9535.
- Suliman, A. M., (2017). *Microbial Starter Cultures*. Lap Lambert Academic Publishing, Beau Bassin, Mauritius, 180 p. ISBN: 978-620-2-05961-9.
- Surono, S., Hosono, A. (2011). Fermented Milks | Starter Cultures. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2nd Edition), Fuquay, J. W., Fox, P. F., McSweeney P. L. H. (Eds.), Volume 2, Academic Press, San Diego, the USA, pp. 477-482.
- Stefanovic, E., Fitzgerald, G., McAuliffe, O. (2017). Advances in The Genomics and Metabolomics of Dairy Lactobacilli: A Review. *Food Microbiol.*, 61: 33-49. Doi: 10.1016/j.fm.2016.08.009.
- Şatana, E. (2018). Preparation, Production and Industrial Application of Cheese Protective Cultures. İzmir Institute of Technology, the Graduate School of Engineering and Sciences, Doctoral Dissertaion, İzmir, Turkey, 166 p.
- Şimşek, Ö., Gürsoy, O., Dalca, S. H., Yılmaz, Y. (2016). Laktik Asit Bakterilerinde Otoliz ve Peynir Teknolojisindeki Önemi. *Akademik Gıda*, 14(3): 293-301.
- Tanimomo, J., Delcenserie, V., Taminiau, B., Daube, G., Saint-Hubert, C., Durieux, A. (2016). Growth and Freeze-Drying Optimization of *Bifidobacterium crudilactis*. *Food Nutr. Sci.*, 7: 616-626. Doi: 10.4236/fns.2016.77063.
- Taskila, S. (2017). Industrial Production of Starter Cultures. *Starter Cultures in Food Production*. In: *Starter Cultures in Food Production*, Speranza, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp.79-100.
- Tetra Pak (2019). Spray Dryers for Dairy Products . <https://www.tetrapak.com/processing/spray-drying> (Accessed: 14/05/2019).
- Topuk, Ş., Sezer, Ç. (2015). Kars Gravyer Peynirlerinin Bazı Kalite Özellikleri. *Gıda*, 40(2): 69-75. Doi: 10.15237/gıda.GD14053.
- Tunail, N., Köşker, Ö. (1989). *Süt Mikrobiyolojisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 138 s.
- Tunail, N. (2009). *Mikrobiyoloji*. Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 448 s. ISBN: 6056036200.
- Vandera, E., Kakouri, A., Koukkou, A. I., Samelis, J. (2019). Major Ecological Shifts within The Dominant Nonstarter Lactic Acid Bacteria in Mature Greek Graviera Cheese As Affected by The Starter Culture Type. *Int. J. Food Microbiol.*, 290: 15-26. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.014.
- Vázquez-Velázquez, R., Salvador-Figueroa, M., Adriano-Anaya, L., DeGyves-Córdova, G., Vázquez-Ovando, A. (2018). Use of Starter Culture of Native Lactic Acid Bacteria for Producing an Artisanal Mexican Cheese Safe and Sensory Acceptable. *CYTA-J. Food*, 16(1): 460-468. Doi: 10.1080/19476337.2017.1420694.
- Widyastuti, Y., Febrisiantosa, A. (2014). The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation. *Food Nutr. Sci.*, 5(4): 435-442. Doi: /10.4236/fns.2014.54051.
- Yalçın, S. K., Ergül, Ş. Ş., Özbaş, Z. Y. (2011). Peynir Mikroflorasındaki Mayaların Önemi. *Gıda*, 36(1): 55-62.
- Yaygın, H., Kılıç, S. (1993). *Süt Endüstrisinde Saf Kültür*. Altındağ Matbaacılık, İzmir, Türkiye, 108 s.
- Yerlikaya, O., (2014). Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmasında Kullanılan Başlıca Fenotipik ve Moleküler Yöntemler. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 14: 8-22.
- Yunita, D., Dodd, C. E. (2018). Microbial Community Dynamics of A Blue-veined Raw Milk Cheese from The United Kingdom. *J. Dairy Sci.*, 101(6): 4923-4935. Doi: 10.3168/jds.2017-14104.
- Yüce, S. (2017). Peynir ve Yoğurtlardan İzole Edilmiş Olan Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Burdur, Türkiye, 89 s.

Yüce, S., Tahtacı, S., Kılıç, G. B. (2017). Halofilik Laktik Asit Bakterilerinin Ürettiği Hidrolitik Enzimler. *Gıda*, 42(3): 242-251. Doi: 10.15237/gida.GD16088.

Zago, M., Orrù, L., Rossetti, L., Lamontanara, A., Fornasari, M. E., Bonvini, B., Meucci, A., Carminati, D., Cattivelli, L., Giraffa, G. (2017).

Survey on The Phage Resistance Mechanisms Displayed by A Dairy *Lactobacillus helveticus* Strain. *Food Microbiol.*, 66: 110-116. Doi: 10.1016/j.fm.2017.04.014.

MISIRDA KOÇAN ÇÜRÜKLÜĞÜNE NEDEN OLAN FUNGAL TÜRLER VE MISIRDA OLUŞAN MİKOTOKSİNLER

Işılav Lavkor*

Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü, Adana, Türkiye

Geliş / Received: 19.06.2019; Kabul / Accepted: 05.10.2019; Online baskı / Published online: 22.11.2019

Lavkor, I. (2019). Mısırdaki koçan çürüklüğüne neden olan fungal türler ve mısırdaki oluşan mikotoksinler. GIDA (2019) 44 (6): 1197-1209 doi: 10.15237/gida.GD19094

Lavkor, I. (2019). Fungal species causing ear rot in corn and occurred mycotoxins in corn. GIDA (2019) 44 (6): 1197-1209 doi: 10.15237/gida.GD19094

ÖZ

Bu çalışma ile Adana ili 1. ve 2. ürün mısır alanlarında 2015-2016 yılı hasat döneminde, koçan çürüklüğüne neden olan fungal etmenler ve bu fungal etmenler ile bulaşık mısır örneklerinde toksin bulaşma seviyelerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Tarama çalışmalarında toplam 134 mısır tarlasından örnekleme yapılmış ve elde edilen mısır tanelerinden *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsi funguslar izole edilmiştir. İzole edilen bu fungusların morfolojik özelliklerine göre yapılan tanımlama sonucunda *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *Penicillium verrucosum* ve *P. carneum* türleri belirlenmiştir. Mısır örneklerinde mikotoksin (aflatoksin, T-2, zearalenon, okratoksin) araması için, CD-ELISA (Competitive Direct Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) analizi uygulanmıştır. Mikotoksin analizi sonucunda, 48 mısır örneğinde 0.3–72.6 µg/kg aflatoksin, 83 mısır örneğinde 1.5–75.0 µg/kg T-2, 134 mısır örneğinde 3.4–551.9 µg/kg zearalenon, 15 mısır örneğinde ise 1.0–6.5 µg/kg seviyelerinde okratoksin içerikleri belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, T-2, zearalenon, okratoksin, mikotoksin, mısır, koçan çürüklüğü

FUNGAL SPECIES CAUSING EAR ROT IN CORN AND OCCURRED MYCOTOXINS IN CORN

ABSTRACT

The aim of this study was to determine fungal factors causing ear rot and the detection of toxin contamination levels in main and second crops corn during harvest periods in Adana between 2015-2016. Totally 134 corn fields were sampled during the survey studies and *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium* were isolated from the corn grains. *Aspergillus flavus*, *A. terreus*, *A. niger*, *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *Penicillium verrucosum* and *P. carneum* were identified according to the morphological characteristics of these isolated fungi. Competitive Direct Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (CD-ELISA) analysis was performed for mycotoxin (aflatoxin, T-2, zearalenone, ochratoxin) detection of the corn samples. As a result of the mycotoxin analysis, 0.3–72.6 µg/kg aflatoxin was found in 48 corn samples, 1.5–75.0 µg/kg T-2 was seen in 48 corn samples, 3.4–551.9 µg/kg Zearalenone was observed in 134 corn samples, and finally 1.0–6.5 µg/kg ochratoxin was determined in 15 corn samples.

Keywords: Aflatoxin, T-2, zearalenone, ochratoxin, mycotoxin, corn, ear rot

* Yazışmadan sorumlu yazar/Corresponding author

✉: isilav.lavkor@tarimorman.gov.tr

☎: (+90) 322 344 1784

☎: (+90) 322 344 1702

GİRİŞ

Tarım ürünleri içerisinde tahıllar önemli bir yer teşkil etmektedir. Tahıllar gerek Türkiye ve gerekse dünyada insan ve hayvan beslenmesi açısından çok büyük önem arz etmektedir. Mısır yetiştiriciliğinde dünyada ABD, Çin, Brezilya, Meksika, Hindistan ve Arjantin önde gelen ülkelerdir. Ekiliş alanı ve üretim bakımından Türkiye 19. sırada bulunmaktadır (Anonymous, 2016). Türkiye’de mısır 5.9 milyon da alanda ve dekara 964 kg verim ile 5.7 milyon ton toplam mısır üretilmektedir (TÜİK, 2019). Adana’nın 2018 yılı mısır ekim alanı ise 739 bin da ve üretimi 843 bin ton olup, verim 1140 kg/da’dır (TÜİK, 2019).

Tarımsal üretimin ülke ekonomisinde önemli bir paya sahip olduğu ülkemizde, biyotik ya da abiyotik faktörler tarafından neden olunan ürün kayıplarının önlenmesi, ya da en aza indirilmesi gerekmektedir. Adana ilinde mısır tarımı genellikle 1. ve 2. ürün şeklinde yapılmaktadır. Bu her iki yetiştirme yönteminde mısır ürünü için mikotoksin oluşum riski genel olsa da, bu risk özellikle ikinci ürün mısır üretiminde daha yüksektir. Çünkü ikinci ürün üretiminde mevsim sonu oluşan yağışlar, tarla döneminde ve kurutmada fungal enfeksiyon ve zararlı saldırılarına neden olmaktadır. Ayrıca Adana’da mısırdan sonra çoğunlukla buğday ekimi yapılmaktadır. Bu şekilde ekimi yapılan ürünlerde *Fusarium*’un hastalık ve mikotoksin oluşumunda artışa neden olduğu bildirilmiştir (Uyanık, 2014). *Fusarium* türlerinin oluşturduğu hastalıkların başında koçan ve sap çürüklüğü ile kök ve kök boğazı çürüklüğü gelmektedir (Büyük, 2011). Koçan çürüklüğü hastalıkları ürün miktarı ve kalitesinde azalmalara neden olmakta, ayrıca hastalığın şiddetine bağlı olarak oluşan toksin miktarları da insan ve hayvan sağlığına zarar verecek seviyelere ulaşabilmektedir (Munkvold, 2001).

Mısırdaki karşılaşılan en yaygın mikotoksinler *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleri tarafından üretilen başta aflatoksin, T-2, zearalenon, okratoksin fumonisin, deoksinivalenol, ve patulin gibi toksinlerdir (Pleadin vd., 2012; Escobar vd., 2013; Alshannaq ve Yu, 2017). Bu funguslar

dünyanın her tarafında olduğu gibi, Akdeniz Bölgesi gibi çeşitli ürünlerin yetiştirildiği tarım alanı topraklarında, havada, çoğu tarım ürünleri üzerinde ve ürün artıklarında bulunmaktadır. Bu funguslar mısır koçan çürüklüklerine neden olan koçan püskülü, tane ve koçan enfeksiyonlarını takiben bazı toksinler üretirler. Toksin üreten fungus türlerinin büyüme ve üreme koşulları birbirinden farklı olsa da; mısırın yetiştirme, hasat, kurutma ve depo koşulları fungusların büyüme ve mikotoksin üretmeleri açısından uygundur (Uyanık, 2014). Tahıllar, yağlı tohumlar ve baharat mikotoksinlerle bulaşık olabilmektedir. Özellikle bunlar arasında insan besini ve hayvan yemi olarak geniş kullanıma sahip olan mısırın yeri çok önemlidir. Bu çalışma ile Adana ilinde yetiştirilen 1. ve 2. ürün mısırlarda oluşan koçan çürüklüğüne neden funguslar ve bu funguslar ile bulaşık mısır örneklerinde aflatoksin, T-2, zearalenon, okratoksin miktarlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Tarama Alanlarında Hasat Döneminde Oluşan Mısır Koçan Çürüklüğünün Belirlenmesi

TÜİK 2015-2016 verileri ortalamalarına göre, Adana ilinde mısır tarımında önemli üretim alanı sıralaması Ceyhan (375 bin da), Yüreğir (190 bin da), Seyhan (116 bin da), Karataş (111 bin da) ve Kozan (91 bin da)’dır. İncelenen tarla alanının, Adana ili mısır ekim alanlarını temsil edecek nitelikte olması için çalışma sistematik örnek alma yöntemine göre yapılmıştır (Bora ve Karaca, 1970). Bu yöntem gereğince, belirlenen güzergahlarda bitkilerin tane dolum döneminden hasada kadarki zaman aralığında bölgedeki üretici tarlalarından ve ilin mısır ekiliş alanlarına göre belirlenmiş tarla sayısı ve büyüklüğü de dikkate alınarak ekim alanının en az %1 kadarını temsil edecek şekilde tesadüfi örnekleme yapılmıştır. Bu duruma göre 2015-2016 yıllarında 1. ve 2. ürün mısır ekilen bölgelerden toplam 134 farklı tarladan mısır bitkisinin hasat döneminde koçan örneği alınmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Adana ili 1. ve 2. ürün mısır hasat dönemlerine ait örnekleme yapılan tarla sayıları (adet) ve örneklenen alan miktarı (da)

Table 1. Number of sampled (number) fields and quantity of sampled areas (da) in main and second crops corn during harvest periods in Adana

Örnek alınan ilçe Sample taken district	Ekiliş Alanı Plantings area (da)	Örneklenen alan (da) Sampled field (da)	Tarla sayısı (adet) Number of field (number)		Örneklenen alan (da) Sampled field (da)	Tarla sayısı (adet) Number of field (number)	
			2015			2016	
		1. ürün Main crop	2. ürün Second crop	1. ürün Main crop	2. ürün Second crop		
Ceyhan	374.924	4214	15	8	3800	14	7
Yüreğir	189.590,5	2435	12	4	1900	10	6
Seyhan	115.824	1235	10	2	1110	9	4
Karataş	110.917,5	1285	7	2	1052	6	3
Kozan	91.089	1205	4	4	1085	5	2
Toplam Total		10.374	48	20	8.947	44	22

Mısır Tane Örneklerin Nem İçeriklerinin Belirlenmesi

Tane nem içeriklerinin belirlenmesi Reed ve Pedersen (1987)'ye göre yapılmıştır. Tane örnekleri 100'er g tartılarak daha önce ağırlığı kaydedilen ve darası alınan cam beher içerisine konulmuştur. Tartım ağırlığı kaydedildikten sonra 130°C'de 3 saat süre ile etüvde kurutulmuştur. Kurutma sonrası ağırlıklar kaydedilmiş ve cam beher ağırlıkları da kullanılarak aşağıdaki formüle göre nem içerikleri tespit edilmiştir.

Mısır Örneğinin Nem Oranı (%): $[100 - (\text{Kurutma sonrası ağırlık} - \text{Cam beher ağırlığı}) / \text{Örnek ağırlığı}] \times 100$

Mısır Tohumlarından Yapılan İzolasyonlar

Üretici tarlalarından alınan her bir mısır koçan örneğinden tesadüfi olarak 100 adet mısır tohumu %2'lik NaOCl solüsyonunda 2 dakika süreyle yüzeysel olarak sterilize edilmiştir. Daha sonra 2 kez steril distile suda çalkalanıp steril kurutma kağıtlarına aktararak kurutulmaya bırakılmıştır. İzolasyonlarda Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamı kullanılmıştır. Yüzeysel olarak sterilize edilmiş ve kurutulmuş mısır tohumları PDA besi ortamı içeren 20 adet petri kabının her birine 5 adet mısır tohumu ekimi yapılmıştır. Ekim yapılan petriyeler 24°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Beş günlük inkübasyon süresinden sonra petriyelerde gelişen koloniler mikroskopta incelenmiş, genel

morfolojik özelliklerine göre koloniler sayılmış ve cins düzeyinde ayırt edilmiştir. Gelişen koloniler saflaştırılmış ve tür tanımlaması için tek spor izolasyonları ile fungal tür tanımlamaları yapılmıştır (Lavkor, 2013).

Fungal Tür Tanımlamaları

Mikolojik izolasyonlar sonucunda, yoğun olarak belirlenen *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* izolatları kültürel ve morfolojik özellikler esasından özel tanı anahtarları kullanılarak tanımlanmaya çalışılmıştır. Fungus tanımında, *Fusarium* türleri için PDA, *Penicillium* türleri için Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA) ve *Aspergillus* türleri için Czapek Agar (CZA) besi ortamları kullanılmıştır. Tanımlama için her bir fungusun bu besi ortamları üzerinde ve belli sıcaklıklardaki büyüme oranları, koloni rengi belirlenmiştir. Gelişen kolonilerin ait oldukları cinsler ve genel morfolojik özellikleri mikroskopik incelemelerde belirlendikten sonra koloniler sayılarak izole edilme oranları hesaplanmıştır.

Fusarium türlerinin tanımlamasında Burgess vd. (1994), Nelson vd. (1994); *Aspergillus* türlerinin tanımlamasında Raper ve Fennel (1977), Samson ve Pitt (1990); *Penicillium* türlerinin tanımlamasında ise Pitt (2000) tarafından geliştirilmiş spesifik tür tanımlama anahtarları kullanılmıştır.

Mısır Örneklerinde CD-ELISA (Competitive Direct Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ile Toksin Seviyelerinin Belirlenmesi

Fungal enfeksiyon taşıyan koçanlardan elde edilen mısır taneleri için mikotoksin analizlerinde CD-ELISA yöntemi uygulanmıştır. En yaygın olarak izole edilen ilk üç toksigen fungus türüne üretilen toksinlerin aranması için Neogen Corporation Veratox'a ait [toplam aflatoksin için Veratox for Aflatoksin, (LOQ 5-50 ppb), T-2 analizi için Veratox for T-2/HT-2 (LOQ 25-250 ppb), Veratox for Zearalenon (LOQ 25-500 ppb), Veratox for Ochratoxin (LOQ 2-25 ppb)] kitler kullanılmıştır.

Örneklerin hazırlanması ve ekstraksiyonu Neogen Vetarox'un önerdiği yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Yönteme göre yaklaşık 1 kg'lık mısır tane örneğinden tesadüfi olarak alınan 50 g öğütülmüştür. Aflatoksin için; öğütülmüş örneklerden 25 g alınmış ve 125 ml %70'lik metanol içerisinde 2 dk. yüksek devirde blenderden geçirilmiştir. T-2 ve ZEN için; öğütülmüş örneklerden 5 g alınmış ve 25 ml %70'lik metanol içerisinde 2 dk. yüksek devirde blenderden geçirilmiştir. Okratoksin için; öğütülmüş örneklerden 25 g alınmış ve 100 ml %50'lik metanol içerisinde 2 dk. yüksek devirde blenderden geçirilmiştir. Bu karışımlar filtre kâğıdından süzülerek, erlenler içerisine alınmıştır.

ELISA platelerine önce toplam aflatoksin (AFL), T-2, zearalenon (ZEN) ve okratoksin (OTA) için spesifik toksin arama kitlerinde mevcut olan liyofilize edilmiş horseradish peroxidase enzimiyle işaretli konjugat ve yine kitte mevcut sulandırma solüsyonu eklenerek hazırlanmıştır. Testlerin tamamında K-Blue substrat kullanılmıştır.

Toplam aflatoksin, T-2, zearalenon ve okratoksin aranması için CD-ELISA testi

ELISA yöntemi Neogen Vetarox'un bildirdiği yöntem uygulanmıştır. Test karışım çukurları içerisine 100 µl konjugat eklenmiştir. Aflatoksin için, mısır örneği süzüntülerinden ve 0, 5, 15, 50 µg/kg hazır toksin standartlarından; T-2 için; mısır örneği süzüntülerinden ve 0, 25, 50, 100, 250 µg/kg hazır olarak temin edilecek toksin

standartlarından; ZEN için; mısır örneği süzüntülerinden ve 0, 25, 75, 150, 500 µg/kg hazır olarak temin edilecek toksin standartlarından; OTA için; mısır örneği süzüntülerinden ve 0, 2, 5, 10, 25 µg/kg hazır olarak temin edilecek toksin standartlarından 100'er µl alınmış ve konjugat eklenmiştir. Karışımlardan 100 µl alınarak ve daha önce antikor ile kaplanmış çukurlara eklenmiş ve 2 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra çukurlar boşaltılmış ve 5 defa distile su ile yıkanmıştır. Her çukura 100 µl substrat eklenmiş ve 3 dk inkübe edilmiştir. Renk oluşumu meydana geldikten sonra 100 µl stop solüsyonu eklenmiş ve 20 dk. içerisinde 650 nm'de ELISA (STAT-FAX) okuyucusunda 4 kez okuma yapılmıştır. Toksin seviyesi µg/kg olarak Neogen Log/Logit Software paket programı kullanılarak hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Mısır Tanelerinin Nem İçerikleri

Adana iline bağlı tarama alanlarında 2015-2016 yılları hasat dönemine ait mısır örneklerinin nem içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Mısır tane örneklerinin nem içerikleri %13-23 arasında bulunmuştur. Hasat döneminde alınan 134 mısır örneğinin 35'inin de nem seviyesi %13-14 iken; geriye kalan 99 örneğin nem seviyesi %15 ile %23 arasında belirlenmiştir. Mısır ürünün nem içeriği, hasadı takiben en kısa zamanda %13-14 seviyesine kurutulması veya tarlada tutularak bu seviyeye düşürülmesi gerekmektedir. Çünkü bu nem seviyesinin üzerinde fungal gelişimlerin oluşması ihtimali oldukça fazladır. Nitekim ürün tarlada iken sahip olduğu yüksek nem içeriği *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin gelişimi için uygun olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Bottalico ve Perrone, 2002; Hawk, 2004). *Fusarium* gibi, *Aspergillus* ve *Penicillium*'ların da nemli ve sıcak bölgelerde hasat öncesi ürün henüz tarlada iken ürünlerde bulaşmaların olduğu, dolayısıyla hasat öncesi tane nem içeriği daha yüksek olan koçanlarda fungusların kolonizasyonunun kolaylıkla oluştuğu bildirilmiştir. Bu nedenle hasat döneminde tane nem içerikleri fungal enfeksiyon açısından çok önemlidir. (D'Mello ve Macdonald, 1998; Büyük, 2011; Tunali vd., 2016).

Çizelge 2. Tarama alanlarında hasat dönemine ait mısır örneklerinin nem içerikleri (%)
 Table 2. Moisture content of corn samples (%) in survey areas during harvest periods

İlçeler Districts	2015				2016			
	1. ürün tarama alanı (adet) Main crop corn survey area (number)	Ort. nem % Avg. moisture (%)	2. ürün tarama alanı (adet) Second crop corn survey area (number)	Ort. nem % Avg. moisture (%)	1. ürün tarama alanı (adet) Main crop corn survey area (number)	Ort. nem % Avg. moist. (%)	2. ürün tarama alanı (adet) Second crop corn survey area (number)	Ort. nem % Avg. moisture (%)
Ceyhan	15	17	8	19	14	17	7	19
Yüreğir	12	13	4	18	10	14	6	18
Seyhan	10	18	2	15	9	15	4	15
Karataş	7	17	2	16	6	14	3	14
Kozan	4	20	4	23	5	20	2	18

Fungal Tür Tanımlamaları

Fusarium izolatlarının mikroskopik özellikleri ve tanısı

Çalışmadan elde edilmiş *Fusarium* izolatlarının *F. verticilloides*, *F. culmorum* ve *F. graminearum* olduğu tür tanımlamaları sonucunda belirlenmiştir.

Fusarium verticilloides (Sacc.) Nirenberg (Syn: *Fusarium moniliforme* Sheldon): PDA besi ortamı üzerinde 24 °C'de 10 günlük inkübasyonla koloni çapı 50 mm'yi aşmış, havai gelişen misel rengi önceleri beyaz iken, sonraları menekşe rengine dönmüştür. Petriye üstten bakıldığında koloni rengi krem-menekşe, koloni tersi rengi kremdir. Bu türün en belirleyici özelliği havai miselyum üzerinde oluşan mikrokonidilerin zincir şeklinde birbirine bağlı olarak gelişimidir.

Fusarium culmorum (W.G. Smith) Sacc.: Koloni çapı 24°C'de 6-7 günlük inkübasyon periyodu sonunda 70 mm'ye ulaşmıştır. Petriye üstten bakıldığında koloni rengi taba, koloni tersten sarımsı renkte görülmektedir. Türün en belirleyici özelliği, petrinin merkezinden ortasına kadar bol miktarda gelişen, turuncu renkli sporadochialardır. Ortalama 3-5 adet bölmeleri olan kalın ve şişkin makrokonidilerin yanı sıra polifialidik konidioforlar üretmektedir.

Fusarium graminearum Schwabe (Teleomorf: *Gibberella zeae* (Schw.) Petch): Makrokonidiler orta uzunlukta ve 3-7 bölmelidir. Ortalama

makrokonidi boyutları 5-28 µm'dir. Klamidospor'un boyutu 4-6 µm'dir. Koloni çapı 24°C'de 4. günde 35-40 mm'ye, 10. günde ise 90 mm'ye ulaşmaktadır. Petriye üstten bakıldığında ve ters koloni rengi pembe dir.

Aspergillus izolatlarının mikroskopik özellikleri ve tanısı

Çalışmada yapılan *Aspergillus* tür tanımlamalarında *A. flavus*, *A. niger* ve *A. terreus* belirlenmiştir. *A. flavus*'un dahil edildiği grubun belli başlı özellikleri, konidial başlığın parlak küre yada sütun şeklinde ve sarımsı yeşil, sterigma tipik olarak iki sıralıdır, konidilerin çoğunlukla küre şeklinde ve sklerotları koyu kırmızımsı kahverengiden, morumsu kahverengiye değişmektedir. Konidiler düz yuvarlak, ortalama çapı 4-6 µm'dir. Vesikül çapı ortalama 60-73 µm ölçülmüştür. 24°C'de koloni çapı 4. günde 20.6 mm, 12. günde ise 60 mm'ye ulaşmıştır. Koloniler kadifemsi, sarıdan yeşile değişen veya kahverengindedir. Koloninin ters tarafı kremden sarı-kahverengimsi renkte görülmektedir. Konidioforlar değişken uzunlukta, pütürlü, çukurlu, dikensidir. Fialidler vesikülün her tarafını kaplar ve bütün yönlerde doğru uzanmaktadır.

A. niger grubunun tipik özellikleri; konidial başlık siyah, küre şeklinde, konidyofor şeffaf ve düz, vesikül küre şeklinde ve renksiz, sterigma tek sıralı veya iki sıralı olabilmektedir. Sklerot krem renginde ve küre şeklinde oluşmaktadır. Konidiler

düz yuvarlak, ortalama uzunluğu 5.5-6 µm'dir. Konidial başlık çapı ortalama 60-73 µm ölçülmüştür. 24°C'de koloni çapı 4. günde 20.1 mm, 12. günde ise 40 mm'ye ulaşmıştır. Koloniye ters tarafından bakıldığında koloni sarı renkte görülmektedir. Fialidler, vesikülün tüm yüzeyini kaplar ve ışnsal bir dizilim göstermektedir.

A. terreus grubunun tipik özellikleri ise; konidial başlık turuncu-kahverengi renkte, uzun kolon şeklinde, konidiyofor şeffaf ve düz, vesikül yarım küre şeklinde ve sterigma iki sıralıdır. Vesikül çapı ortalama 13-15 µm'dir. Konidiler küçük yuvarlak ile hafif oval şekil arasında, ortalama uzunluğu 2 µm'dir. Koloni çapı 24°C'de 10. günde 40-50 mm'ye ulaşmıştır. Koloni üstten sarı-krem renkte iken, koloni tersten açık kahverengi rengeinde görülmektedir.

***Penicillium* izolatlarının mikroskopik özellikleri ve tanısı**

Bu çalışmada elde edilmiş *Penicillium* izolatları *P. carneum* ve *P. verrucosum* olarak tanımlanmıştır. *P. carneum*'un konidileri küre şeklinde, şeffaf ve pürüzlü konidiyoforlara sahiptir. Koniyoforlar terverticillate dallanma desenine sahip, fyalidleri silindiriktir. Koloni çapı 24°C'de 10. günde, 45 mm'ye ulaşmıştır. Mikroskopik görünimleri koyu yeşil-mavi renkte görülürken, koloninin ters tarafından bakıldığında koloni krem-bej rengindedir.

P. verrucosum konidileri küre şeklinde, kondiyoforları pürüzlü ve konidiyofor deseni terverticillatedir. Koloni çapı 24°C'de 10. günde, 25 mm'ye ulaşmıştır. Koloni üstten koyu yeşil renkte görülürken, ters tarafından bakıldığında kırmızı-kahve veya kiremit rengindedir.

Aspergillus'lar, genel olarak depo fungusları olarak gruplandırılmasına karşın; yarfıstığı, buğday, mısır ve pamukta hasat öncesi kök, kök boğazı, başak, koçan ve koza çürüklüğü gibi hastalıklara neden olur (Cast, 2003; Scheidegger ve Payne, 2003). Türkiye'de yapılmış toplam 250 çalışmanın, 116 (%46)'sında *Aspergillus* türlerinin izole edilip, kültürel olarak tanımlandığı ve en yaygın *Aspergillus* türlerinin sırasıyla *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. ochraceus* ve *A. versicolor*

olduğu bildirilmiştir (Asan, 2004). Pacin vd. (2002) Ekvator'un dört farklı bölgesinden, topladıkları 52 adet yeni hasat edilmiş mısır, çeltik, fasulye ve mısır kökenli hayvan yemi örneklerinden oluşan doğal fungal bulaşmaları belirlemişlerdir. Klasik tür teşhis anahtarları kullanarak yaptıkları tür tanımlamalarında toplam 3400 mısır tanesinde *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerini izole etmişler ve belirlenen türlerin %71.4'ünün *A. flavus* ve %28.6'sının *F. graminearum* olduğunu rapor etmişlerdir. Nepal'de yapılan bir çalışmada ise, 68 mısır ve 27 buğday örneğinde kültürel karakterler esasından *Fusarium* türlerini araştırılmış ve %97'si *F. verticillioides*, %4'ü *F. proliferatum*, %24'ü *F. graminearum*; buğdayın %26'sı *F. proliferatum*, %56'sı *F. graminearum* olarak izole edilmiştir (Desjardins vd., 2000). İspanya'nın 14 farklı bölgesinden toplanan yeni hasat edilmiş mısır örneklerinde yapılan mikolojik izolasyonlarda %93.6'dan fazla *Penicillium* bulaşıklığı olduğu saptanmıştır (De Hoog vd., 2000; Jimenez ve Mateo, 2001). Başka bir çalışmada ise, Türkiye'deki tüm tarım bölgelerinden alınan tahıl ve tahıl ürünlerinde %65 oranında *Penicillium* türlerinin izole edildiği rapor edilmiştir (Topal, 2003).

Mısır Örneklerinin Mikolojik İzolasyonları

Tarama alanından toplam 134 mısır örneğinin mikolojik izolasyonlar sonucu tespit edilen fungusların izole edilme oranları ise Çizelge 3'te verilmiştir.

Bu çalışmada yapılan izolasyonlar sonucunda, Çizelge 3'den de görüleceği üzere mısır tanelerinde özellikle *Fusarium* cinsi fungusların izole edilme oranı %75.8-83.7 ile en fazla izole edilen fungus olmuştur. Çalışmamıza benzer şekilde mısır tanelerinde *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* yaygın olarak izole edilen fungus cinsleri olduğu belirlenmiştir (Bottalico, 1998; Abarca vd., 2000; Pacin vd., 2002). *Fusarium* enfeksiyonlarının artışına neden olan faktörlerden birinin ürün rotasyonu olduğu, özellikle buğday+mısır ekim sisteminde *Fusarium* enfeksiyonlarının arttığı bildirilmiştir (Placinta vd., 1999; Gilbert ve Tekauz, 2000; Uyanık, 2014). *Fusarium*'lar soğuk veya sıcak hemen hemen tüm iklim koşullarında tahıllarda etkili olduğu ve

depodaki bulaşmaların ürün henüz tarlada iken başlayan enfeksiyonlardan kaynaklanmış olduğu bildirilmektedir (Gxasheka vd., 2015). Buna karşın *Aspergillus*'lar tropik ve sıcak alanlarda yaygın olmakla birlikte, farklı ekolojik koşullarda bulunabilmektedir. Hasat öncesi mısırlarda, *Aspergillus* enfeksiyonlarının, özellikle Brezilya ve ABD gibi ülkelerde devam eden önemli bir sorun olduğu bildirilmektedir (Udoh vd., 2000; Cardwell

ve Henry, 2004). *Penicillium*'lar daha çok ılıman iklimlerde etkili olsa da, onlar da daha geniş aralıktaki iklim koşullarında gelişebilmektedirler (Gachomo vd., 1994; Uras, 2007). Mısır ve buğday olmak üzere çeşitli tahıl ürünlerinde, Orta-Batı Amerika, İspanya ve Mısır'da hasat öncesi *Penicillium* enfeksiyonlarının bulunduğu ve ekonomik zararlara neden olduğu rapor edilmiştir (Sauer vd., 1992; Jimenez ve Mateo, 2001).

Çizelge 3. Tarama alanlarında hasat dönemlerine ait mısır tanelerinin fungus izole edilme oranları (%)
Table 3. Fungi isolation rates (%) of corn during harvest periods from survey areas

Fungus Fungi	2015				İzole edilme oranları ort. (%) Isolation ratio average (%)
	1. ürün mısır tarama alanı Main crop corn survey area		2. ürün mısır tarama alanı Second crop corn survey area		
	İzole edilen tarla sayısı Number of field isolated	İzole edilme oranı (%) Isolation ratio (%)	İzole edilen tarla sayısı Number of field isolated	İzole edilme oranı (%) Isolation ratio (%)	
<i>A. flavus</i>	18	24.3	20	28.0	26.2
<i>A. terreus</i>	1	4.6	3	16.0	10.3
<i>A. niger</i>	4	11.7	2	10.0	10.9
<i>F. verticilloides</i>	38	72.4	18	65.0	68.7
<i>F. graminearum</i>	6	18.3	1	6.0	12.2
<i>F. culmorum</i>	2	5.6	0	0.0	2.8
<i>P. carneum</i>	5	12.7	4	10.0	11.4
<i>P. verrucosum</i>	5	12.7	0	0.0	6.4
Toplam <i>Aspergillus</i> Total <i>Aspergillus</i>	36	40.6	19	54.0	47.3
Toplam <i>Fusarium</i> Total <i>Fusarium</i>	23	96.3	25	71.0	83.7
Toplam <i>Penicillium</i> Total <i>Penicillium</i>	10	25.4	4	10.0	17.7
	2016				
<i>A. flavus</i>	10	8.7	12	18.4	13.6
<i>A. terreus</i>	5	4.7	4	13.5	9.1
<i>A. niger</i>	10	10.4	8	15.8	13.1
<i>F. verticilloides</i>	26	65.3	24	60.5	62.9
<i>F. graminearum</i>	13	8.4	5	14.5	11.5
<i>F. culmorum</i>	0	0	1	2.8	1.4
<i>P. carneum</i>	2	6.4	4	17.4	11.9
<i>P. verrucosum</i>	3	8.5	2	2.8	5.6
Toplam <i>Aspergillus</i> Total <i>Aspergillus</i>	25	23.8	24	47.7	35.8
Toplam <i>Fusarium</i> Total <i>Fusarium</i>	39	66.7	30	73.1	75.8
Toplam <i>Penicillium</i> Total <i>Penicillium</i>	5	14.9	6	20.2	17.6

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar Adana ilinin sahip olduğu iklim koşullarının *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin gelişimi için uygun olduğunu göstermektedir. Nitekim 2000-2003 yılları arasında yapılan bir çalışmada Çukurova Bölgesinde hasat zamanında alınan 106 adet mısır örneğinden yapılan mikolojik izolasyonlar sonucunda *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsi fungusların yoğun olarak izole edildiği rapor edilmiştir (Uyanık, 2014). Türkiye'nin tüm tarım alanlarını kapsayan bir çalışma da ise; 34 farklı ilden alınan tahıl ve tahıl ürünlerini içeren toplam 73 örnekte doğal olarak oluşan mikroflora belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, elde edilen 40 farklı cinse ait toplam 1317 izolat değerlendirilerek ülke genelinde %65 *Penicillium*, %19 *Aspergillus*, %11 diğer

Deuteromycetes, %2 *Fusarium*, %2 *Zygomycetes* ve %1 *Basidiomycetes* türlerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Topal, 2003). Balıkesir yöresinden yapılan bir çalışmada toplanan 20 mısır örneğinde oranında *Fusarium* spp. %38.1 ve *Aspergillus* spp. %35 izole edilmiştir (Askun, 2006). Yaptığımız bu çalışma ile mısır tane örneklerinden izole edilen *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* Türkiye'nin çoğu tarım alanlarında bulunan ve mikotoksijenik risk taşıyan funguslar olduğunu bir kez daha kanıtlanmıştır.

Mısır Tane Örneklerinin CD-ELISA Yöntemi ile Toksin Seviyelerinin Belirlenmesi

Aflatoksin, zearalenon, T-2 ve okratoksin için toplam 134 mısır örneğinin toksin seviyeleri Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. Tarama alanlarında hasat dönemlerine ait mısır tanelerinin toplam aflatoksin, T-2, zearalenon ve okratoksin içerikleri ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Table 4. Total aflatoxin, T-2, zearalenone and ochratoxin content of corn seeds ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the survey areas during harvest periods

İlçeler Districts	2015							
	1. ürün mısır tarama alanı First crop corn survey area				2. ürün mısır tarama alanı Second crop corn survey area			
	CD-ELISA test sonuçları ($\mu\text{g}/\text{kg}$) CD-ELISA test results ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							
	AFL	T-2	ZEN	OTA	AFL	T-2	ZEN	OTA
Ceyhan	13.8-47.3	29.9-68.1	84.7-551.9	1.4-5.3	14.9-72.6	18.6-75.0	131.7-419.6	2.3-6.5
Yüreğir	3.6-17.5	48.0	38.4-198.2	-	12.5-25.4	-	-	-
Seyhan	0.5-8.5	30.0	132.9-534.8	-	7.9-19.3	-	-	-
Karataş	0.3	21.0-43.8	125.5-292.9	2.6	2.1-8.3	13.2-60.3	211.9-403.6	1.3
Kozan	-	13.0-63.8	31.2-343.8	-	0.8-5.2	-	-	2.8
	2016							
Ceyhan	6.4-25.4	4.2-146.9	3.4-79.2	1.0-4.6	9.7-29.2	46.7-65.2	167.6-500.1	-
Yüreğir	4.8-28.6	1.5-6.8	25.9-386.6	-	13.8-46.3	26.6-43.7	27.6-100.1	-
Seyhan	1.7-11.3	-	85.5-177.8	-	2.8-13.7	16.5-25.4	32.9-65.8	4.2
Karataş	0.8-3.4	4.8-37.6	42.9-141.6	-	2.4-7.4	2.30	25.6-177.9	-
Kozan	1.3-4.6	-	-	1.1	0.7-5.4	43.3	54.8	1.8

AFL: Aflatoksin; AFL: *Aflatoxin*, ZEN: Zearalenon; ZEN: *Zearalenone*, OTA: Okratoksin; OTA: *Ochratoxin*

Aflatoksin analizin için yapılan test sonucunda 48 mısır tane örneğinde aflatoksin bulaşıklığı saptanmıştır. Bu örneklerde toplam aflatoksin içerikleri; 0.3 ile 72.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında tespit edilmiştir. Ülkemizde yasal tolerans değeri 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'nin çok üzerinde değere sahip 22 örnek saptanmıştır. *Aspergillus*'ların gelişmesi açısından en iyi ürün yağlı tohumlulardır. *Aspergillus* türlerinin ürünlerde hastalık oluşturarak zarar

vermelerinin yanı sıra, sahip oldukları toksik metabolit üretme özellikleri nedeniyle de canlılarda sağlık sorunlarına ve kimi zaman ise ölümlere neden oldukları bilinmektedir (Lavkor, 2013). Nitekim ihraç edilen yerfıstığı, fındık gibi birçok ürün içerdikleri yüksek aflatoksin seviyeleri nedeniyle geri gönderilmektedir. Aflatoksin bulaşıklıklarının ekonomik etkilerinin yanı sıra canlılarda ciddi karsinojen etkileri, akut ya da

kronik zehirlenmeleri çok sayıda çalışmada bildirilmiş olup, Uluslararası Kansere Araştırma Enstitüsü (IARC) tarafından 1. sınıf kanserojen olarak sınıflandırılmıştır. Hell vd. (2000) tarafından Benin'in dört farklı ekolojik bölgesinde iki yıldan fazla bir sürede toplam 750 mısır örneğinde aflatoksin araştırılmıştır. Hasat öncesi mısır örneklerinin % 9.9-32.2 arasında değişen oranlarda aflatoksin içerdiği belirlenmiştir. Bu örnekler depolandıktan 6 ay sonra yapılan toksin analizleri sonucunda, aflatoksin seviyesinin %15 ile %32.2 arasında arttığı tespit edilmiştir. Brezilya'da Sao Paulo'ya ait üç bölgede yeni hasat edilmiş 110 mısır örneğinin 60'ında 6-1600 µg/kg seviyelerinde aflatoksin bulaşıklığı bildirilmiştir (Machinski Jr vd., 2001). Güneybatı ve Orta batı Amerika'da, mısırdaki hasat öncesi aflatoksin bulaşmalarının ürünlerin %20'sinde 20-150 µg/kg seviyelerinde olduğu rapor edilmiştir (Cardwell ve Cotty, 2002). Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan sonuçlar, çalışmamızı destekler niteliktedir.

Tarım ürünlerinin aflatoksin oluşturan funguslar ile bulaşmasına zararlılar, sıcaklık, nem gibi çevresel etkenler, yetersiz beslenme, sulama, hasat zamanı, kurutma hataları önemli ölçüde öncülük etmektedir (Scheidgger ve Payne, 2003; Liang vd., 2006). Ayrıca mısır örneklerinde aflatoksin oranlarının yüksek bulunması nedeninin tarla döneminde koçanlarda oluşan böcek zararlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneklerin hasattan hemen sonra alındığı göz önüne alınırsa aflatoksin bulaşmalarının depo koşullarında devam edeceği ve dolayısı ile aflatoksin bulaşıklığının artacağı açıktır (Cardwell ve Cotty., 2002; Kaaya ve Warren, 2005; Okello vd., 2010).

T-2 analizi CD-ELISA test sonucunda 134 mısır tane örneğinin 83 tanesinde T-2 toksin bulaşıklığı saptanmıştır. T-2 içerikleri; 1.5–75.0 µg/kg olarak tespit edilmiştir. T-2 toksin için ülkemizde belirlenen bir yasal sınırlama yoktur. Ancak, FDA tarafından 0.5 µg/kg olarak belirlenen T-2 toksin tolerans seviyesinin üstündedir. Zearalenon (ZEN) testi sonucunda 134 mısır tane örneğinde 3.4–551.9 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Sekiz örnekte ülkemiz için uygulanan yasal sınırlamanın

(350 µg/kg) üzerinde bulunmuştur. Zearalenon (ZEN) üretimi için yüksek (24-27°C) ve düşük (12-14°C) olmak üzere iki farklı sıcaklık alternatifi bulunmaktadır. Düşük sıcaklık enzim aktivasyonu için şarttır, fakat enzim bir kere aktive olduğunda yüksek sıcaklıklarda da toksin üretebilmektedir (Girgin, 2001).

On üç Avrupa Birliği ülkesinde tahıl ürünleri ve gıdalarda *Fusarium* toksinlerinin oluşumu üzerinde yapılan toplam 44.959 analiz sonucunda, 16 *Fusarium* toksinin bulunduğu tespit edilmiştir. Bu grup içerisinde yer alan 11 ülkede %57 deoksinivalenol (DON), 9 ülkede %32 ZEN ve 8 ülkede %20 T-2 toksin bulunduğu rapor edilmiştir (RTSC, 2003). Avrupa'da başta mısır ve buğday olmak üzere tahıllarda, en yaygın mikotoksinlerin sırayla DON ve ZEN olduğu, ancak son zamanlarda ZEN bulaşıklığının önemli seviyelere ulaştığı rapor edilmiştir. Romanya'da yapılan benzer bir çalışmada 54 adet mısır örneğinden yapılan izolasyonlarda örneklerin *F. graminearum* (%29.3), *F. culmorum* (%18.5), *F. verticillioides* (%18.3) ile bulaşık olduğu ve örneklerin %36'sının DON (>1.750 µg/kg), %18'inin ise ZEN (100 µg/kg) içerdiği tespit edilmiştir (Tabuc vd., 2009). Avusturya, Almanya ve Fransa'da coğrafik konum ve iklim koşullarına bağlı olarak tahıllarda ZEN içeriklerinin 0.8-300 µg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir (Ericksen ve Alexander, 1998). Samsun ilinde 2005 ve 2006 yıllarında 140 tarlada *F. verticillioides*, *F. proliferatum* ve *F. subglutinans*'ın FB1 ürettiği ve FB1 miktarının bazı tarlalarda toleransın 4-5 katına çıktığı belirlenmiştir (Altıparmak ve Tunalı, 2009).

Okratoksin (OTA) analiz için yapılan CD-ELISA test sonucunda, 134 mısır tane örneğinin 15'inde 1.0 ile 6.5 µg/kg arasında bulaşıklık tespit edilmiştir. Üç örnekte yasal sınırlamaların (5.0 µg/kg) üzerinde okratoksin bulaşıklığı bulunmuştur. OTA, *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri funguslar tarafından üretilmektedir. *P. verrucosum*'un ılıman ve soğuk iklimlerde tahıllarda önemli bir OTA üretici olduğu bilinmektedir (Cabanes vd., 2010). Magnoli vd. (2007) tarafından Arjantin'in Cordoba ilinde ticari mısır çeşitlerinde OTA üreten fungusları belirlemek üzere bir araştırma yapılmıştır. Yapılan çalışma

sonucunda, 50 adet mısır tane örneğinden *A. flavus* izole edildiği bildirmiştir. *A. niger* ile bulaşık mısır tanesinin *A. flavus*'dan daha az bulunduğu, okratoksijenik türlerden *A. ochraceus*'un %5 ile %10 arasında izole edildiği tespit edilmiştir. Ayrıca, değişken koşullar nedeni ile depolama yetersizliğinin insan sağlığı için toksikolojik risk oluşturduğu bildirilmiştir.

Benzer bir çalışma ile Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetişen mısırlardan 2015 yılında alınan toplam 770 mısır örneğinde toplam AFL, fumonisin (FUM), DON, ZEN, T-2 ve HT-2 toksini varlığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, en yüksek kontaminasyon ve riskin FUM toksinlerinden (2652 µg/kg) kaynaklandığını göstermiştir. Toplam AFL %3.44, FUM %17.24 ve ZEN %6.89 olarak tespit edilmiş; DON, T-2 veya HT-2 toksininin bulunmadığı rapor edilmiştir (Artık ve Sireli, 2017). ABD'de mısır ürünlerinde mikotoksin bulaşıklığını belirlemek için yapılan çalışmada 25 eyaletten 318 mısır örneğinde (2015 yılı hasadı) ve 26 eyaletten 387 mısır örneğinde (2016 yılı hasadı) DON, FUM, ZEN, AFL, T-2 ve OTA toksin analizi yapılmıştır. 2016 yılı mısır örneklerinin %90'ında en az bir mikotoksin varlığı tespit edilmiştir. 2016 yılına ait mısırlarda DON ve FUM kontaminasyon seviyeleri, 2015 yılına ait kıyasla daha yüksek ($P < 0.001$) olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, birden fazla mikotoksinin birlikte ortaya çıkması 2015 yılında %46 iken, 2016 yılında %67'ye yükseldiği bildirilmiştir. Ayrıca, *Fusarium* fungal türlerinin toksinleri (DON, FUM ve ZEN) sıkça ürettiği tespit edilmiştir (Hendel vd., 2017).

Yine çalışmamıza benzer olarak Brezilya'nın Güney bölgesine ait 148 mısır örneğinde doğal mikotoksin oluşumu incelenmiştir. Sırasıyla 38 ve 11 örnekte aflatoksin B₁ (AFB₁) ve aflatoksin G₁ (AFG₁) saptanırken, 2014 yılında ilk kez tespit edilen ZEN ve DON sırasıyla 110 ve 71 örnekte bulunmuştur. Mikotoksinlerin yanı sıra, mısır numunesinde *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Penicillium* izole edilmiştir. Mısır örneklerinde %54.2 oranında *Fusarium* türleri tarafından üretilen ve Brezilya mevzuatına uymayan, insanlara kanserojen bir bileşik olan Fusarin C tespit edilmiştir. Analiz edilen tüm mısır

numunelerinin, en az on farklı metabolit tarafından kirlenmiş olduğu rapor edilmiştir (Oliveira vd., 2017). İtalya'da 2016-2017 yıllarında yapılan çalışmada, üç mikotoksijenik (*A. flavus*, *F. verticillioides* ve *F. graminearum*) fungusun mısırdaki davranışları izlenmiş ve mısır tanesinde mikotoksin bulaşıklığı üzerine birlikte ortaya çıkma durumları araştırılmıştır. Çalışmada *A. flavus* ile *F. verticillioides* ve *F. verticillioides* ile *F. graminearum* arasında etkileşimler belirlenmiştir. AFB₁ üretiminde *F. graminearum* varlığında artış sağlanır iken, *F. verticillioides* ile *F. graminearum* birlikteliğinde FUM ve DON üretiminin olmadığı bildirilmiştir. İlginç bir şekilde, ortamda *A. flavus*'un bulunmasının hem FUM hem de DON üretimini önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Giorni, vd., 2019).

Farklı ülkelerde yapılan benzer çalışmalar, yaptığımız araştırma sonuçlarını destekler niteliktedir. İnsan ve hayvan tüketiminde mikotoksinler ile bulaşık mısır ve mısır ürünleri ciddi sağlık sorunlarına neden olabileceği gibi, bazı toksikojenik fungusların mısır üretiminde kalite ve verimde düşüğe sebep olabileceği bilinmektedir.

SONUÇ

Yapılan çalışmada, Adana ili 1. ve 2. ürün mısır ekim alanlarında, mısır koçanlarında çürüklüğe neden olan fungal etmenler ve bu fungal etmenler ile bulaşık mısır örneklerinde toksin seviyeleri belirlenmiştir. Çalışmada mısır tanelerinden yapılan izolasyon sonuçlarında %75.8-83.7 oranlarında *Fusarium* (*F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. culmorum*), %35.8-47.3 oranlarında *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*); %17.6-17.7 oranlarında *Penicillium* (*P. carneum*, *P. verrucosum*) izole edilmiştir. Toplam 134 farklı tarladan alınan mısır koçanlarına ait 48 mısır örneğinde 0.3–72.6 µg/kg AFL, 83 mısır örneğinde 1.5–75.0 µg/kg T-2 toksin, 134 mısır örneğinde 3.4–551.9 µg/kg ZEN, 15 mısır örneğinde ise 1.0–6.5 µg/kg seviyelerinde OTA bulaşıklığı belirlenmiştir. Mısır örneğinin 22'sinde AFL, 83'ünde T-2 toksini, 8'inde ZEN, 3'ünde OTA bulaşıklığı yasal sınırlamanın üzerinde bulunmuştur. Bu sonuçlar insan ve hayvanların, beslenme ve sağlık açısından rahatsız edecek

sorunlar ile karşı karşıya kalabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, Adana ilinin içinde bulunduğu iklim koşulları, tarım ürünlerinde fungal popülasyonların gelişimi ve mikotoksin oluşumu için uygun ortam sağlamaktadır. Mısır ürünündeki fungal bulaşmaların çoğu henüz tarlada iken başlayan enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır. *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* koçan çürüklüğü hastalıklarının toksin oluşum yönünden değerlendirilmesi ve tarla koşullarında düzenli olarak kontrol edilmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, fungal bulaşmaların bir sonucu olarak meydana gelen mikotoksinlerin oluşumu ve mücadeleleri üzerinde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abarca, M.L., Bragulat, R., Castella, G., Accensi, F., Cabanes, F.J. (2000). Emerging mycotoxin-producing fungi. *Rev Iberoam Micol*, 17: 563-568.

Altıparmak, G., Tunali, B. (2009). Incidence of *Fusarium* species and levels of fumonisin B1 in corn in the samsun province of Turkey. *Phytoprotection*, 90(3): 97-106, doi: 10.7202/045778ar.

Anonymous, (2016). World Agricultural Production. USDA, FAS, Circular Series. Office of Global Analysis. WAP, 6-16, 27.

Artık, N., Sireli, U.T., Yarangumeli, K., Konar, N. (2017). The presence of some mycotoxins in corn grown in Turkey. *Int J Food Eng*, 3(2): 159-164159, doi: 10.18178/ijfe.3.2.159-164.

Asan, A. (2004). *Aspergillus*, *Penicillium* and related species reported from Turkey. *Mycotaxon*, 89(1): 155-157.

Askun, T. (2006). Investigation of fungal species diversity of maize kernels. *J Biol Sci*, 6(2): 275-281, doi: 10.3923/jbs.2006.275.281.

Bora, T., Karaca, İ. (1970). *Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi*. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, E.Ü. Matbaası, Bornova-İzmir, 43 s.

Bottalico, A. (1998). *Fusarium* diseases of cereals: species-complex and related mycotoxins profiles

in Europe. *J Plant Pathol*, 80(2): 85-103, doi: 10.4454/jpp.v80i2.807.

Bottalico, A., Perrone, G. (2002). Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain in Europe. *Eur J Plant Pathol*, 108(7): 611-624, doi: 10.1023/A:1020635214971.

Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., Backhouse, D. (1994). *Laboratory Manual for Fusarium Research*, Third Ed., *Fusarium Research Laboratory*, Dept. of Crop Science, Univ. of Sydney and Royal Botanic Gardens, Sydney, Australia, 133 p. ISBN: 0 86758 849 7.

Büyük, O. (2011). Mısırdaki koçan çürüklüğü etmeni *Fusarium verticillioides*'in oluşturduğu zearalenon toksini ve pektolitik enzimler üzerinde araştırmalar. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Bitki Koruma Anabilim Dalı Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 47 s.

Cabañes, F.J., Bragulat, M.R., Castellá G. (2010). Ochratoxin a producing species in the genus *Penicillium*. *Toxins*, 2(5): 1111-1120, doi: 10.3390/toxins2051111.

Cardwell, K.F., Cotty, P.J. (2002). Distribution of *Aspergillus* section *Flavi* among field soils from the four agroecological zones of the Republic of Benin, West Africa. *Plant Dis*, 86(4):434-439, doi: 10.1094/PDIS.2002.86.4.434.

Cardwell, K.F., Henry, S.H. (2004). Risk of exposure to and mitigation of effect of aflatoxin on human health: a West African example. *J Toxicol Toxin Rev*, 23: 217-247, doi: 10.1081/TXR-200027817.

Cast, (2003). *Mycotoxins: risks in plants, animals and human systems*. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA, 199 p. ISBN 1-887383-22-0.

De Hoog, G.S., Guarro, J., Figueras, M.J., Gené, J. (2000). *Atlas of clinical fungi*. 2nd Edition, Int. Microbiol. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands and Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain, 1126 pp. ISBN :9070351439.

Desjardins, A.E., Manandhar, G., Plattner, R.D., Maragos, C.M., Shrestha, K., McCormick S.P.

- (2000). Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *J Agric Food Chem*, 48(4): 1377-1383, doi: 10.1021/jf991022b.
- D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C. (1998) Fungal toxins as disease elicitors. In: *Aspects of Environmental Toxicology*, J. Rose (Ed), Gordon and Breach Science Publishers, Yverdon, Switzerland, pp. 397.
- Ericson, G.S., Alexander, J. (1998). *Fusarium toxins in cereals - a risk assessment*. Nordic Council of Ministers, TemaNord 502, Copenhagen, Denmark, 115 p. ISBN: 92-893-0149-X.
- Gachomo, E.W., Mutitu, E.W., Kotchoni, O.S. (2004). Diversity of fungal species associated with peanuts in storage and the levels of aflatoxins in infected samples. *Int J Agri Biol*, 8530(6):6-6, doi: 1560-8530/2004/06-6-955-959.
- Gilbert, J., Tekauz, A. (2000). Review: recent developments in research on fusarium head blight of wheat in Canada. *Can J Plant Pathol*, 22: 1-8, doi: 10.1080/07060660009501155.
- Girgin, N., Başaran, N., Şahin, G. (2001). Mycotoxins in Turkey and the world. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 58(3): 97-118.
- Giorni, P., Bertuzzi T., Battilani P. (2019). Impact of fungi co-occurrence on mycotoxin contamination in maize during the growing season. *Front Microbiol*, 10: 1-10, doi: 10.3389/fmicb.2019.01265.
- Gxasheka, M., Wang, J., Tyasi, T.L., Gao, J. (2015). Scientific understanding and effects on ear rot diseases in maize production: a review. *International Journal of Plant & Soil Science*, 3(4): 077-084.
- Hawk, A.L. (2004). *Mycotoxins*. Grain Elevator and Processing Society (GEAPS) Exchange Proceedings, Minneapolis, MN, USA. <http://www.geaps.com/proceedings/2004/Hawk.cfm> (Accessed 26 March 2004).
- Hell, K., Cardwell, K.F., Setamou, M., Poehling, H.M. (2000). The influence of storage practices on aflatoxin contamination in maize in four agroecological zones of Benin, West Africa. *J Stored Prod Res*, 36(4): 365-382, doi: 10.1016/S0022-474X(99)00056-9.
- Hendel, E.G., Gott, P.N., Murugesan, G.R., Jenkins T. (2017). 033 Survey of mycotoxins in 2016 United States corn. *J Animal Sci*, 95(4): 16-17, doi: 10.2527/asasann.2017.033.
- Jimenez, M., Mateo, R. (2001). Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in agricultural commodities in Spain. In: *Occurrence of Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Plants, Food and Feeds in Europe*, Logrieco, A. (ed), European Commission, COST Action 835, EUR 19695, pp. 173-190
- Kaaya, N.A., Warren, H.L. (2005). A review of past and present research on aflatoxin in Uganda. *Afr J Food Agric Nutr Dev*, 5(1): 1-18.
- Lavkor, I. (2013). Yerfistiği tarımında uygun kültürel işlemler ve hastalık yönetim pratikleri ile hastalık ve aflatoxin oluşumunun önlenmesi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Bitki Koruma Anabilim Dalı Enstitüsü Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 300 s.
- Liang, X.Q., Luo, M., Guo, B.Z. (2006). Resistance mechanisms to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination in peanut (*Arachis hypogaea*). *Plant Pathol J*, 5(1): 115-124, doi: 10.3923/ppj.2006.115.124.
- Machinski, J.R., Soares, L.M.V., Sawazaki, E., Bolonhezi, D., Castro, J.L., Bortolotto, N. (2001). Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in Brazilian corn cultivars. *J Sci Food Agric*, 81(10): 1001-1007, doi: 10.1002/jsfa.882.
- Magnoli, C.E., Astoreca, A.L., Chiacchiera, S.M., Dalcero, A.M. (2007). Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South American countries. *Mycopathologia*, 163(5):249-60, doi: 10.1007/s11046-007-9005-z.
- Munkvold, G.P. (2001). Ear rot and mold problems. *Integrated Crop Management*, 486 (23): 183-184.
- Nelson, E.P., Dignani, M.C., Anaissie, J. (1994). Taxonomy, biology and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clin Microbiol Rev*, 7(4):479. doi: 10.1128/COR.7.4.479.

- Oliveira, M.S., Rochaa, A., Sulyokb, M., Krskab, R., Mallmann, C.A. (2017). Natural mycotoxin contamination of maize (*Zea mays* L.) in the South region of Brazil. *Food Control*, 73: 127-132, doi: 10.1016/j.foodcont.2016.07.033.
- Okello, D.K., Biruma, M., Deom, C.M. (2010). Overview of groundnuts research in Uganda: past, present and future. *Afr J Biotechnol*, 9(39): 6448–6459.
- Pacin, A.M., Gonzales, H.H.L., Etcheverry, M., Resnik, S.L., Vivas, L., Espin, S. (2002). Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia*, 156: 87-92, doi: 10.1023/A:1022941304447.
- Pitt, J.I. (2000). *A laboratory guide to common Penicillium species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing in North Ryde, N.S.W., Australia, 197 p.
- Placinta, C.M., D'mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C. (1999). A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim Feed Sci Technol* 78(1-2): 21–37, doi: 10.1016/S0377-8401(98)00278-8.
- Raper, B.K., Fennel, D.I. (1977). *The genus Aspergillus*. Krieger R. E Publishing Company Hustington, New York, 686 p. Reed, C., Pedersen, J. (1987). *Farm-stored wheat in Kansas: Facilities, conditions, pest control, and cost comparisons*. Agricultural Experiment Station Bulletin 652. Manhattan, Kansas State University, 32 pp, ISSN: 0097-0484.
- RTSC, (2003). Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by population of EU Member States. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_fusarium_task3210.pdf (Accessed 16 June 2019).
- Samson, R.A., Pitt, I.J. (1990). *Modern concepts in Penicillium and Aspergillus classification*. Plenum Pres, New York, USA, 478 p.
- Sauer, D.B., Meronuck, R.A., Christensen, C.M. (1992). Microflora. In: *Storage of Cereal Grains and Their Products*, Sauer D.B. (Ed.), 4th ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, USA, pp. 313-340.
- Scheidegger, K.A., Payne, G.A. (2003). Unlocking the secrets of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *J Toxicol Toxin Rev*, 22(2-3): 423-459.
- Tabuc, C., Marin, D., Guerre, P., Sesan, T., Bailly, J.D. (2009). Molds and mycotoxin content of cereals in Southeastern Romania. *J Food Protec*, 72(3): 662-665.
- Topal, Ş. (2003). Türkiye'nin tarımsal ürün ve bölgelerine göre dominant mikoflora dağılımı ve mikotoksin profilleri. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702031202.pdf (Erişim tarihi 16.06. 2019).
- Tunalı B., Kansu, B., Maldar, M., Meyva, G., Saygı, S. (2016). Samsun ve Ordu illerinden toplanan mısır koçanlarındaki fungal floranın değişiminin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bül*, 56(4): 369-383, doi: 10.16955/bkb.57230.
- TÜİK, (2019). Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do> (Erişim tarihi 15.06. 2019)
- Udoh, J.M., Cardwell, K.F., Ikotun, T. (2000). Storage structures and aflatoxin content of maize in five agroecological zones of Nigeria. *J Stored Prod Res*, 36 (2000) 187-201, doi: 10.1016/S0022-474X(99)00042-9.
- Uras, Ü. (2007). Farklı ürünlerden izole edilen "*Aspergillus niger*" küflerinin lipaz aktivitelerinin yağca zengin kuru meyvelerde incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye, 84 s.
- Uyanık, E. (2014). Çukurova'da mısır koçanlarında çürüklük yapan fungal türler, bunların başlıca toksinleri ile toksin oluşumunu önleyici kültürel işlemlerin belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Bitki Koruma Anabilim Dalı Enstitüsü Doktora Tezi, Adana, Türkiye, 125 s.



OZONLAMA VE FİLTASYON İŞLEMİNİN SULARIN DEMİR VE MANGAN İÇERİĞİNE ETKİSİ

Habibe Selçuk¹, Y. Sedat Velioglu^{1*}, Zehra Baloglu²

¹Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gölbaşı, Ankara Türkiye.

²Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Sıhhiye, Ankara Türkiye.

Geliş / Received: 06.07.2019; Kabul / Accepted: 25.10.2019; Online baskı / Published online: 26.11.2019

Selçuk, H., Velioglu, Y. S., Baloglu, Z. (2019). Ozonlama ve filtrasyon işleminin suların demir ve mangan içeriğine etkisi. *GIDA* (2019) 44 (6): 1210-1221 doi: 10.15237/gida.GD19109

Selçuk, H., Velioglu, Y. S., Baloglu, Z. (2019). (2019). Effects of ozonation and filtration on the iron and manganese contents of water. GIDA (2019) 44 (6): 1210-1221 doi: 10.15237/gida.GD19109.

ÖZ

Sularda farklı nedenlerle bulunabilen demir (Fe) ve mangan (Mn) elementleri suyun kalitesini azaltmaktadır. “İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik”te içme sularında izin verilen Fe miktarı 200 µg/L ve Mn miktarı 50 µg/L olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada iki farklı pH'daki deiyonize suya izin verilen düzeyde ve bunun iki katı düzeyde Fe ve Mn ayrı ayrı veya karışım haline eklenmiş ve ozonlama ile selüloz asetat (CA) filtreden geçirme işlemlerinin bu iki elementin giderimine etkisi ICP-MS yöntemi ile belirlenmiştir. Uygulanan koşullarda ozonlama ve CA filtreden süzme işleminin pH'sı 7.0 olan sulardan Fe ve Mn gideriminde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Suyun pH'sı 8.5 olduğunda ozonlama işleminden bağımsız olarak filtrasyon işlemi ile Fe % 96 oranında giderilebilmiştir. pH'sı 8.5 olan sularda ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin tek başına Mn gideriminde etkili olmadığı anlaşılmıştır. Mn, pH'sı 8.5 olan suya Fe ile birlikte katıldığında giderim işleminde %95 başarı sağlanmıştır. Suyu eklenen başlangıç Fe ve Mn miktarı giderim işleminde önemsiz bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Su, demir, mangan, sülfat, ozonlama, filtrasyon, ICP-MS

EFFECTS OF OZONATION AND FILTRATION ON THE IRON AND MANGANESE CONTENTS OF WATER

ABSTRACT

Iron (Fe) and manganese (Mn) can be found in water with several reasons, which reduces water quality. The regulation of “Water for Human Consumption” permitted Fe and Mn levels in drinking water as 200 µg/L and 50 µg/L, respectively. In this study, Fe and Mn were added to deionized water either separately or as a mixture at permitted levels and twice at pH7.0 and pH 8.5. Effects of ozonation and filtration through cellulose acetate (CA) filter on removal of these elements were determined using ICP-MS method. It was observed that ozonation and filtration had no effect on Fe and Mn removal at pH7.0. However, when pH was adjusted to 8.5, Fe was able to be removed 96% after using only filtering. At this pH, ozonation and filtration were not effective on Mn removal. When Fe and Mn were added together into water at pH 8.5 their removal were achieved by 95% by ozonation supported with filtering. Initial Fe and Mn contents had no effect on the removal.

Keywords: Water, iron, manganese, sulphate, ozonation, filtration, ICP-MS

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

velioglu@ankara.edu.tr

Tel: (+90) 312 203 3300/3619

Faks: (+90) 312 317 8711

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde su yadsınamayacak kadar önemli bir yerdedir. Bunun için su; kokusuz, renksiz, berrak, içimi serinletici olmalı ve ayrıca suyun içerisinde patojen mikroorganizma ve sağlığa zararlı kimyasal maddeler bulunmamalıdır (Çakmakçı vd. 2013).

Demir, yeryüzünde en fazla bulunan dördüncü elementtir (Yardımcı 2001, Sharma 2002) ve sulara düşük konsantrasyonlarda bulunduğu takdirde insan sağlığına zararlı değildir fakat ekonomik ve görünüş açısından suda bulunması istenmez. Demir, çamaşır, mutfak ve banyo eşyaları üzerinde leke, zamanla demir bakterileri oluşumuna, bu bakterilerin ölümü sonucunda da istenmeyen tat ve kokuya neden olur (Çakmakçı 2006).

Kaya ve topraklardan aşınma yolu ile ya da insan faaliyetlerinin bir sonucu olarak (madencilik, endüstriyel atıklar ve atık depolama alanlarındaki sızıntı) yeraltı sularına fazlaca geçen mangan, doğada genellikle elementer halde değil okside olmuş halde bulunmaktadır (Anonim 2016). Ancak sudaki mangan miktarının yüksek olması istenilmeyen bir durumdur. Çünkü su, havayla temas ettiğinde Mn(II), Mn(IV)'e dönüşmektedir. Bu dönüşüm su tadına ve renge etki etmektedir. Ayrıca Mn(IV) çökeltisi ev eşyalarında, borularda ve giysilerde lekeler bırakmaktadır (Oğuz 2015).

Açık mavi renge ve kendine has keskin bir kokuya sahip olan ozon, su dezenfeksiyonunda ve genel olarak gıda endüstrisinde gıda ve ortam dezenfeksiyonunda, atık su arıtımında kullanılmaktadır (Anonim 2005b). Ayrıca ozon; endüstriyel tesislerde soğutma suları, yüzme havuzları, hastane ön arıtma sistemleri, diş hekimliği ve tıp gibi farklı alanlarda dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Nagayoshi vd. 2004, Öztekin vd. 2006).

Yukarıda belirtildiği üzere suda demir ve mangan bulunması istenmemektedir. Bu çalışma ile ozon ve filtrasyon uygulamalarının sudaki demir (Fe) ve mangan (Mn)'in gideriminde ne düzeyde etkili olduğu, ayrıca su pH'sının ve bu elementlerin

başlangıç dozlarının giderim etkinliği üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Su: Çalışmada Sartorius marka Arium 611VF model saf su jeneratöründen elde edilen 1. derece 18.2 MΩ/cm ultra saf su (ISO 3696'da tanımlı) kullanılmıştır. Sular gece boyunca buzdolabında dinlendirilmiş ve sabah soğutucudan çıkarılıp sıcaklığı 15 °C'ye ulaştığında işlemlere başlanmıştır. pH'nın giderim üzerindeki etkisini gözlemleyebilmek için iki farklı pH'daki (7.0 ve 8.5) su kullanılmıştır.

Ozon jeneratörü: Çalışmada 20g/saat kapasiteli Opal marka OG 20 model ozon jeneratörü kullanılmıştır. Jeneratörden elde edilen ozon gazı, silikon bir hortum ve 10 µm gözenek çaplı paslanmaz çelik poröz dağıtıcı (Fisher Scientific, Solvent Inlet Filter) kullanılarak suya verilmiştir.

Kullanılan kimyasallar ve diğer malzemeler:

Suya, %2'lik HNO₃ içeren 1000 µg/mL konsantrasyonunda olan High Purity marka (North Charleston, SC, ABD) Fe ve Mn standartları katılmıştır. Ozonlanan su örnekleri 0.45 µm gözenek çapındaki selüloz asetat membran filtreden (CA) (Sartorius, Almanya) süzülmüştür. Ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin ardından Fe ve Mn analizi yapılacak su örnekleri, metallerin stabil olabilmesi için pH<2.0 olacak şekilde %1 oranında HNO₃ ile asitlendirilmiştir.

Yöntem

Çalışmada sulara demir (200 ve 400 ppb), mangan (50 ve 100 ppb) ayrı ayrı eklenmiştir. Bu iki doz ayrıca karışım halinde tek seferde yani demir+mangan karışımı (200+50 ppb ve 400+100 ppb) olarak farklı pH'lardaki (7.0 ve 8.5) sulara eklenmiştir. Ozon gazı söz konusu elementleri içeren sulara kontrollü şartlarda 5 dk boyunca verilmiştir. Sulara katılan kontaminant miktarları İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik'te (Anonim 2005a) izin verilen değerler ve bu değerlerin iki katı olarak seçilmiştir.

Sıcaklığı 15 °C'ye ayarlanmış su örnekleri (12 adet) birer litrelik vidalı kapaklı cam şişelere konulmuştur. Bu 12 örneğin 6 tanesi doğrudan kullanılmış (pH 7.0), diğer altısının ise pH'sı 0.1 N NaOH ile 8.5'e ayarlanmıştır. Bu işlemi takiben sulara Fe ve Mn standartları istenilen konsantrasyonu sağlayacak düzeyde katılmıştır. Çalışmada pH ayarlanmasının ardından Fe ve Mn katılmasının su pH'sını tekrar düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bunun için sulara önce Fe ve Mn katılmış ardından pH ayarlaması yapılmıştır.

Su örneklerine ozon uygulanması: pH ayarlaması yapılan ve farklı miktarlarda Fe ve Mn içeren sulara jeneratörden elde edilen ozon 5 dakika boyunca kontrollü şartlarda verilmiştir. Bu işlem ağzı folyo ile kapalı bir şişe içerisinde

gerçekleştirilmiş olup, homojen bir ozonlama prosesi için bu şişeler işlem boyunca Gesellschaft für Labortechnik (GFL) marka çalkalayıcı ile çalkalanmıştır. Ozon gazının, toksik etkisinden korunmak için tüm işlemler çeker ocak altında ve eldiven kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm uygulamalar 23±2 °C laboratuvar koşullarında yapılarak sıcaklık değişiminden kaynaklanabilecek hataların önüne geçilmesi planlanmıştır.

Renk, pH, iletkenlik, sıcaklık ve ozon düzeyi ölçümleri: Ozon ile muamele edildikten hemen sonra örneklerin pH, renk, iletkenlik, sıcaklık ve ozon düzeyi ölçümleri yapılmış olup analizlerde Çizelge 1'de belirtilen yöntem ve ekipmanlar kullanılmıştır.

Çizelge 1. Renk, pH, iletkenlik ve ozon ölçüm yöntem ve ekipmanları
Table 1. Equipment and methods used for colour, pH, conductivity and ozone measurements

Parametre <i>Analyte</i>	Yöntem <i>Method</i>	Ekipman <i>Equipment</i>
pH <i>pH</i>	TS EN ISO 10523 metodu (TS 2013) <i>TS EN ISO 10523 method</i> (TS 2013)	pH elektrodu <i>pH electrode</i>
İletkenlik <i>Conductivity</i>	TS 9743 EN 27888 metodu (TS 2012a) <i>TS 9743 EN 27888 method</i> (TS 2012a)	İletkenlik elektrodu <i>Conductivity electrode</i>
Renk <i>Colour</i>	Spektrofotometrik metot (TS 2012b) <i>Spectrophotometric method</i> (TS 2012b)	Spektrofotometre (Hach Lange, Model Dr 2800) <i>Spectrophotometer</i> (Hach Lange, Model Dr 2800)
Ozon <i>Ozone</i>	İndigo Metodu (Rakness vd. 1996) <i>Indigo method</i> (Rakness et al. 1996)	Ozon test kiti (Merck Accuvac) ve Spektrofotometre <i>Ozone test kit (Merck Accuvac) and spectrophotometer</i>

Ozon düzeyinin ölçümünde kullanılan ozon kitlerinin kullanımı: Kitin sivri ucu 50 mL'lik behere alınan ozonlanmış su içerisinde kırılır. Suyun kitin içine girmesi sağlanır ve ardından spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda ölçüm yapılır. Ölçüm yapılan suların ozon düzeyi ne kadar yüksekse kitin içindeki sıvının rengi o kadar açık olması beklenir. Renk ölçümü amacıyla saf su ile sıfırlanmış spektrofotometrede 1 cm optik yollu kuvars küvette 455 nm'de spektral okumalar yapılmıştır.

Filtrasyon: pH, renk, iletkenlik, sıcaklık, ozon düzeyi ölçümleri yapılan sular 0.45 µm gözenek çapındaki selüloz asetat filtre ile süzülmüştür. Ozonlanmış örnekler süzülükten sonra metallerin stabil olabilmesi için pH<2 olacak şekilde %1'lik HNO₃ ile asitlendirilmiştir.

Fe ve Mn düzeylerinin ICP-MS ile belirlenmesi: Demir ve mangan analizi Agilent marka 7700 seri ICP-MS cihazı ile yapılmıştır. Örneklerin filtrasyonunun ardından

asitlendirilmiş Fe ve Mn içeren suların analizi EPA 6020A metoduna göre ICP-MS (çift indüklenmiş plazma emisyon kütle spektrometresi, Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) cihazı ile yapılmıştır. ICP-MS cihazının çalışma prensibi şöyledir: Örnekteki elementler ICP aygıtında iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine (MS) gönderilir ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp ölçülür. Bu cihazda ölçümler içme-kullanma sularında çözünmüş Fe ve Mn için 10-400 ppb ölçüm aralıklarındaki kantitatif tayinleri kapsamaktadır. Bu yüzden saf sulara katılan kontaminant miktarları en fazla 400 ppb olarak ayarlanmıştır. Cihazdan maksimum performans alınması için ortam sıcaklığı 28-30 °C, bağıl nem %20-80 olarak ayarlanmıştır. Fe ve Mn ölçümü için standart metotta belirtildiği üzere plazma olarak He gazı kullanılmıştır. Kullanılan He gazı yüksek saflıkta (%99.99) olup bu gazın basıncı 1 bar olarak ayarlanmıştır. Aygıttaki okumalar 3 kez yapılmış olup sonuçlar ortalama değer olarak verilmiştir. Analiz sonucunda konsantrasyonu en yüksek kalibrasyon standardının üstünde çıkan örnekler kalibrasyon eğrisinin aralığına düşecek şekilde seyreltilerek tekrar okuma yapılmıştır. Çalışmada örneklerdeki ölçümlerle birlikte Uluslararası Referans Madde (European Reference Materials) (ERM) de kullanılmıştır. ERM, bulguların

güvenilirliğinin kontrolünü sağlamak amacıyla örnek gibi analiz edilen, izlenebilirliği olan ve konsantrasyonu bilinen bir çözeltilidir. Fe ve Mn'in çalışmada kullanılan dozları için Inorganic Ventures markalı ERM kullanılmış olup bunun değerleri normal, en düşük ve en yüksek olarak Fe için sırasıyla 201,181, 221, Mn için ise 52.5, 47.3 ve 57.8 ppm'dir.

İstatistiksel analizler

Örnekler arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını belirleme amacıyla varyans analizi ve takiben Duncan testi ile yapılmıştır. Bu analizlerde %95 güven seviyesi (P<0,05) dikkate alınmıştır. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS 16.0 paket programlarından yararlanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA Suyun pH'sının Ayarlanması Üzerine Fe ve Mn'in Önce veya Sonra Katılmasının Etkisi

Ozonlamadan önce ve sonra yapılan pH ölçümlerinde standartların içerisinde HNO₃ olması nedeniyle Fe katılan su örneklerinin pH'larında %35-40 oranında düşme gözlenmiştir (Çizelge 2). Bu nedenle suyun istenilen pH'sını koruyabilmek için, suya önce Fe ve Mn katılıp ardından pH ayarlanması yapılmıştır.

Çizelge 2. Suya Fe, Mn katımı ve pH ayarlanma sıralamasının pH'ya etkisi (n=2)

Table 2. Effects of Fe and Mn addition and pH adjustment sequencing on pH (n=2)

Fe ve Mn katımı öncesi pH <i>pH before Fe and Mn addition</i>	Uygulama <i>Treatment</i>	Mineral <i>Mineral</i>	Fe ve Mn katımı sonrası pH <i>pH after Fe and Mn addition</i>
8.5	Önce pH ayarlanması sonra mineral ilavesi <i>First pH adjustment and then mineral addition</i>	Fe	5.85±0.07 ^b
		Mn	7.80±0.00 ^c
		Fe+Mn	5.60±0.14 ^b
	Önce mineral ilavesi sonra pH ayarlanması <i>First mineral addition followed by pH adjustment</i>	Fe	8.35±0.07 ^d
		Mn	7.95±0.07 ^c
		Fe+Mn	7.80±0.42 ^c
7.0	Önce pH ayarlanması sonra mineral ilavesi <i>First pH adjustment and then mineral addition</i>	Fe	3.65±0.07 ^a
		Mn	6.55±0.21 ^a
		Fe+Mn	3.60±0.00 ^a
	Önce mineral ilavesi sonra pH ayarlanması <i>First mineral addition followed by pH adjustment</i>	Fe	6.85±0.21 ^c
		Mn	7.15±0.35 ^a
		Fe+Mn	7.05±0.49 ^d

^{a,b,c} Aynı elementler için aynı sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

^{a,b,c} For each element different letters in same column indicate different groups according to Duncan's test.

Fe, Mn, pH ve Ozonlamanın Suyun Rengine Etkisi

Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'ne göre 1. 2. 3. ve 4. kalite sınıfına giren suların renkleri en fazla

sırasıyla 5, 50, 300 ve + 300 Pt-Co olabilmektedir. Çalışmada yapılan uygulamanın su rengi üzerine etkisi incelenmiştir. Bulgular Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. pH, uygulama, mineral ve dozunun su rengi üzerine etkisi (n=2)
Table 3. Effects of pH, treatment, mineral addition and its dose on colour of water (n=2)

pH	Uygulama	Mineral	Doz (ppb)	Renk (Pt-Co) Colour (Pt-Co)
pH	Treatment	Mineral	Dose (ppb)	
8.5	İşlem yok No treatment	Fe	400	5.50±0.71 ^a
			200	0.00±0.00 ^a
		Mn	100	4.50±6.36 ^a
			50	0.00±0.00 ^a
		Fe+Mn	400+100	9.50±2.12 ^a
			200 +50	1.00±1.41 ^a
	Ozonlama Ozonation	Fe	400	14.00±2.82 ^b
			200	0.50±0.70 ^a
		Mn	100	12.00±5.66 ^a
			50	4.00±2.83 ^a
		Fe+Mn	400+100	19.00±2.83 ^b
			200 +50	1.00±1.43 ^a
7.0	İşlem yok No treatment	Fe	400	4.50±0.70 ^a
			200	0.50±0.70 ^a
		Mn	100	1.50±0.70 ^a
			50	1.00±1.41 ^a
		Fe+Mn	400+100	4.00±1.41 ^a
			200+50	0.50±0.70 ^a
	Ozonlama Ozonation	Fe	400	5.00±4.24 ^a
			200	0.00±0.00 ^a
		Mn	100	38.00±2.83 ^b
			50	25.50±3.54 ^b
		Fe+Mn	400+100	9.00±1.41 ^a
			200 +50	2.50±3.54 ^a

^{a,b,c} Aynı elementin aynı dozu için sütundaki farklı harfler Duncan testine göre farklı grupları ifade etmektedir.

^{a,b,c} For same dose of each element, different letters in a column indicate different groups according to Duncan's test.

Çalışmada 8.5 ve 7.0 pH'da Fe'in suya 400 ve 200 ppb olarak 2 ayrı miktarda katılmasına karşın ozonlama yapılmadığı takdirde gözle görülür bir renk değişimi gözlenmemiştir. Ölçülen renk değerleri yönetmelik bakımından sorun yaratmayacak düzeydedir. 200 ppb Fe içeren su 5 dakika süreyle ozonlandığında her iki pH'da da bir renk değişimi olmamıştır. Ancak 400 ppb Fe içeren ve pH'sı 7.0 olan su ozonlandığında gözle

görülür bir renk değişimi olmamasına karşın, aynı koşullarda ancak farklı olarak suyun pH'sı 8.5 olduğu takdirde renk, yönetmelikte 1. kalite olarak belirtilen su sınıfına giremeyecek düzeye ulaşmaktadır.

pH 8.5 ve pH 7.0'da Mn suya tek başına katıldığında eklenen Mn miktarından bağımsız olarak herhangi bir renk değişimi görülmemiştir.

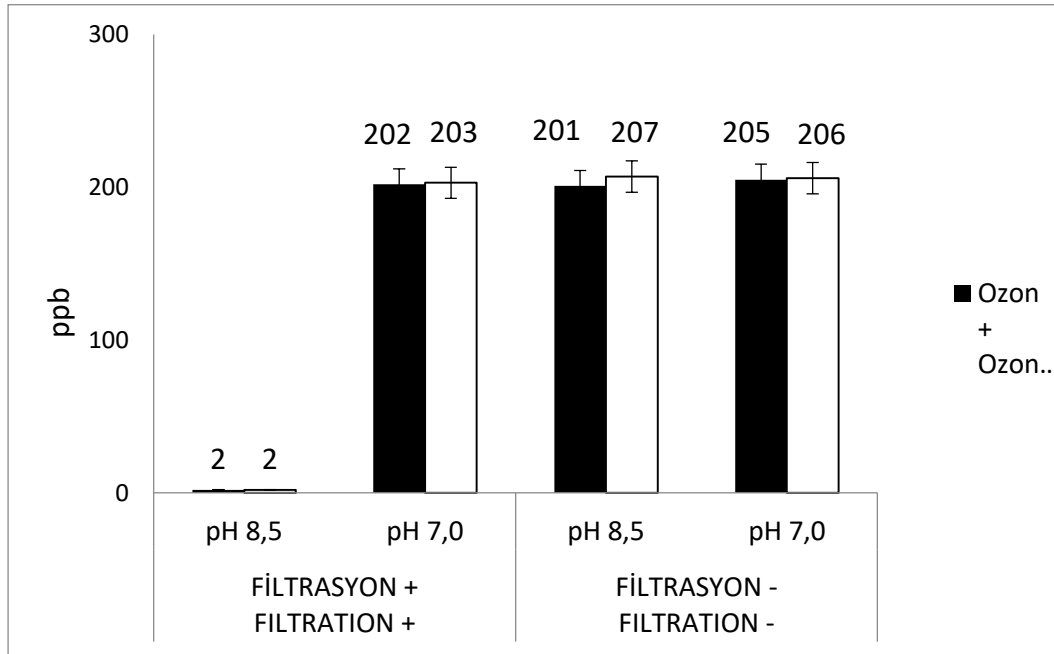
Fakat bu suyun pH'sı 8.5 ve içerdiği Mn miktarı 100 ppb olduğunda renk açısından yönetmelikte belirtilen 1.kalite su sınıfına giremediği anlaşılmıştır. Su pH'sının 7.0 ve suyun içerdiği Mn miktarının 100 ppb olduğu koşullarda ise 5 dakika ozonlama sonucu fark edilebilir bir renk değişimi gözlenmiştir.

Fe ve Mn pH 8.5 ve pH 7.0'de sırasıyla 200 ve 50 ppb düzeylerinde birlikte suya katıldığında hiç bir renk değişimi olmamıştır. pH 7.0'da Fe ve Mn düzeyleri 400 ve 100 ppb olduğu takdirde yine herhangi bir değişim olmamıştır. Fakat pH 8.5'te Fe ve Mn sırasıyla 400 ve 100 ppb düzeylerinde birlikte suya katıldığında suyun renk bakımından 1. kalite su sınıfına giremeyecek düzeye ulaştığı, ancak bu renk değişiminin insan gözüyle görülebilecek derecede olmadığı görülmüştür.

Ozonlama prosesinin ardından yüksek miktarlardaki Fe ve Mn içerikli suların artık 1. kalite su sınıfına giremediği anlaşılmıştır.

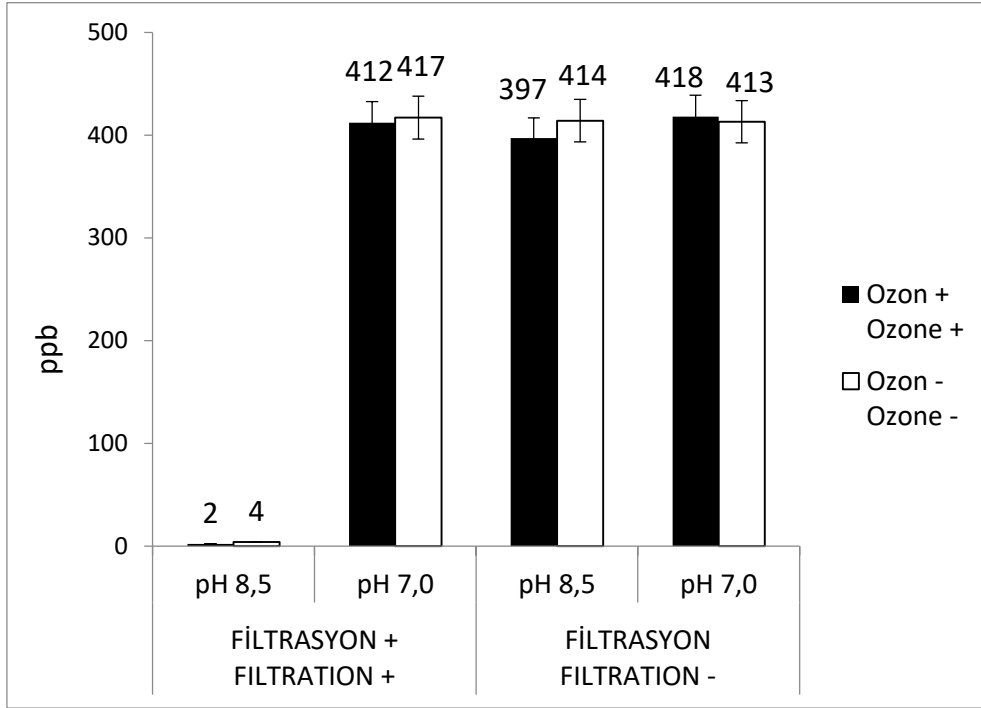
Ozonlama, Filtrasyon ve pH'nın Fe Giderimine Etkisi

Çalışmada 200 ve 400 ppb Fe içeren pH 7.0 ve pH 8.5'deki saf su örnekleri 4 farklı uygulamaya tabi tutulmuştur. İlk uygulamada örnekler ozonlanmış ve ardından 0.45 µm gözenek büyüklüğüne sahip CA filtreden süzölmüştür. İkinci uygulamada ozonlanan su örnekleri filtre edilmemiştir. Üçüncü uygulamada ise saf su örnekleri ozonlanmadan filtrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Dördüncü örnek ise üzerinde bir işlem yapılmamış olan Fe içeren su örneğidir. Bulgular Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Uygulamaların 200 ppb Fe giderimine etkisi

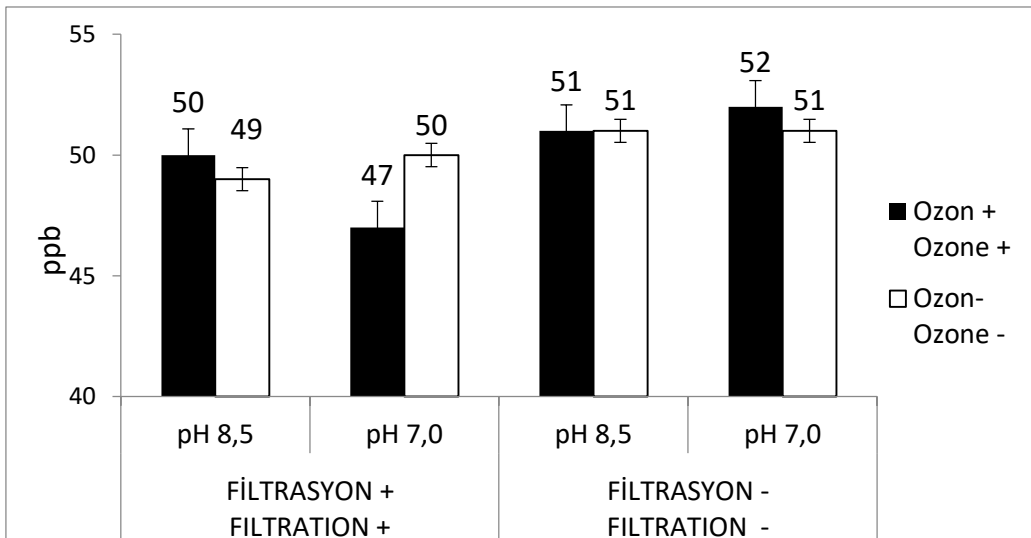
Figure 1. Effects of treatments on 200 ppb Fe removal



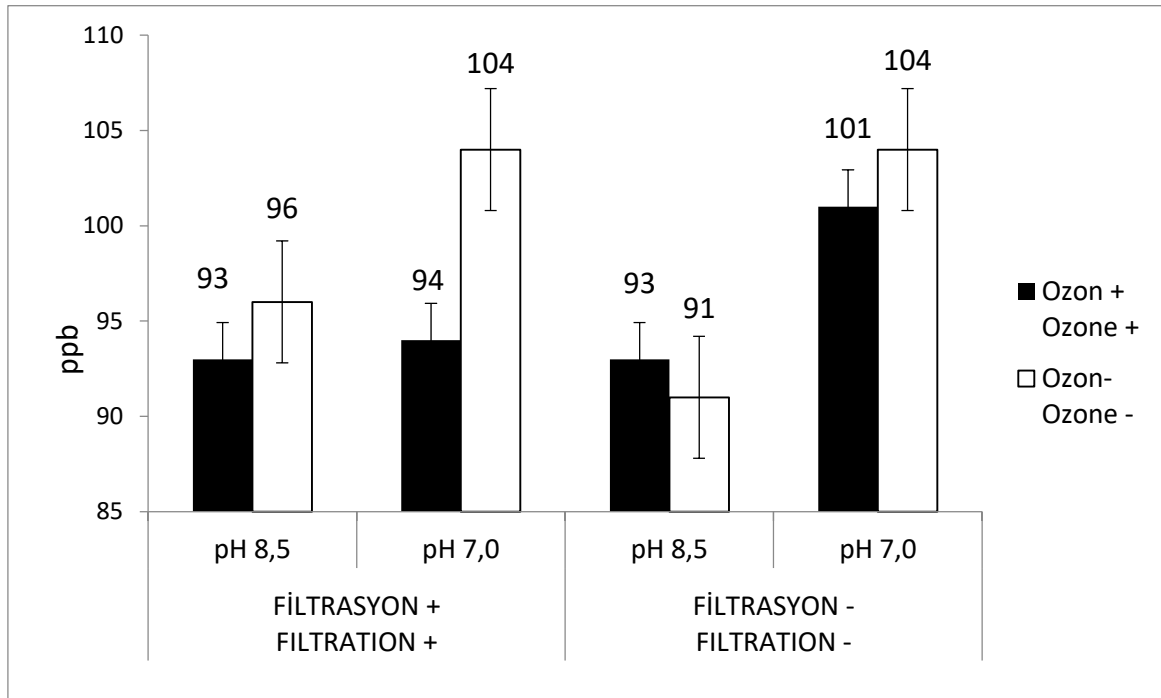
Şekil 2. Uygulamaların 400 ppb Fe giderimine etkisi
Figure 2. Effects of treatments on 400 ppb Fe removal

Örneklerde yapılan Fe analizinde 200 ppb Fe içeren pH 7.0'daki su örneklerinde ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin Fe gideriminde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Aynı pH'daki suların demir miktarı 400 ppb olduğunda yine bir giderimin olmadığı anlaşılmıştır. Su örneklerindeki Fe

düzeyi, yapılan ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin giderim üzerinde bir rol oynamamıştır. Söz konusu örneklerin hiç birinde pH 7.0'deki sulardan Fe giderimi sağlanamamıştır (Şekil 3 ve Şekil 4).



Şekil 3. Uygulamaların 50 ppb Mn giderimine etkisi
Figure 3. Effects of treatments on 50 ppb Mn removal



Şekil 4. Uygulamaların 100 ppb Mn giderimine etkisi

Figure 4. Effects of treatments on 100 ppb Mn removal

pH 8.5'de yapılan çalışmalarda da pH 7.0'daki aynı uygulamalar yapılmıştır. Bu uygulamalarda ozonlama işlemine bağlı olmaksızın, yapılan filtrasyon işlemi ile Fe giderimi sağlanmıştır. Bu bulgular giderimde pH'nın ve filtrasyonun ozonlamadan daha önemli olduğunu göstermiştir (Şekil 3 ve Şekil 4).

Ustaoglu (2003)'nin yaptığı çalışmalar sonunda, asidik pH'lara göre bazik pH'larda (özellikle pH 8.5'de) sudaki demirin daha hızlı bir şekilde giderilebildiği görülmüştür. Çünkü ozon, düşük pH değerlerinde öncelikle moleküler ozon şeklinde reaksiyona girmektedir. Moleküler ozon seçici olduğundan reaksiyon yavaş ilerler. pH'nın yüksek olduğu durumlarda hızlı bir şekilde bozunur ve hidroksil radikallerine dönüşür. Bu radikaller seçici olmaması nedeniyle çok hızlı bir şekilde reaksiyona girerler. Ancak çalışmada, bazı durumların ozonun Fe giderimine tek başına yetemeyeceği ve suya CaCO₃ eklenerek alkalinitenin artırılması ile verim alınabileceği anlaşılmıştır.

Ozonlama, Filtrasyon ve pH'nın Mn Giderimine Etkisi

pH'sı 7.0 ve içerdiği Mn miktarı 50 ppb olan su örneklerinde ozon ve filtrasyon işlemlerinin Mn gideriminde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Aynı pH'da olan sulara 100 ppb Mn katıldığında ise yine bir giderimin olmadığı anlaşılmıştır. pH 7.0'de suyun içerdiği Mn miktarından bağımsız olarak ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin Mn gideriminde etkisi olmadığı anlaşılmıştır (Şekil 3 ve Şekil 4).

pH'sı 8.5'e ayarlanan su örneklerine 50 ve 100 ppb Mn ayrı ayrı katılıp üzerlerinde aynı işlemler uygulanmıştır. Mn içeren su örnekleri için ozon ve filtrasyon işlemi ile giderimde başarılı olunamamıştır. Buradan da Mn üzerinde tek başına ozon ve filtrasyon işleminin herhangi bir etkisinin olmadığı (Şekil 5 ve Şekil 6) görülmektedir. McKnight vd. (1993) tek başına ozonlama ve filtrasyonun bazı koşullarda Mn giderimine yetmeyeceğini, bu yüzden KMnO₄ takviyesi gerekebileceğini yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Paillard vd. (1989) ise pH 8.4'te sudaki Mn'in çeşitli ozon dozları ile

giderilemediğini fakat 120-130 mg/L CaCO₃ ilavesinin arıtım işlemini pozitif yönde etkileyerek manganın giderildiğini gözlemlemiştir.

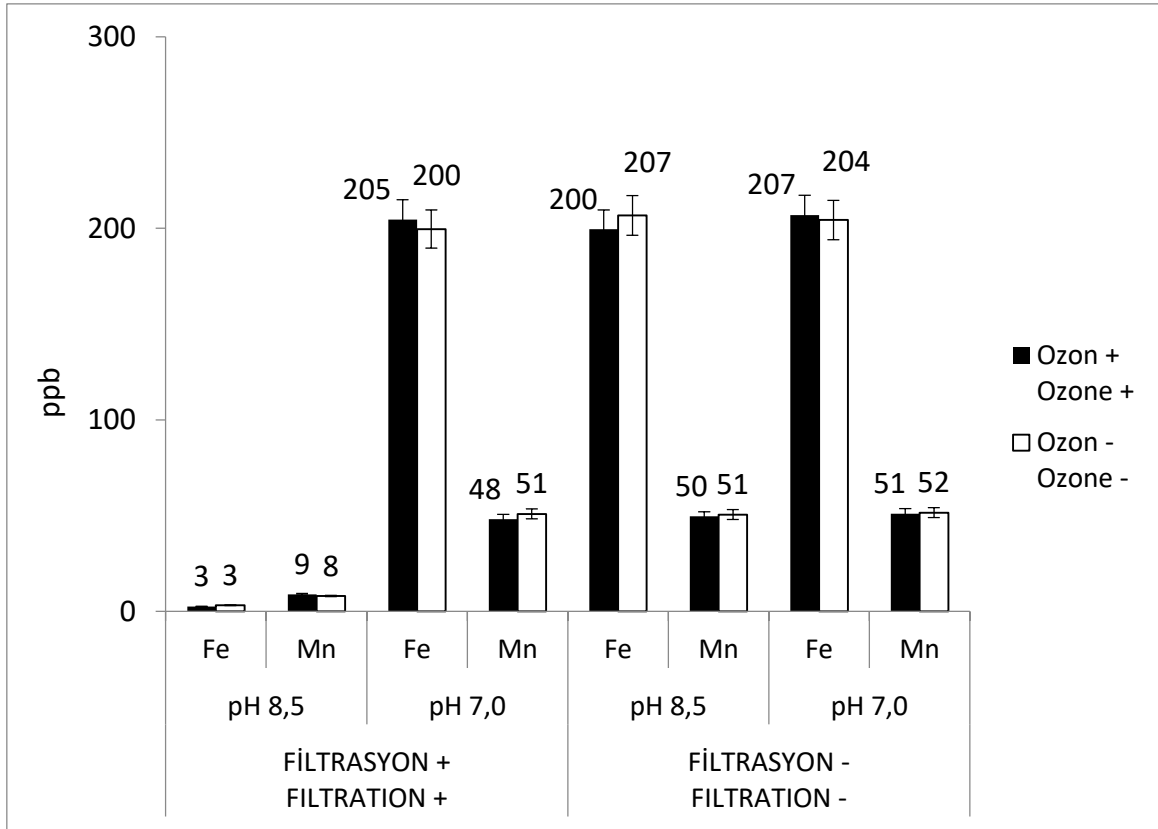
Yapılan başka bir çalışmada Mn giderimi için su alkalinitesinin gerektiği belirtilmiştir. Çünkü alkalinite artışı, stabiliteyi artırarak kullanılan ozon miktarını azaltmaktadır. Ayrıca alkalinitenin artması reaksiyon süresinde de azaltma meydana getirebilmektedir (Ustaoglu 2003).

Çalışmada saf su alkalinitesi ile çalışılması nedeniyle 5 dk ozonlamanın reaksiyon süresi

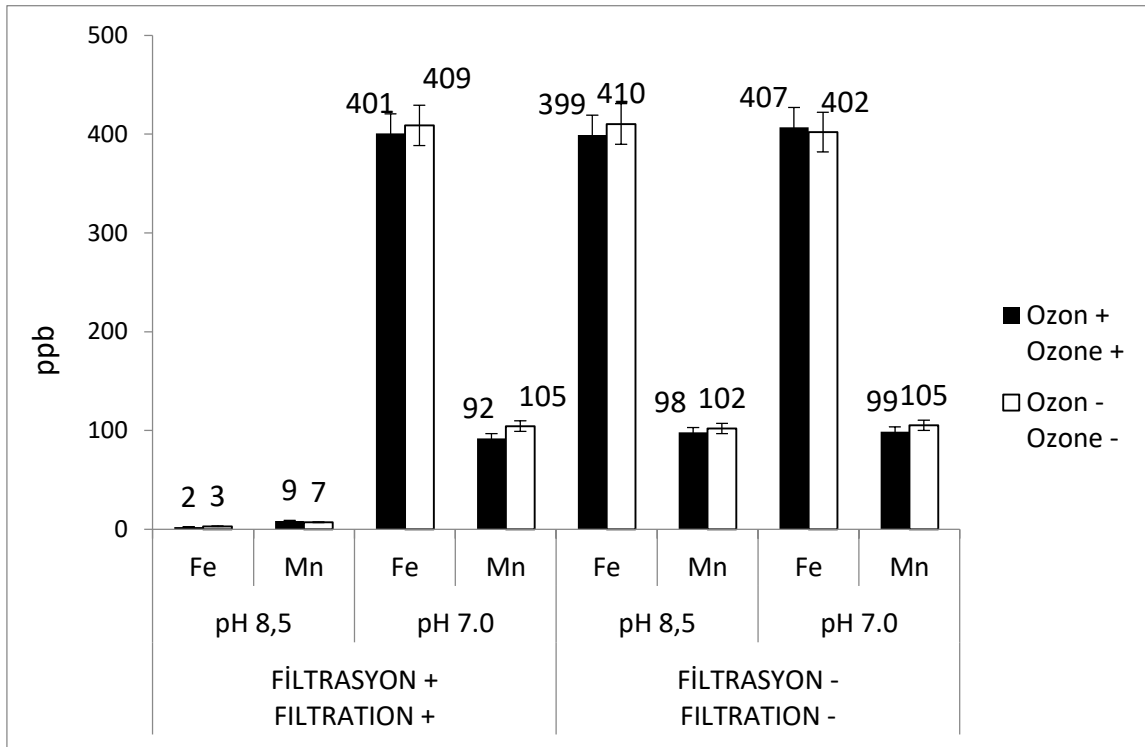
bakımından yetmediği ve ayrıca bu süre zarfında uygulanan ozon dozunun Mn gideriminde etkili olmadığı görülmüştür.

Ozonlama, Filtrasyon ve pH'nın Fe ve Mn'in Birlikte Giderimine Etkisi

Çalışmada 200 ppb Fe+50 ppb Mn ve 400 ppb Fe+100 ppb Mn içeren 7.0 ve 8.5 pH'daki saf su örnekleri yukarıda belirtildiği şekilde 4 farklı işleme tabi tutulmuştur. pH 7.0'de ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin Fe ve Mn gideriminde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (Şekil 5 ve Şekil 6).



Şekil 5. Uygulamaların 200 ppb Fe+50 ppb Mn'in giderimine etkisi
Figure 5. Effects of treatments on 200 ppb Fe + 50 ppb Mn removal



Şekil 6. Uygulamaların 400 ppb Fe+100 ppb Mn'ın giderimine etkisi

Figure 6. Effects of treatments on 400 ppb Fe + 100 ppb Mn removal

pH 8,5'deki su örnekleri aynı işlemlere tabi tutulduktan sonra kalan element miktarları belirlenmiştir. Bu şartlarda tek başına ozonlama işlemi giderimde yeterli olmamıştır. Ozonlamayı takiben yapılan filtrasyon işlemi ile hem Fe hem Mn yaklaşık % 95 oranında giderilmiştir.

Mangan oksitlerin oldukça ince partiküller halinde bulunmaları nedeniyle bazı durumlarda filtrede tutunamazlar. Mangan, suya demir ile birlikte eklendiğinde ise oksitlenmiş demir, mangan oksit partikülleri ile kaplanır ve oksitlenen demir ile mangan filtrede birlikte tutunur (Post 1999, Özgün 2007). Eklenen demir konsantrasyonu arttıkça giderim veriminde artış olduğu görülmektedir (Özgün 2007). Giderim verimindeki bu artış, Mn(II)'nin demir oksitte adsorpsiyonu veya demir ve manganın birlikte çökmesi ile açıklanmıştır (Çelik 2011).

Bir çalışmada pH'nın artmasıyla artan oksijenin oksidasyon kinetiğini artırması nedeniyle elde edilen çökeltinin daha hızlı meydana geldiği belirlenmiş ve giderim veriminin daha fazla

olduğu belirtilmiştir (Çelik 2011). Pham vd. (2004)'nin çalışmalarında artan pH ile kompleksleşmenin artışı elektrostatik kuvvetlerin etkisi ile açıklanmıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada suya eklenen Fe ile Mn düzeylerinin giderimi üzerine pH'nın, başlangıç Fe ve Mn dozunun, ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada giderim işleminde suyun pH'sının etkili olduğu, suya katılan elementlerin başlangıç düzeyinin önemli olmadığı, tek başına ozonlama işleminin giderimi sağlamadığı, mutlaka filtrasyon ile desteklenmesi gerektiği anlaşılmıştır. Hatta bazı koşullarda filtrasyonun tek başına bile yetebildiği gözlemlenmiştir. Özellikle Mn giderimi için Mn'ın Fe ile birlikte bulunması gerektiği ve suyun pH'sının 8,5'e ayarlanarak filtre edilmesinin şart olduğu anlaşılmıştır. Buna göre;

(I) pH'sı 7,0 ve içerdiği Fe miktarı 200 ppb olan su örneklerinde, ozonlamanın tek başına herhangi bir etkisinin olmadığı, ozonlamanın ardından

yapılan filtrasyon işleminde de Fe taneciklerinin filtreye tutunmadığı gözlenmiştir. Suyun içerdiği Fe miktarı 400 ppb olduğunda da yine bir giderimin olmadığı anlaşılmıştır. Bu pH'da sudaki Fe miktarının düzeyinin, ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin Fe giderimi üzerine etkisi olmadığı anlaşılmıştır.

(II) İçerdiği Mn miktarı 50 ppb ve pH'sı 7.0 olan su örneklerinde ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin ayrı ayrı ve birlikte uygulanması ile Mn gideriminde herhangi bir sonuç alınamamıştır. Aynı pH'da olan sulara 100 ppb Mn katıldığında da durum aynıdır.

(III) Suya 200 ppb Fe ile 50 ppb Mn birlikte katıldığında, pH 7.0'da ozonlama ve filtrasyon işlemleriyle giderim verimi alınamamıştır. Bu pH'da olan sulara 400 ppb Fe ve 100 ppb Mn birlikte katıldığında da aynı şekilde bir giderimin olmadığı anlaşılmıştır. Bu pH'da sudaki Fe+Mn miktarının düzeyinin, ozonlama ve filtrasyon işlemlerinin Mn giderimi üzerinde etkili olmadığı anlaşılmıştır.

(IV) pH'sı 8.5'e ayarlanan su örneklerine 200 ve 400 ppb Fe ayrı ayrı katıldığında ozonlama işleminden bağımsız olarak filtrasyon işlemi ile Fe taneciklerinin filtreye tutunduğu gözlemlenmiştir. Böylece Fe giderimi için mutlaka alkali pH ve filtrasyon işleminin gerektiği, ancak ozonlamanın herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

(V) pH'sı 8.5 olan su örneklerine 50 ve 100 ppb Mn ayrı ayrı eklenip bu örnekler ozonlama, ozonlama+filtrasyon ve filtrasyon işlemlerine tabi tutulduğunda Mn giderimi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

(VI) 200 ppb Fe+50 ppb Mn ve 400 ppb Fe+100 ppb Mn'ın ayrı ayrı eklendiği pH 8.5 olan sulara Mn, Fe ile birlikte suya katıldığında tek başına ozonlama yeterli olamamıştır. Ozonlamanın filtrasyon ile desteklenmesi halinde hem Fe hem Mn bakımından yaklaşık %95 oranında giderim sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

Anonim (2005a). İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. 17.02.2005 tarih ve 25730 sayılı Resmi Gazete. 35s.

Anonim (2005b). Web Sitesi: <http://ozontek.com/turkish>. Erişim Tarihi: 15.05.2019.

Anonim (2016). Manganese in drinking water. Document for public consultation. Government of Canada Publications, 116p, Canada.

Çakmakçı, M. (2006). Sulardaki Fe(II) konsantrasyonu ile filtre yük kayıpları arasındaki ilişkinin araştırılması. Doktora Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 178s, İstanbul.

Çakmakçı, M., Özkaya, B., Yetilmezsoy, K., Demir, S. (2013). Su arıtma tesislerinin tasarım ve işletme esasları. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Su Yönetimi Genel Müdürlüğü Yayını 570s, Ankara.

Çelik, S. Ö. (2011). Fe(II) ve Mn(II)'ın birlikte giderimine DOM etkisi ve batık membran filtrelerle ileri arıtımı. Doktora Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 183s, İstanbul.

McKnight, K. F., Carlson, M., Fortin, P., Ziesmer, C. (1993). Comparison of ozone efficiency for manganese oxidation between raw and settled water. *Ozone: Sci Eng*, 15(4): 331-341.

Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Kitamura, C., Yano, J., Terashita, M., Nishihara, T. (2004). Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Micro Immunol*, 19: 240-246.

Oğuz, T. C. (2015). İçme suyu arıtımında yaygın olarak karşılaşılan su kalite problemleri ve arıtımı için çözüm önerileri. Uzmanlık Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, 102s, İstanbul.

Özgül, H. (2007). Oksidasyon ve filtrasyon aşamalarında sulara mangan giderimini etkileyen bazı faktörlerin araştırılması. Yüksek Lisans tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 106s, İstanbul.

- Öztekin, S., Zorlugenç, B., Kıroğlu, Z. F. (2006). Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. *J Food Eng*, 75 (3): 396-399.
- Paillard, H., Legube, B., Bourbigot, M. M., Lefebvre, E. (1989). Iron and manganese removal with ozonation in the presence of humic substances. *Ozone: Sci Eng*, 11: 93-114.
- Pham, A. N., Rose A. L., Feitz, A. J., Waite T. D. (2004). The effect of dissolved natural organic matter on the rate of removal of ferrous iron in freshwaters. *Water Sci Tech*, 4: 213-219.
- Post, J. 1999. Manganese oxide minerals: Crystal structures and economic and environmental significance. *PNAS*, 96: 3447-3454.
- Rakness, K. L., Gordon, G., Langlais, B., Masschelein, W., Matsumoto, N., Richard, Y., Robson, C. M., Somiya, I. (1996). Guideline for measurement of ozone concentration in the process gas from an ozone generator. *Ozone: Sci Eng*, 18: 209-229.
- Sharma, S. K., Petrusevski, B., Schippers, J. C. 2002. Characterization of coated sand from iron removal plants. *Water Supply*, 2(2): 247-257.
- TS-9748 EN 27888 (2012a). Su kalitesi-Elektriksel iletkenlik tayini. Türk Standartları Enstitüsü, ICS 13.060.01.
- TS EN ISO 7887 (2012b). Su Kalitesi- Su renginin muayene ve tayini. Türk Standartları Enstitüsü, ICS 13.060. 60.
- TS EN ISO 10523 (2013). Su kalitesi-pH tayini. Türk Standartları Enstitüsü, ICS 13.060.50
- Ustaoglu, M. A. (2003). Ön ozonlamanın Mn(II) oksidasyonunun verimi üzerindeki etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 73s, İstanbul.
- Yardımcımar, M. (2001). İstanbul Su Arıtma Tesislerinde Demir-Mangan Problemi Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi. İ.T.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, 117s, İstanbul.

PROBİYOTİK KÜLTÜRLERİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN FARKLI KAPLAMA MATERYALLERİ VE YÖNTEMLER

Burak Geniş*, Yasin Tuncer

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / Received: 30.05.2019; Kabul / Accepted: 31.10.2019; Online baskı / Published online: 27.11.2019

Geniş, B., Tuncer, Y. (2019). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler. *GIDA* (2019) 44 (6) 1222-1236 doi: 10.15237/gida.GD19087

Geniş, B., Tuncer, Y. (2019). *Different coating materials and methods used in microencapsulation of probiotic cultures. GIDA* (2019) 44 (6) 1222-1236 doi: 10.15237/gida.GD19087

ÖZ

Fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik bakteriler, insan sağlığını destekleme ve sürdürmede önemli rol oynayabilmektedir. Probiyotik kültürlerin bu ürünlerde sağladıkları avantajların yanı sıra kullanımlarını sınırlandıran bazı faktörler de bulunmaktadır. Probiyotik kültürlerin gıda ortamında çevresel koşullardan etkilenmeleri ve canlılıklarını uzun süre koruyamamaları en önemli dezavantajlarıdır. Son yıllarda, probiyotik kültürler olumsuz çevresel koşullara karşı koymaları için fiziksel bir bariyer oluşturulması sıklıkla uygulanan bir yöntem haline gelmiştir. Probiyotik kültürlerin korunmasına yönelik mikroenkapsülasyon yöntemleri, bu mikroorganizmaların gıda ürünlerinde ve gastrointestinal sistemde canlı kalma oranlarını büyük ölçüde arttırmaktadır. Ek olarak mikroenkapsülasyon probiyotik kültürlerin istenilen zamanda ve bölgede kontrollü salınımını sağlayarak kültürün etkinliğini güçlendirmektedir. Bu derlemede, probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve mikroenkapsülasyon yöntemleri özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Probiyotik kültür, mikroenkapsülasyon, kaplama materyali, mikroenkapsülasyon yöntemleri

DIFFERENT COATING MATERIALS AND METHODS USED IN MICROENCAPSULATION OF PROBIOTIC CULTURES

ABSTRACT

Probiotic bacteria used in the production of functional foods may play an important role in the promote and maintenance of human health. In addition to the provide advantages of probiotic cultures in these products, there are some factors that limit their use. The most important disadvantages of probiotic cultures that they are affected by enviromental conditions in food and can not maintain their viability for a long time. In recent years, the creation of physical barrier to counteract adverse enviromental conditions of probiotic cultures has become a frequently applied method. Microencapsulation methods for protection of probiotic cultures greatly increase their survival in food products and gastrointestinal tract. In addition, microencapsulation enhances the efficiency of the culture by providing controlled release of probiotic cultures at the desired time and site. In this review, coating materials and microencapsulation methods used for microencapsulation of probiotic cultures were summarized.

Keywords: Probiotic culture, microencapsulation, coating material, microencapsulation techniques

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author:

✉ burakgenis@hotmail.com

☎ (+90) 246 211 1713

☎ (+90) 246 237 0437

GİRİŞ

Günümüz toplumlarında tüketicilerin sağlıklı gıda tüketim bilincinin artması, tüketim tercihlerinin ve davranışlarının değişmesine neden olmaktadır (Varhan ve Koç, 2018). Gün geçtikçe birçok tüketici gıdaların sadece beslenme amacıyla tüketilmesinin yerine, daha doğal gıdalar ile beslenerek gıda kaynaklı hastalıklara karşı korunmak ve güvenli gıdalara erişebilmeyi arzu etmektedir (Đorđević vd., 2015; Turasan vd., 2015). Değişen üretim koşulları, tüketici talepleri ve bu alanda artan pazar doğrultusunda gıda endüstrisinde güvenli ve sağlıklı gıda üretimi önem kazanmıştır (Rocha vd., 2017; Varhan ve Koç, 2018). Bu bağlamda gıda endüstrisi ve araştırmalar, sağlık üzerine olumlu etki gösteren doğal bileşenler ile takviye edilen gıdalara yönelmiştir. Bu gıdalar genel olarak fonksiyonel gıdalar olarak adlandırılmaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Fonksiyonel gıdalar temel beslenme ihtiyacı için gerekli olan besin bileşenlerini karşılamanın yanında insan metabolizması üzerine olumlu etki göstererek hastalık riskini azaltan gıdalar ya da gıda içerisinde bulunan bileşenler olarak tanımlanmaktadır (Altun ve Özcan, 2013). Dünya genelindeki fonksiyonel gıda pazarının büyük bir kısmını, tek veya karışık kültürlerden oluşan antimikrobiyal aktiviteye sahip, ürün kalitesini artırıcı özellik gösteren ve insan sağlığına fayda sağlayan probiyotik kültürlerin kullanımı ile üretilen fonksiyonel gıdalar oluşturmaktadır (Soccol vd., 2014; Espitia vd., 2016; Li vd., 2016; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018; Arepally ve Goswami, 2019). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından probiyotikler, canlıların sindirim sisteminde yeterli sayıda ve canlılıkta bulduklarında konak sağlığı üzerine olumlu etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Kumar vd., 2015; Martín vd., 2015; De Prisco ve Mauriello, 2016; Espitia vd., 2016; Arslan-Tontul ve Erbas, 2017; Roshanzamir vd., 2017; Shori, 2017; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018). Probiyotik bakterilerin konakta fayda sağlayabilmesi için tüketim öncesi üründe minimum 10^6 - 10^8 kob/g veya mL düzeyinde bulunmasının yanı sıra düzenli olarak tüketilmesi, patojen ve toksik etki göstermemesi, mide ortamını geçerek hayatta kalması, safra asitlerine

karşı dayanıklı olması, bağırsaklara büyük miktarda ulaşarak kolonileşmesi ve metabolik aktivitesine devam etmesi gerekmektedir (Dianawati vd., 2016; De Prisco vd., 2017; Pandey ve Vakil, 2017; Uran vd., 2017; Wang vd., 2019). Bunlarla birlikte probiyotik mikroorganizmaların canlılığı üzerine pH, hidrojen peroksit, oksijen, depolama sıcaklığı gibi faktörlerin de etki gösterdiği bilinmektedir (Martín vd., 2015). Probiyotik kültürlerin gıda endüstrisinde kullanımlarını kısıtlayan bir başka faktör ise proses basamaklarında mikroorganizmanın canlılık oranını etkileyen yöntemler kullanılması ve bu nedenle probiyotik kültürlerin stabilitesini kaybetmesidir (Uran vd., 2017). Günümüzde probiyotik kültürlerin konak sindirim sistemine yerleşmesi ve canlılığını sürdürmesini engelleyebilecek olumsuz etmenlere karşı direnç kazanmaları için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında asit ve safraya dirençli suşların seçimi, oksijen geçirmeyen ambalajların kullanımı, iki aşamalı fermantasyon, stres adaptasyonu, peptit ve amino asit içeren mikrobeseinlerin ilave edilmesi ve mikroenkapsülasyon sıklıkla tercih edilmektedir (Martín vd., 2015; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018). Son yıllarda yapılan araştırmalar probiyotik kültürlerin stabilitesi ve konakta sağladıkları fayda oranını arttırmak için mikroenkapsülasyon yönteminin kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır (Martín vd., 2015; Dianawati vd., 2016; Espitia vd., 2016; Pandey ve Vakil, 2017; Kavitate vd., 2018; Pradeep Prasanna ve Charalampopoulos, 2018; Arepally ve Goswami, 2019; Singh vd., 2019)

Mikroenkapsülasyon

Enkapsülasyon, bir maddenin dış etkenlerden korunması ve istenilen koşullarda açığa çıkabilmesi için özel şartlar altında nano ($\leq 0,2$ μm), mikro (0,2-5000 μm) ve makro (≥ 5000 μm) boyutlardaki bir koruyucu kaplama maddesi ile kaplanması veya bir taşıyıcı materyale bağlanması prensibine dayalı bir yöntemdir (Çakır, 2006; Paulo ve Santos, 2017; Roshanzamir vd., 2017; Sarao ve Arora, 2017; Kavitate vd., 2018). Enkapsülasyon işlemi farklı yöntemler kullanılarak uygulansa da temel olarak üç aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada biyoaktif

bileşen katı veya sıvı matris içersine dâhil edilir. İkinci aşamada sıvı matris dispersiyonu sağlanır ve son aşamada fiziksel (buharlaştırma, katılaştırma vb.), kimyasal (polimerizasyon) veya fizikokimyasal (jelifikasyon) bir yöntemle stabilize edilerek enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilir (Sarao ve Arora, 2017). Enkapsülasyon işlemi uygulanan aktif madde çekirdek materyal (core material) olarak tanımlanır ve çözünmüş veya disperse olmuş sıvı veya katı yapıda olabilir. Ana maddenin içinde dağıldığı koruyucu matris yapısı için kaplama, kapsül, duvar veya kabuk gibi benzer tanımlar kullanılır (Dianawati vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017). Mikroenkapsülasyon işlemi sonrası meydana gelen mikrokapsüllerin genellikle çapları 0.01 ve 1.000 µm aralığında iken, aktif malzemenin üzerini kaplayan duvar kalınlığı ise 0.5-150 µm olmaktadır (Peanparkdee vd., 2016). Mikroenkapsülasyon yöntemi sonucu elde edilen ürünler mikropartiküller olarak bilinmektedir. Mikropartiküller için kullanılan mikroküre ve mikrokapsül terimleri eşanlamlı gibi gözüke de, içyapıları ve morfolojileri sayesinde farklılık göstermektedir (Paulo ve Santos, 2017). Çekirdek materyal, duvar materyali ve mikroenkapsülasyon tekniğinin çeşitli özelliklerine göre farklı partiküller elde edilebilmektedir. Morfolojilerine göre mikrokapsüller tek çekirdekli (mononuclear), çok çekirdekli (poly/multinuclear), matris (matrix), çok katlı (multi-wall) ve düzensiz (irregular) olarak tanımlanabilmektedir (Peanparkdee vd., 2016). Mikroenkapsülasyon yöntemi günümüzde ilaç (%68), gıda (%13), kozmetik (%8), tekstil (%5), biyomedikal (%3), tarım (%2) ve elektronik (%1) gibi farklı sanayi dallarında sıklıkla kullanılmaktadır (Paulo ve Santos, 2017). Enkapsülasyon yönteminin farklı endüstri alanlarındaki temel kullanım amaçlarından bazıları; istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması, sıvı bileşimin katı forma dönüştürülmesi, çevresel kaynaklı olumsuzlukların minimize edilmesi, mikroenkapsülasyon işlemi ile üründe tat ve kokunun maskelenmesi, aktif bileşiklerin uçucu özelliklerinin baskılanması, mikroenkapsüle ürünün hedeflenen zamanda kontrollü olarak salınımının gerçekleştirilmesi, kaplanmış çekirdek materyalinin farklı bileşenler ile etkileşime girmesinin engellenmesi, ürünlerin daha rahat

taşınması ve uzun süreli depolanması gibi fayda sağlayacak özelliklerin elde edilmesidir (Sagis, 2015; Wani vd., 2016). Mikroenkapsülasyon uygulamalarının başarısı, koruma altına alınacak aktif materyalin hangi teknik ve kaplama materyali kullanılarak enkapsüle edileceği ile ilgilidir. Günümüzde laktik asit bakterileri ve probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda farklı yapı ve özellikler taşıyan aljinatlar, peynir altı suyu proteinleri, nişasta, karregen, selüloz asetat fitalat (CAP), kitosan, jellan ve ksantan gam, jelatin ve nohut proteinleri gibi bazı kaplama materyalleri kullanılmaktadır. Mikroenkapsülasyon işleminde bu kaplama materyalleri ekstrüzyon, emülsiyon, akışkan yatak, rennet ile jelleştirilmiş protein, dondurarak kurutma, püskürtmeli kurutma, hibridizasyon, çarpışmalı aerosol teknolojisi ve elektrodondurma (elektrospinning) yöntemleri ile uygulanabilmektedir (Martín vd., 2015; Kavitate vd., 2018). Laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve enkapsülasyon yöntemleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Mikroenkapsülasyonda Kullanılan Kaplama Materyalleri

Mikroenkapsülasyon işleminin başarılı olabilmesi için ürüne ve kullanılacak tekniğe uygun kaplama materyali seçimi çok önemlidir. Genel olarak tercih edilen kaplama materyalleri toksik olmamalı, GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) özellikte olmalı, kaplama işlemi sırasında kolay işlenebilmeli, inert olmalı, aktif materyal ile uygulama sırasında ve sonrasında materyalin özelliğini etkileyecek reaksiyonlara girmemeli ve aktif materyalin stabilitesini arttırmalı, aktif materyali beklenen çevresel etkilerden koruyabilmeli, beklenen zamanda aktif materyalin salınımı için uygun yapıda olmalı ve yüksek maliyete sahip olmamalıdır (Azagheswari vd., 2015; Giro-Paloma vd., 2016; Atak vd., 2017; Başyigit vd., 2017; Suganya ve Anuradha, 2017; Ramani ve Ramani, 2018). Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali olarak polisakkarit (aljinat, ksantan gam, karragenan, nişasta ve türevleri, vb.), protein (jelatin ve süt proteinleri vb.) ve lipit (süt yağı, kakao yağı ve hidrojene yağ, vb.) bazlı bileşikler

kullanılmaktadır (Chen vd., 2017). Günümüzde probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda polisakkarit bazlı kaplama materyallerinden aljinatlar, nişasta, karregenon, jellan gam, ksantan gam ve kitosan kullanılırken, protein bazlı

kaplama materyallerinden ise peynir altı suyu proteinleri, jelatin, nohut proteinleri ve selüloz asetat fitalat gibi bileşikler kullanılabilir (Martín vd., 2015; Chen vd., 2017; Kavıtak vd., 2018).

Çizelge 1. Laktik asit bakterileri ve probiyotik bakterilerin enkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyalleri ve enkapsülasyon yöntemleri

Bakteri	Enkapsülasyon yöntemi	Kaplama materyalleri	Kaynak
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-05)	Püskürtmeli kurutma	Selüloz asetat fitalat	Fávaro-Trindade ve Grosso (2002)
<i>Bifidobacterium lactis</i> (Bb-12)	Püskürtmeli kurutma	Peynir altı suyu proteinleri	Picot ve Lacroix (2004)
<i>Bifidobacterium brevis</i> R070	Püskürtmeli kurutma	Sodyum aljinat ve modifiye nişasta	Kailasapathy (2006)
<i>Bifidobacterium longum</i> R023	Emülsiyon	Ksantan gam-jellan gam	Jiménez-Pranteda vd. (2009)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Emülsiyon	Sodyum aljinat ve modifiye nişasta	Kailasapathy (2006)
<i>Bifidobacterium lactis</i>	Emülsiyon	Ksantan gam-jellan gam	Jiménez-Pranteda vd. (2009)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC53103 TM	Ekstrüzyon	Sodyum aljinat ve peynir altı suyu proteinleri	Gbassi vd. (2010)
<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC BAA-999 TM	Liyofilizasyon	Peynir altı suyu proteinleri	Doherty vd. (2012)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	Liyofilizasyon	Jelatin, peynir altı suyu protein konsantresi, modifiye nişasta, maltodekstrin, bezelye proteini, gam Arabik	Arslan vd. (2015)
<i>Lactobacillus plantarum</i> 800y	Liyofilizasyon	Kitosan-aljinat	De Prisco vd. (2015)
<i>Lactobacillus plantarum</i> CIP A159	Liyofilizasyon	Nohut proteini-aljinat	Wang vd. (2014)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Ekstrüzyon	Mısır nişastasası	Li vd. (2016)
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Püskürtmeli kurutma	Sodyum aljinat-karragenan	Afzaal vd. (2018)
<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM17938	Vibrasyon	Sodyum aljinat	Coelho-Rocha vd. (2018)
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Emülsiyon		
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	Dondurarak kurutma		
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC4356	Akışkan yatak		
<i>L. lactis</i> subsp <i>cremoris</i> MG1363 (pExu:mCherry)	Ekstrüzyon		

Polisakkarit Bazlı Kaplama Materyalleri Aljinatlar

Aljinatlar farklı türlerdeki alglerin hücre duvarlarından ekstrakte edilen, L-guluronik asit ve D-mannuronik asit olmak üzere iki monomerden

oluşan doğrusal heteropolisakkaritlerdir (Martín vd., 2015; Wani vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017; Albadran vd., 2018). Mikroenkapsülasyon işleminde destek malzeme olarak kullanılan aljinatların; toksik özellik göstermemesi,

ekonomik ve kolay bulunur olması, yüksek stabiliteye sahip jeller oluşturması, alkali tampon çözeltide kolaylıkla ortaya çıkması ve kalsiyum klorür ile probiyotik bakteriler gibi hassas materyallerin kaplanmasında hafif matriksler oluşturması gibi avantajları bulunmaktadır (Gökbulut ve Öztürk, 2018; Ramani ve Ramani, 2018). Fakat aljinatların tek başlarına asit ortama karşı duyarlı olması, çevresel faktörlerden etkilenerek koruyucu özelliğinin azalması, gözenekli boncuk yüzeyi oluşması ve büyük ölçekli üretime çok uygun olmayışı aljinatların kullanımını kısıtlayan önemli faktörlerdir (Gökbulut ve Öztürk, 2018; Marcial-Coba vd., 2019). Bu dezavantajlarına karşın daha dayanıklı kaplama materyali elde etmek için aljinatların kitosan, nişasta, karregen, pektin veya sentetik polimerler ile birlikte kullanılabilmesi belirtilmektedir (Dordevic' vd., 2015). Aljinatlar mikroenkapsülasyon yöntemleri arasında genellikle ekstrüzyon yönteminde kullanılmaktadır (Martín vd., 2015). Coelho-Rocha vd. (2018), mCherry floresans proteini kodlayan pExu vektörü taşıyan rekombinant *L. lactis* subsp. *lactis* MG1363 suşunu geliştirdikleri ve %1 sodyum alginat kullanarak ekstrüzyon yöntemi ile mikroenkapsüle ettikleri çalışmalarında, enkapsüle edilmiş ve edilmemiş suşları C57BL/6 farelerine ağız yoluyla uygulamışlar ve farklı zamanlarda (0-168 saat) ve farklı bağırsak kısımlarında mCherry protein ekspresyon düzeyini ölçmüşlerdir. Konfokal mikroskopik sonucu enkapsüle suş uygulanan hayvanlarda mCherry protein ekspresyonunun daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçları qRT-PCR ile desteklemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, mikroenkapsülasyonun bağırsağın farklı bölümlerine yüksek sayıda canlı hücre ulaşmasında etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Nişasta ve Türevleri

Nişasta çok sayıda α -D glikoz birimlerinin glikozidik bağlar yoluyla birleşmesi sonucu oluşan bir polisakarittir. Pankreas enzimleri tarafından ince bağırsakta sindirilemeyen nişasta dirençli nişasta olarak tanımlanmaktadır. Dirençli nişasta sindirilmeden fermente olduğu kalın bağırsağın kolon bölümüne ulaşmaktadır. Dirençli nişastanın

bağırsağa ulaşması kalın bağırsakta bakteriyel hücrelerin daha iyi salınmasını sağlamaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Bu sebeple dirençli nişasta probiyotik hücrelerin bağırsaklara ulaşmaları için mikroenkapsülasyon yöntemlerinde kaplama materyali olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Li vd., 2016; Sarao ve Arora, 2017; Marcial-Coba vd., 2019). Li vd. (2016), doğal ve kısmi hidrolize edilmiş mısır nişastasında dondurarak kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik *Lactobacillus plantarum* 299v suşunun asit, safra tuzu ve ısı uygulamalarında hayatta kalma düzeyini araştırmışlardır. Enzimatik hidroliz ile doğal mısır nişastasında bulunan oyuk ve kanalların büyüdüğü ve böylece probiyotik hücre yükleme kapasitesinin arttığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışma ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik bakterilerin asit toleranslarının serbest hücrelere göre önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar poröz mısır nişastası granüllerinin yüksek probiyotik yükleme kapasitesi olduğunu ve farklı stres koşullarında serbest hücrelere gelişmiş koruma sağladığını göstermiştir.

Karregen

Karregen kırmızı deniz yosunlarından elde edilen hidrofilik, nötr bir polisakarit olup, gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılan doğal bir polimerdir. Karregenlar genellikle sıcak alkali özütleme işlemi ile deniz yosunu hücrelerinden elde edilmektedir (Martín vd., 2015; Chakraborty, 2017). Karregen kokuların ve aromaların stabilitesine olumlu katkıda bulunması nedeni ile gıda ve kozmetik formülasyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Chakraborty, 2017). Altı türü bulunan karregen polimeri arasında enkapsülasyon uygulamalarında en sık kullanılan α -karregenandır. Karregen ucuz olması ve biyopolimer özellik göstermesi, enkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak tercih edilmesine sebep olmaktadır (Martín vd., 2015; Chakraborty, 2017). Bunun yanı sıra probiyotik hücrelerin mikroenkapsülasyonunda karregen boncuklarının tercih edilmesinde, karregen mikroorganizmanın canlılığına olumlu etki göstermesi ve yoğurt gibi fermente ürünlerdeki organik asitlere karşı düşük duyarlılığa sahip olması da etkin rol oynamaktadır (Martín vd.,

2015; Sarao ve Arora, 2017). Karregen kaplama materyali olarak daha çok emülsiyon ve ekstrüzyon yöntemlerinde kullanılmaktadır (Kavitake vd., 2018). Afzaal vd. (2018), probiyotik *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 suşunu sodyum aljinat ve karragenan polisakaritleri ile enkapsüle ederek dondurmada ve yapay sindirim sistemi şartlarında canlı kalabilme yeteneğini araştırmışlardır. Araştırmacılar enkapsülasyon uygulamasının dondurmada ve yapay sindirim sistemi şartlarında probiyotik hücrelerin hayatta kalma düzeyini serbest hücrelere nazaran önemli derecede arttırdığını bildirmişlerdir.

Jellan Gam ve Ksantan Gam

Mikrobiyal bir polisakarit olan jellan gamı *Pseudomonas elodea*'dan elde edilmektedir. Jellan gamı glikoz, glukuronik asit, glikoz ve ramnozun oluşturduğu dört monomerin kendisini tekrarlaması ile meydana gelmektedir (Sarao ve Arora, 2017). Negatif yüklü bir ekzopolisakarit olan jellan gamı doğada biyolojik olarak çözünebilir ve toksik değildir. Jellan gamı metal iyonlarının varlığında sert ve yarı saydam jel üretir. Bu jel düşük pH'da kararlıdır. Bununla birlikte, jellan gam zayıf mekanik dayanıma, fizyolojik koşullarda zayıf kararlılığa ve yüksek jelleşme sıcaklığına sahiptir (Zia vd., 2018). Ksantan gam heteropolimer yapıda, glikoz, mannoz ve glukuronik asit monomerlerinden oluşan, *Xanthomonas campestris* bakterisi kullanılarak elde edilen mikrobiyal bir ekzopolisakarittir (Habibi ve Khosravi-Darani, 2017; Sarao ve Arora, 2017). Bu iki materyalin mikroenkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak ayrı ayrı ve birlikte kullanılmalarının dışında farklı materyallerle kombine kullanımları da bulunmaktadır (Sarao ve Arora, 2017). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kaplama materyali olarak aljinat yerine ksantan-jellan gam karışımının kullanılması, kapsüllenmiş hücrenin asidik ortamda dayanımını arttırmaktadır (Kavitake vd., 2018). Jiménez-Pranteda vd. (2009), jellan gam ve ksantan gam karışımı ile *Lactobacillus rhamnosus* ATCC53103™ ve *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999™ probiyotik kültürlerini ekstrüzyon yöntemi kullanarak mikroenkapsüle etmiş ve yapay sindirim sistemi koşullarında serbest ve enkapsüle

hücrelerin hayatta kalma düzeyleri incelenmiştir. Safra tuzu uygulaması enkapsüle edilmemiş *Lactobacillus* sayısında ilk iki saat süresince 3 log kob düşmeye neden olurken, enkapsüle hücrelerde 1 log kob düşüşüne neden olmuştur. *Bifidobacterium*'da ise enkapsüle edilen hücrelerin enkapsüle edilmemiş hücrelere göre sindirim sistemi koşullarına direncinin düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bifidobakterler ile enkapsülasyonda kullanılan polimerler arasında negatif etkileşimin olduğunu belirtmişlerdir.

Kitosan

Kitosan genellikle kabuklu deniz canlılarının kabuk kısımlarından ekstrakte edilen kitinin deasetilasyonu yoluyla elde edilen pozitif yüklü doğrusal bir polisakarittir (Martín vd., 2015; Wani vd., 2016; Rocha vd., 2017; Huo vd., 2018; Kavitake vd., 2018; Ramos vd., 2018). Kitosan, çözeltelerde stabilite artırıcı, antimikrobiyal ve antioksidan aktivite güçlendirici özelliklerinin yanı sıra ucuz ve yenilebilir olması nedeni ile ilaç ve gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Rocha vd., 2017). Ayrıca kitosan yapısı gereği pH'nın 6'dan düşük olduğu ortamlarda suda çözünebilmektedir. Kitosan, aljinatlar gibi anyon ve polianyonların etkisi ile çapraz bağ kurarak polimerize olmakta ve jel yapma potansiyeli bulunmaktadır (Martín vd., 2015; Sarao ve Arora, 2017). Kitosanın katyonik davranışı ve asidik ortama direnç göstermesi nedeniyle probiyotiklerin gastrointestinal koşullara karşı korunmasında avantaj sağladığını belirten çalışmaların bulunmasının yanı sıra hücrelerin canlılığını korumada düşük düzeyde etkili olduğunu belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Rocha vd., 2017; Ramos vd., 2018). De Prisco vd. (2015), kitosan ile kaplamanın *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 suşunun yapay mide ve bağırsak koşullarında hayatta kalma düzeyini geliştirdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar enkapsüle edilmiş bakterilerin sayısında önemli bir azalma olmaz iken, enkapsüle edilmemiş hücre sayısında 0.35 log kob'luk bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Graff vd. (2008) *Saccharomyces boulardii* hücrelerini kitosan ile kaplamışlar ancak önemli bir koruma sağlamadığını tespit etmişlerdir.

Protein Bazlı Kaplama Materyalleri Peynir Altı Suyu Proteinleri

Peynir üretimi sırasında ortaya çıkan sıvıdan elde edilen peynir altı suyu proteinleri, süt temelli globüler proteinlerin karışımından meydana gelmektedir. Bu proteinler çok çeşitli aktif moleküllerle etkileşime girme yeteneğine sahiptir. Bu durum konakçıda hedeflenen salınımlarından önce aktif moleküllerin korunması ve ters bağlanması için çeşitli imkanlar sunmaktadır (Martín vd., 2015). Süt proteinleri, yüksek besin değeri, çözelti içerisinde düşük viskozite, kolay çözünme, iyi emülsiyon gibi fonksiyonel özellikler göstermeleri nedeni ile enkapsülasyon uygulamalarında polimerik hidrojellere alternatif olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Kumar vd., 2018). Ayrıca jelleşme özelliklerinin çok iyi olması bakterilerin enkapsülasyon uygulamalarında kullanımlarına olanak sağlamaktadır. Bu özellikleri sayesinde peynir altı suyu proteinlerinin sulu çözeltilerinden elde edilen mikrokapsüller yüksek yoğunlukta jel yapı oluşturmaktadır. Ağa benzeyen bu jel yapı probiyotik mikroorganizmaları daha iyi koruyarak gıdalarda daha etkin kullanılmalarını sağlamaktadır (Abd El-Salam ve El-Shibiny, 2015). Peynir altı suyu proteinlerinin bu özellikleri sonucu, kaplama materyali olarak kullanıldıkları mikrokapsüle probiyotik kültürlerin, gastrointestinal geçiş sırasında canlı formda kalma potansiyelleri oldukça yüksektir (Ramani ve Ramani, 2018). Doherty vd. (2012), jelleşmiş peynir altı suyu boncuklarına tutuklanmış ve tutuklanmamış *Lactobacillus rhamnosus* GG hücrelerinin *ex vivo* domuz sindirim sisteminde (mide-alt karın, bağırsak-ileum ve çekum) hayatta kalma düzeylerini araştırmışlardır. Tutuklanmamış serbest hücreler midede (pH 3.4) 30 dakika inkübasyon sonunda hayatta kalamamış iken, tutuklanmış hücreler 180 dakika inkübasyon sonunda pH 3.4, 2.4 ve 2.0'da sırasıyla 5.7 ± 0.1 , 5.1 ± 0.2 ve 2.2 ± 0.2 log kob/mL düzeyinde canlı kalmışlardır. Elde edilen sonuçlar, protein mikroböcüklerine tutuklanmış hücrelerin asit direncinin arttığını (8.9 ± 0.1 log kob/mL), adsorpsiyon kapasitesinin yüksek olduğunu ve intestinal inkübasyonda 30 dakika içinde probiyotik hücrelerin kontrollü salınımının gerçekleştiğini göstermiştir. Araştırmacılar peynir

altı suyu mikroböcüklerinin biyoaktif bileşenlerin mikroenkapsülasyonunda bağlayıcı materyal olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Jelatin

Jelatin, kolajenin kısmi hidroliziyle elde edilen biyobozunur bir proteindir (Shaddel vd., 2018). Jelatin saf halde, yarı saydam, kırılğan, renksiz veya hafif sarı, tatsız ve kokusuz özelliindedir (Kavitake vd., 2018). Jelatin yüksek emülsifiye etme kapasitesi, sudaki çözünürlüğü, yüksek stabilize edici aktivitesi ve birincil amino grubu boyunca yüksek çapraz bağlama aktivitesi gibi özelliklere sahip olması nedeni ile mikroenkapsülasyon uygulamalarında kaplama materyali olarak kullanılmaktadır (Shaddel vd., 2018). Jelatin amfoterik yapısı nedeniyle jellan gamı gibi anyonik polisakaritlerle sinerjik etki gösterebilmektedir. Bu iki hidrokolloidin birbirlerini itme eğiliminde olması ve negatif yük taşımaları nedeniyle sadece 6'dan daha yüksek pH değerlerinde karışabilmektedirler. Bununla birlikte, karışımın pH'sı jelatinin izoelektrik noktasının altında ayarlandığı zaman jelatin üzerindeki net yük pozitif hale geçmekte ve negatif yüklü jellan gamı ile etkileşime girebilmektedir. Söz konusu karışım bazı gıdaların ve bakterilerin mikroenkapsülasyonunda destek materyali olarak kullanılmaktadır (Martín vd., 2015; Sarao ve Arora, 2017). Arslan vd. (2015), püskürtmeli kurutma yöntemi ile *Saccharomyces boulardii* enkapsülasyonunda jelatin, peynir altı suyu protein konsantresi, modifiye nişasta, maltodekstrin, bezelye proteini ve gam Arabik'i kaplama materyali olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar yapay mide solüsyonunda farklı pH değerleri ve sürelerde *S. boulardii* hücrelerinin hayatta kalmasında en etkili kaplama materyalinin gam Arabik olduğunu bunu jelatin ve bezelye proteininin izlediğini tespit etmişlerdir.

Nohut Proteinleri

Baklagillerde yüksek miktarda değerli protein bulunmaktadır. Baklagil proteinleri yüksek besleyici özelliklerinin yanı sıra oksidasyon önleyici etkiye de sahiptir. Aynı zamanda nutrasötik madde ve fonksiyonel gıdalarda da başarıyla kullanılmaktadır. Nohut proteinlerinin biyoaktif bileşiklerin kapsülasyonu için

kullanılmalarında ana itici güç, GRAS statüsünde olmaları ve baklagil türevli proteinlerin emülsifiye edici özelliklere sahip olmalarıdır (Sharif vd., 2018). Son yıllarda nohut proteinleri, fonksiyonel özellikleri, besinsel değerinin yüksek olması ve doğal olması nedeniyle mikroenkapsülasyon proseslerinde kaplama materyali olarak sıklıkla tercih edilmektedir. Bu proteinlerin alerjenik özelliklerinin az olması mikroenkapsülasyon uygulamasında kullanılmasının bir başka temel sebebinin oluşturmaktadır. Nohutta bulunan başlıca proteinler tuzlu ortamda çözünmeyen globülün tipi depolama proteinleri olan legumin ve visilindir (Wang vd., 2014; Martín vd., 2015). Wang vd. (2014), emülsiyon teknolojisi kullanarak nohut proteini-aljinat mikrokapsülleri geliştirmişlerdir. Araştırmacılar mikrokapsüllerin *Bifidobacterium adolescentis*'i yapay mide suyuna karşı koruduğunu ve nohut proteini-aljinat kapsüllerinin gıda uygulamaları için uygun bir probiyotik taşıyıcı görevi görebileceğini bildirmişlerdir.

Selüloz Asetat Fitalat (CAP)

Bu polimer yapıdaki bileşen, güvenilirliğinin yüksek seviyede olması sebebi ile bağırsaklarda ilaç salınımını kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır. Kullanılmasının temelindeki en büyük avantaj, pH'nın 5'den küçük olduğu kuvvetli asit ortamlarda çözünmemesine rağmen 6 ve 6'dan daha yüksek pH'larda çözünme potansiyeline sahip olmasıdır. Bu bağlamda, bakterilerin mikrokapsülasyonunda CAP kullanımı kolona çok sayıda canlı bakteriyel hücre taşınmasını sağlamaktadır (Sarao ve Arora, 2017; Kavıtake vd., 2018). Fávares-Trindade ve Grosso (2002), kaplama materyali olarak CAP kullanarak probiyotik *Lactobacillus acidophilus* (La-05) ve *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) suşlarını püskürtmeli kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişler ve serbest ve mikrokapsüle edilmiş probiyotik kültürlerin farklı pH ve safra tuzu konsantrasyonlarına dayanımlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar mikrokapsülasyon işleminin düşük pH'da kültürlerin korunmasında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Her iki bakteri içinde serbest hücrelerin asidik koşullarda 1 saat sonra elemine olduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca, hem serbest hem de mikrokapsüle edilmiş *L. acidophilus* ve

B. lactis hücrelerinin 12 saat sonunda safra solüsyonuna dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Mikroenkapsülasyon Yöntemleri

Gıda endüstrisi ürünlerin lezzet, renk ve doku gibi özelliklerini geliştirmenin yanı sıra raf ömrü gibi kalite kriterlerini de iyileştirmek için birçok fonksiyonel bileşen kullanılmaktadır. Özellikle son yıllarda tüketicilerin artan sağlıklı ürün talepleri probiyotik kültür ve doğal antimikrobiyal maddeleri daha da ilgi çekici hale getirmiştir. Bu bileşenlerin çoğunun düşük stabiliteye sahip olması çevresel faktörler tarafından kolaylıkla etkilenmelerine neden olmakta bu da sağlıklı gıda üretiminde kullanılmaları açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Bu sebeple gıda endüstrisi için yüksek stabiliteye sahip bileşenlerin hazırlanması önem kazanmıştır. Son yıllarda fonksiyonel gıdaların popülerliğinin artması ve yüksek verimli mikrokapsüllerin üretilmesi, mikroenkapsülasyon teknolojisinin kullanıldığı fonksiyonel bileşenlerin gıda sanayisinde kullanımını arttırmıştır (Peaparkdee vd., 2016). Ekstrüzyon tekniği, sprey kurutma, sprey dondurma veya sprey soğutma, ekstrüzyon kaplama, akışkan yatak kaplama, lipozomal tuzaklama, liyofilizasyon, koaservasyon, çift kapsülleme gibi yöntemler mikrokapsülasyon uygulamalarında kullanılmaktadır (Celli vd., 2015; Dordević vd., 2015; Mohan vd., 2015; Peaparkdee vd., 2016; Kavıtake vd., 2018; Quintero vd., 2018; Ramani ve Ramani, 2018). Bu derlemede probiyotik kültürlerin mikrokapsülasyonunda kullanılan farklı yöntemler ele alınmıştır.

Ekstrüzyon

Ekstrüzyon yöntemi, yüksek hücre canlılığı, düşük maliyet ve basit formülasyon gibi özellikleri sayesinde diğer mikrokapsülasyon yöntemlerine göre mikroorganizmaların enkapsülasyonunda daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Kavıtake vd., 2018). Ekstrüzyon yöntemi aktif materyali içeren hidrokolloid bir çözeltinin, şırınga iğnesi ile boncuklar halinde sertleştirme çözeltisine damlatılması sonucu katılaşması prensibine dayanmaktadır (Martín vd., 2015; Uran vd., 2017). Ekstrüzyon yöntemi genellikle gıda sanayinde düşük sıcaklıklarda uygulama gerektiren uçucu ve stabilitesi zayıf olan aroma maddelerinin mikrokapsülasyonu için

tercih edilmektedir (Altun ve Özcan, 2013). Bu yöntemde destek materyali olarak aljinat, peynir altı suyu proteinleri, pektin, süt ve insan kollejeni gibi bileşenler kullanılmaktadır. Yöntemin önemli avantajları: uygulamada organik çözücülere ihtiyaç duyulmaması, boncuk boyutunun ayarlanabilir olması ve oksijene karşı bariyer oluşturarak oksidasyon potansiyeli yüksek lezzet bileşenlerinin raf ömrünü uzatmasıdır (Martín vd., 2015). Ayrıca yöntemin uygulama basitliği, düşük maliyet ve uzun süreli hücre canlılığında stabilite sağlaması gibi önemli avantajları bulunmaktadır (Uran vd., 2017). Ekstrüzyon yönteminin dezavantajları ise mikrokapsül oluşum hızının düşük olması ve büyük çaplı damlacıklar (2 mm) elde edilmesi sonucu endüstriyel uygulamalarda yetersiz kalmasıdır (Đordevic' vd., 2015).

Emülsiyon

Emülsiyon yönteminde kesikli faz (hücre polimer süspansiyonu) büyük hacimdeki yağ (sürekli faz) içerisine eklenir ve yağ içerisinde su emülsiyonu elde etmek için karışım homojenize edilir. Yağ içerisinde su emülsiyonu oluştuğunda suda çözünür polimerler, yağ fazında çözünmeyen küçük jel yapıları oluşturmaktadır (Azagheswari vd., 2015; Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016; Giro-Paloma vd., 2016). Hazırlanan emülsiyonun iç fazındaki partiküllerin boyutunun küçüklüğü elde edilecek mikrokapsüllerin boyutunu değiştirmektedir. Oluşan damlacıklar filtrasyon yardımı ile sıvı çözeltilerden uzaklaştırılmaktadır. Elde edilen damlacık boyutu çalkalama hızına bağlı olarak 25 µm ile 2 mm arasında değişmektedir (Heidebach vd., 2012). Gıda uygulamalarında sürekli faz olarak daha çok bitkisel yağlar (ayçiçeği, kanola, mısır, soya vb.) tercih edilmektedir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Daha iyi bir emülsiyon elde etmek için yüzey gerilimini azaltarak daha küçük parçaların oluşmasına yardımcı olan emülgatörlerde karışıma eklenmektedir. Karregen, sodyum karbosimetil selüloz, CAP, aljinat ve kombinasyonları, kitosan, jelatin, nohut proteini bu yöntemde kullanılan destek materyalleri arasında bulunmaktadır (Martín vd., 2015).

Akışkan Yatak

Akışkan yatak kaplama yöntemi gözenekli katılara absorbe edilen sıvıları içeren katı çekirdek

malzemelerin kapsüllenmesi için kullanılmaktadır (Azagheswari vd., 2015). 1950'li yıllarda ilaç tabletlerin kaplanması için geliştirilen akışkan yatak kaplama yöntemi günümüzde gıda endüstrisinde katı maddelerin ve fonksiyonel materyallerin de enkapsülasyonu için kullanılan bir yöntem haline almıştır (Desai ve Park, 2005). Bu sistem hücre süspansiyonunun inert taşıyıcılar üzerine püskürtülerek kurutulması temeline dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Kaplanacak materyaller, kaplama odasına ısıtılan veya soğutulan hava yardımı ile taşınır. Partiküller odada oluşan düşük hava akımı ve geri dönüş istekleri nedeniyle çepelere doğru hareket eder. Uygun çözücüde çözülen kaplama materyali atomize edilerek odaya bir sis bulutu şeklinde verilir ve havada asılı kalan partiküllerin kaplanması sağlanır. Hava odasında bulunan mikro filtreler yardımı ile partiküller tekrar hava kaplama odasına döner ve daha iyi bir kaplama sağlanır. Tüm bu işlemler sonucunda odadan alınan ılık sıcaklığa sahip ürün tekrar kurularak ambalajlanır (Desai ve Park, 2005). Toplam sıcaklık kontrolü ve düşük maliyet bu sistemin avantajları arasında yer almaktadır. Ancak yetişmiş eleman ihtiyacı ve nispeten uzun süreli bir işlem olması yöntemin dezavantajları arasında sayılabilir (Martín vd., 2015).

Rennet ile Jelleşmiş Protein Enkapsülasyonu

Bu yöntem gıda kaynaklı bir enzim olan rennet ve sulu süt protein solüsyonu kullanılarak mikrokapsüller oluşturulması temeline dayanmaktadır. Rennet kazein misellerinin agregasyonunu sağlayan k-kazein misellerini parçalayabilen proteolitik bir enzim kompleksidir. Kovalent olmayan çapraz bağlar 18°C'nin üstündeki sıcaklıklarda nihai jel oluşturmak üzere topaklaşan misellerin zincirleri arasında aşamalı olarak meydana gelmektedir. Bu özelliği nedeni ile bu teknik sonucu meydana gelen mikrokapsüller sayesinde probiyotikler enkapsülasyon işlemi boyunca canlılıklarını kaybetmezler. Bu durum protein tamponlama kapasitesinin neden olduğu yüksek pH'ya sahip matriksin koruyucu etkisi ile açıklanmaktadır. Ayrıca oluşturulan kapsül boyutlarının kontrolü ile son ürünün duyuşal özelliklerinin iyileştirilebilmesi bu yöntemin avantajları arasındadır. Tüm bu nedenlerden

dolayı, bu yöntem gıdalarda probiyotiklerin daha etkili bir şekilde kullanılması için uygun bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Martín vd., 2015).

Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma probiyotik preparatların hazırlanması için kullanılan eski bir yöntem olsa da bu yöntemin enkapsülasyon uygulamalarında kullanımı nispeten yeni bir yöntemdir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Dondurarak kurutma prosesi üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar süblimasyona dayanan dondurma ve birincil ve ikincil kurutma işlemleridir. Temel olarak yöntemin çalışma prensibi kurutulacak olan materyalin önce dondurulması sonrasında yüksek vakum altında süblimasyon ile kurutulması esasına dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Dondurarak kurutma işlemi sırasında oluşan kristaller ve yüksek ozmotik basınç hücre canlılığını etkilediğinden bu işlem öncesinde ortama kriyoprotektan özellik gösteren süttozu, peynir altı suyu proteini, glikoz ve maltodekstrin gibi koruyucular eklenmektedir (Martín vd., 2015; Coghetto vd., 2016). Dondurarak kurutma yönteminin, aroma kayıplarını azaltması, elde edilen ürünlerin rekonstitüsyon özelliklerinin çok iyi olması, gıda içerisinde çözünen maddelerin hareketi sonucu oluşan kayıpları minimize etmesi gibi sağlamış olduğu avantajların yanı sıra maliyetinin yüksek olması ve işlem süresinin uzunluğu gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bu yöntem püskürtmeli kurutmaya göre daha ılımlı bir yöntem olsa da mikroenkapsülasyon uygulamalarında ekonomik nedenler ile kullanımı sınırlıdır (Koç vd., 2010).

Püskürtmeli Kurutma

Püskürtmeli kurutma yöntemi genellikle bir kurutma yöntemi olarak düşünülse de, aktif materyalin koruyucu polimer bir matris içerisinde hapsedilmesine olanak sağlaması nedeniyle, son zamanlarda mikroenkapsülasyon tekniği olarak da kullanılmaktadır (Öztürk ve Çakır, 2015). Gıda endüstrisinde bu yöntem, üründe su aktivitesinin azaltılarak mikrobiyal stabilitenin sağlanması, bozulma faktörlerini engelleyerek son kullanma tarihini arttırması ve depolama ve taşıma maliyetlerinin azaltılması amacıyla kullanılmaktadır (Altun ve Özcan, 2013).

Bu yöntem ile elde edilen mikrokapsüle edilmiş ürünlerin maliyetinin düşük olması ve sağlamış olduğu avantajlar nedeni ile püskürtmeli kurutma gıda sanayinde en yaygın kullanılan mikroenkapsülasyon yöntemlerinin başında gelmektedir. Püskürtmeli kurutma prosesi; çekirdek malzemenin sisteme ve ürüne uygun bir kaplama materyali içeren çözelti içerisinde oluşturduğu dispersiyon ve emülsiyon karışımının homojen hale getirilmesi ve bu karışımın atomize edilerek kurutma odasına gönderilmesi esasına dayanmaktadır (Martín vd., 2015). Püskürtmeli kurutma yönteminin sağlamış olduğu en büyük avantajlardan biri maliyetinin düşük olmasının yanında sürekli üretime uygun olmasıdır. Fakat yüksek sıcaklığa duyarlı probiyotik bakteri kültürlerinin kapsüllenmesinde kullanıldığında canlılık oranlarında düşüşe sebep olmaktadır (Schuck vd., 2016). Bu olumsuz etkinin giderilebilmesi için sistem giriş ve çıkış sıcaklıklarının ayarlanması ve kontrol edilmesi ile istenilen partikül boyutu dağılımına sahip enkapsüle edilmiş canlı kültür elde edilebilmektedir. Bu nedenle püskürtmeli kurutma yönteminde modifikasyonlar yapılmakta veya farklı yöntemler ile kombine edildiği sistemler geliştirilmektedir. Bu yöntemlerin başında iki aşamalı kurutma, püskürtmeli dondurarak kurutma, püskürtmeli dondurma, ultrasonik vakumlu püskürtmeli kurutma gibi yöntemler gelmektedir (Martín vd., 2015).

Hibridizasyon Sistemi

Hibridizasyon sistemi kısaca kuru kapsülleme yöntemi olarak da adlandırılmaktadır. Sistem altı bıçaklı yüksek hızda dönen bir rotor, sabit bir bobin ve toz devridaim devresinden oluşmaktadır. Toz karışım yüksek hızda dönen bıçaklar tarafından oluşturulan darbeye maruz bırakılarak, karışım içerisindeki yardımcı partiküllerin probiyotiklerin yüzeyinde bir film oluşturması sağlanmaktadır. Hibridizasyon sistemi ile yüksek miktarlarda mikrokapsül elde edilmektedir. Ayrıca sistem içerisinde bir soğutma ünitesi kullanılarak sıcaklık 30 °C'nin altında tutulur. Bu sayede ısı kaynaklı bakteriyel hasar en aza indirilebilmektedir. Bu yöntem ile yüksek verim elde edilirken aynı zamanda bakterilerin yüksek sıcaklıktan korunması da sağlanmaktadır (Martín vd., 2015).

Çarpışan Aerosol Teknolojisi

Son yıllarda mikroenkapsülasyon uygulama alanının artması ama buna karşın mevcut enkapsülasyon yöntemlerinin süreklilik konusundaki dezavantajları çarpışan aerosol teknolojisine neden olmuştur (Sohail vd., 2012). Çarpışan aerosol teknolojisine kullanıldığı sistemlerde aljinat solüsyonu içerisinde bulunan mikrobiyal süspansiyon ile kalsiyum klorid olmak üzere iki farklı aerosol kullanılmaktadır. Aljinat karışımı bir silindirin üst tarafından enjekte edilirken alt taraftan da kalsiyum klorid solüsyonu enjekte edilmektedir. Elde edilen mikrokapsüllerin ortalama çapı 40 µm'den küçüktür. Çarpışan aerosol teknolojisinde ısı yada çözücü kullanılmadığından, ısıya ve çözücülere duyarlı maddelerin enkapsülasyonunda kullanılabilir. Ayrıca çarpışan aerosol teknolojisi yüksek üretim kapasitesine sahiptir. Üretilen mikroboncuklar sprey kurutma ve dondurarak kurutma yöntemleri ile de kurutulabilmektedir (Martín vd., 2015).

Elektrodöndürme Yöntemi (Elektrospinning)

Elektrodöndürme yöntemi yüksek elektrik alan temeline dayanan, kolay uygulanabilir, kullanışlı ve çok yönlü bir teknolojidir (Chen vd., 2012). Bu yöntemde, elektrot gibi davranan bir kalıbın ucundan gelen çözelti veya eriyiğe yüksek elektrik alan uygulanır. Bu işlem, damlacık deformasyonuna ve sonuç olarak yüklü bir jet ucundan sayaç elektroduna doğru çözelti/eriyiğin fırlatılması ile sürekli lif oluşumuna yol açar (Martín vd., 2015). Farklı morfolojik yapılar da ürün elde edilmesine olanak tanıyan elektrodöndürme tekniği ile elde edilen bu yapıların morfolojileri uygulanan işlem parametrelerinin farklılığına göre değişmektedir (Chen vd., 2012). Elektrodöndürme yöntemi ile protein veya karbonhidrat bazlı matrisler kullanılarak mikrokapsüller üretilebilmektedir (Martín vd., 2015).

SONUÇ

Probiyotik hücrelerin olumsuz çevresel koşullarda canlılıklarını kolay kaybetmesi gıda üretiminde kullanılmaları açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Bu sebeple gıda endüstrisinde

mikroenkapsüle edilmiş probiyotik kültürlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Mikroenkapsülasyon yöntemleri ile kaplanan probiyotik hücrelerin çevre koşullarına karşı korunumu ve istenilen zamanda salınımının sağlanması ile konak canlıda maksimum biyoyarar elde edilmesi hedeflenmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların etkinliği ve hayatta kalabilmesi suşa ve kullanılan kaplama materyaline göre değişmektedir. Mikroenkapsülasyon yöntemi kullanımında öne çıkan en önemli konu, kullanılacak ürüne, ortama ve şartlara uygun mikroenkapsülasyon yönteminin belirlenmesi ve kaplama materyalinin seçimidir. Mevcut yöntemler ve kaplama materyallerinin taşıdıkları dezavantajlar nedeni ile mikroenkapsüle ürünler henüz raflarda istenilen düzeyde yerini alamamaktadır. Bu bağlamda yeni mikroenkapsülasyon yöntemlerinin geliştirilmesi, bu yöntemlere uygun kaplama materyali ve karışımlarının araştırılması mikroenkapsülasyon uygulamalarının verimini arttıracaktır. Bununla birlikte endüstriyel uygulamalar için sürekli üretime olanak tanıyan ekipmanların geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abd El-Salam, M.H., El-Shibiny, S., (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy Sci Technol*, 95: 393–412.
- Afzaal, M., Saeed, F., Arshad, M.U., Nadeem, M.T., Saeed, M., Tufail, T., (2018). The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions. *Probiotics Antimicro Prot*, 1-7.
- Albadran, H.A., Chatzifragkou, A., Khutoryanskiy, V.V., Charalampopoulos D., (2018). Development of surfactant-coated alginate capsules containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 82: 490-499
- Altun, B., Özcan, T., (2013). Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu II: kaplama materyalleri ve süt ürünlerinde uygulamalar. *Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg*, 27(2): 105–114.

- Areppally, D., Goswami, T.K., (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT- Food Sci Technol*, 99: 583–593.
- 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.
- Atak, Z., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F., (2017). Gıda endüstrisinde aroma mikroenkapsülasyonu. *Akad Gıda*, 15: 416–425.
- Azagheswari, Kuriokase, B., Padma, S., Padma Priya, S., (2015). A review on microcapsules. *Glob J Pharmacol*. 9: 28–39.
- Başıyigit, B., Hayoğlu, I., Atasoy, F., (2017). Kekik esansiyel yağı ve mikroenkapsülasyon uygulamaları. *Batman Üniv Yaşam Bilim Derg* 7: 63–70.
- Çakır, İ., (2006). Mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik gıda üretiminde kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, Türkiye, 693-696.
- Celli, G.B., Ghanem, A., Brooks, M.S.L., (2015). Bioactive encapsulated powders for functional foods—a review of methods and current limitations. *Food Bioprocess Technol*. 8: 1825–1837.
- Chakraborty, S., (2017). Carrageenan for encapsulation and immobilization of flavor, fragrance, probiotics, and enzymes: A review. *J Carbohydr Chem*, 36: 1–19.
- Chen, C., Liu, S., Liu, W., Zhao, Y., Lu, Y., (2012). Synthesis of novel solidliquid phase change materials and electrospinning of ultrafine phase change fibers. *Sol Energy Mater Sol Cells*, 96: 202–209.
- Chen, J., Wang, Q., Liu, C.M., Gong, J., (2017). Issues deserve attention in encapsulating probiotics: Critical review of existing literature. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57: 1228–1238.
- Coelho-Rocha, N.D, de Castro, C.P., de Jesus, L.C.L., Leclercq, S.Y., de Cicco Sandes, S.H., Nunes, A.C., Azevedo, V., Drumond, M.M., Mancha-Agresti, P., (2018). Microencapsulation of lactic acid bacteria improves the gastrointestinal delivery and in situ expression of recombinant fluorescent protein. *Frontiers Microbiol*, 9: 2398.
- Coghetto, C.C., Brinques, G.B., Ayub, M.A.Z., (2016). Probiotics production and alternative encapsulation methodologies to improve their viabilities under adverse environmental conditions. *Int J Food Sci Nutr*, 67: 929–943.
- De Prisco, A., Maresca, D., Ongeng, D., Mauriello, G., (2015). Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. *LWT-Food Sci Technol*, 61: 452-462.
- De Prisco, A., Mauriello, G., (2016). Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends Food Sci Technol*, 48: 27–39.
- De Prisco, A., van Valenberg, H.J.F., Fogliano, V., Mauriello, G., (2017). Microencapsulated starter culture during yoghurt manufacturing, effect on technological features. *Food Bioprocess Technol*, 10: 1767-1777.
- Desai, K.G.H., ve Park, H.J., (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technol*, 23(7): 1361-1394
- 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: 1685-1716.
- Dordević, V., Balanć, B., Belscak-Cvitanović, A., Levic, S., Trifković, K., Kalusević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., Nedović, V., (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Eng Rev*, 7: 452–490.
- Doherty, S.B., Auty, M.A., Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Brodtkorb, A., (2012). Survival of entrapped *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit. *Int Dairy J*, 22: 31-43
- 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.
- Fávaro-Trindade, C.S., Grosso, C.R., (2002). Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. *J Microencapsul*, 19(4): 485-494.
- Gbassi, G.K., Vandamme, T., Ennahar, S., Marchioni, E., (2010). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp. in an alginate matrix coated with whey proteins. *Int J Food Microbiol*, 129: 103-105.
- Giro-Paloma, J., Martínez, M., Cabeza, L.F., Fernández, A.I., (2016). Types, methods, techniques, and applications for microencapsulated phase change materials (MPCM): A review. *Renew Sustain Energy Rev*, 53: 1059-1075.
- Graff, S., Hussain, S., Chaumeil, J. C., & Charrueau, C. (2007). Increased intestinal delivery of viable *Saccharomyces boulardii* by encapsulation in microspheres. *Pharm Res*, 25: 1290-1296.
- Gökbulut, İ., Öztürk, F.S., 2018. Gıda mikroenkapsülasyonunda aljinat kullanımı. *Batman Üniv Yaşam Bilim Derg*, 8(1/2), 16-28.
- Habibi, H., Khosravi-Darani, K., (2017). Effective variables on production and structure of xanthan gum and its food applications: A review. *Biocatal Agric Biotechnol*, 10: 130-140.
- Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U., (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 52: 291-311.
- Huo, X., Li, W., Wang, Y., Han, N., Wang, J., Wang, N., Zhang, X., (2018). Chitosan composite microencapsulated comb-like polymeric phase change material via coacervation microencapsulation. *Carbohydr Polym*, 200: 602-610.
- Jiménez-Pranteda, M.L., Poncelet D., Ramos-Cormenzana, A., Monteoliva-Sanchez, M., (2009). Viability of probiotics exopolymers beads exposed to specific *in vitro* conditions. XVII'th International Conference on Bioencapsulation, 24-26 September, Groningen, Netherlands, Poster P85.
- Kailasapathy K., (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Lebensm Wiss Technol*, 39: 1221-1227.
- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P.B., Shetty, P.H., (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. *Food Biosci*, 21: 34-44.
- Koç, M., Sakin, M., Ertekin, F.K., (2010). Mikroenkapsülasyon ve gıda teknolojisinde kullanımı. *Pamukkale Üniv Müh Bilim Derg*, 16: 77-86.
- Kumar, B.V., Venkata, S., Vijayendra, N., (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. *J Food Sci Technol*, 52(10): 6112-6124.
- Kumar, R., Chauhan, S.K., Shinde, G., Subramanian, V., Nadanasabapathi, S., (2018). Whey proteins: A potential ingredient for food industry - a review. *Asian J Dairy Food Res*, 37: 283-290.
- Li, H., Thuy Ho, V.T., Turner, M.S., Dhital, S., (2016). Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in porous maize starch. *LWT - Food Sci Technol*, 74: 542-549.
- Marcial-Coba, M.S., Knöchel, S., Nielsen, D.S., (2019). Low-moisture food matrices as probiotic carriers. *FEMS Microbiol Lett*, 366: 1-11.
- 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.
- Mohan, A., Rajendran, S.R.C.K., He, Q.S., Bazinet, L., Udenigwe, C.C., (2015). Encapsulation of food protein hydrolysates and peptides: A review. *RSC Adv*, 5: 79270-79278.
- O'Riordan, K., Andrews, D., Buckle, K., Conway, P., (2001). Evaluation of microencapsulation of a *Bifidobacterium* strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. *J Appl Microbiol*, 91: 1059-1066.

- Öztürk, S., Çakır, İ., (2015). Mikroorganizma kültürlerinin korunmasında kullanılan kurutma yöntemleri. *Akad Gıda*, 13 (1), 94–100.
- Pandey, K.R., Vakil, B.V., (2017). Encapsulation of probiotic *Bacillus coagulans* for enhanced shelf life. *J Appl Biol Biotechnol*, 5: 57–65.
- Paulo, F., Santos, L., (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Mater Sci Eng C*, 77: 1327–1340.
- Peanparkdee, M., Iwamoto, S., Yamauchi, R., (2016). Microencapsulation: A review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Rev Agric Sci*, 4: 56-65.
- Picot, A., Lacroix, C., (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int Dairy J*, 14: 505-515.
- Pradeep Prasanna, P.H., Charalampopoulos, D., (2018). Encapsulation in an alginate–goats’ milk–inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions and goats’ milk yoghurt. *Int J Dairy Technol*, 72(1): 132-141.
- Quintero, J., Rojas, J., Ciro, G., (2018). Vegetable proteins as potential encapsulation agents: A review. *Food Research*, 2(3): 208–220.
- Ramani, R., Ramani, V., (2018). Probiotic microencapsulation techniques and coating materials. *Int J Probiotics Prebiotics*, 13: 161–168.
- Ramos, P.E., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Vicente, A.A., (2018). Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58:1864–1877.
- Rocha, M.A.M., Coimbra, M.A., Nunes, C., (2017). Applications of chitosan and their derivatives in beverages: A critical review. *Curr Opin Food Sci*, 15: 61–69.
- Roshanzamir, M., Jafari, M., Molae, E., Ghasemkhani, I., (2017). The survival of probiotic bacteria and sensory properties of yogurt affected by microencapsulation with resistant starch 3. *J Food Safe & Hyg*, 3(3/4): 59-64.
- Sagis, L.M. (2015). *Microencapsulation and microspheres for food applications*. Academic Press, p.235-248, ISBN 9780128003503
- Sarao, L.K., Arora, M., (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57: 344–371.
- Schuck, P., Jeantet, R., Bhandari, B., Chen, X.D., Perrone, Í.T., de Carvalho, A.F., Fenelon, M., Kelly, P., (2016). Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. *Dry Technol*, 34: 1773–1790.
- Shaddel, R., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., Hamishehkar, H., Fathi-Achachlouei, B., Huang, Q., (2018). Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. *Int J Biol Macromol* 107: 1800–1810.
- Sharif, H.R., Williams, P.A., Sharif, M.K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K.G., Safdar, W., Zhong, F., (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. *Food Hydrocoll*, 76: 2–16.
- Shori, A.B., (2017). Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI J Biosci*, 24: 1–5.
- Singh, P., Magalhães, S., Alves, L., Antunes, F., Miguel, M., Lindman, B., Medronho, B., (2019). Cellulose-based edible films for probiotic entrapment. *Food Hydrocoll*, 88: 68–74.
- Socol, C.R., Prado, M.M.R., Garcia, L.M.B., Rodrigues, C., Medeiros, A.B.P., Socol, V.T., (2014). Current developments in probiotics. *J Microb Biochem Technol*, 7: 11–20.
- Sohail, A., Turner, M.S., Prabawati, E.K., Coombes, A.G.A., Bhandari, B., (2012). Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. *Int J Food Microbiol*, 157: 162–166.
- Suganya, V., Anuradha, V., (2017). Microencapsulation and nanoencapsulation: A review. *Int J Pharm Clin Res*, 9: 233–239.

- Turasan, H., Sahin, S., Sumnu, G., (2015). Encapsulation of rosemary essential oil. *LWT - Food Sci Technol*, 64: 112–119.
- Uran, H., Aloğlu, H., Çetin, B., (2017). Probiyotik bakterilerin mikroenkapsülasyonu. *Mediterr Agric Sci*, 30 (2), 107–112.
- Varhan, E., Koç, M., (2018). Gıda bileşenlerinin sprey soğutma yöntemi ile enkapsülasyonu. *Food Health*, 4(3): 202–212.
- Wang, J., Korber, D.R., Low, N.H., Nickerson, M.T., (2014). Entrapment, survival and release of *Bifidobacterium adolescentis* within chickpea protein-based microcapsules. *Food Res Int*, 55: 20–27.
- Wang, M., Yang, J., Li, M., Wang, Y., Wu, H., Xiong, L., Sun, Q., (2019). Enhanced viability of layer-by-layer encapsulated *Lactobacillus pentosus* using chitosan and sodium phytate. *Food Chem*, 285: 260–265.
- Wani, T.A., Shah, A.G., Wani, S.M., Wani, I.A., Masoodi, F.A., Nissar, N., Shagoo, M.A., (2016). Suitability of different food grade materials for the encapsulation of some functional foods well reported for their advantages and susceptibility. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(15), 2431-2454.
- Zia, K.M., Tabasum, S., Khan, M.F., Akram, N., Akhter, N., Noreen, A., Zuber, M., (2018). Recent trends on gellan gum blends with natural and synthetic polymers: A review. *Int J Biol Macromol*, 109: 1068–1087.

KİTİN İLE GÜÇLENDİRİLEN ELEKTROEĞRİLMİŞ NANOLİFLERİN AKTİF AMBALAJ MALZEMESİ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ

Mine Karabulut, Elif Atay, Aylin Altan*

Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mersin, Türkiye

Geliş / Received: 29.05.2019; Kabul / Accepted: 05.11.2019; Online baskı / Published online: 27.11.2019

Karabulut, M., Atay, E., Altan, A. (2019). Kitin ile güçlendirilen elektroğrılmış nanoliflerin aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi. *GIDA* (2019) 44 (6) 1237-1252 doi: 10.15237/gida.GD19086.

Karabulut, M., Atay, E., Altan, A. (2019). Kitin ile güçlendirilen elektroğrılmış nanoliflerin aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi. GIDA (2019) 44 (6) 1237-1252 doi: 10.15237/gida.GD19086.

ÖZ

Elektroğirme, yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip farklı boyutlarda liflerin üretimi için yenilikçi bir yöntemdir. Bu çalışmanın amacı, nane uçucu yağı yüklü ve kitin lifleri/kitin mikro kristalleri ile güçlendirilmiş zein bazlı nanobiyokompozit malzemelerin elektroğirme yöntemi ile üretilmesidir. Üretilen nanobiyokompozitlerin yüzey morfolojisi, mekanik özellikleri ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Polimer çözeltisine kitin liflerinin eklenmesi ile ortalama lif çapı artmıştır. Kitin mikro kristalleri içeren malzemelerin mekanik özelliklerinin, kitin lifi içeren malzemelere göre daha zayıf mekanik özelliklere sahip olduğu bulunmuştur. Kitin lifleri ve nane uçucu yağı içeren malzemeler test mikroorganizmaları üzerinde berrak zon oluşturmamıştır. Fakat kitin mikro kristalleri ile birlikte nane uçucu yağı içeren malzemeler, *Staphylococcus aureus* üzerinde *Escherichia coli*'den daha etkili olmuştur. Üretilen nanobiyokompozit malzemelerin potansiyel aktif ambalajlama sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Elektroğirme, nanobiyokompozit, nane uçucu yağı, kitin lifleri, kitin mikro kristalleri.

INVESTIGATION OF ELECTROSPUN NANOFIBERS STRENGTHENED WITH CHITIN AS ACTIVE PACKAGING MATERIAL

ABSTRACT

Electrospinning is an innovative method for the production of fibers with different sizes having a high surface area/volume ratio. The aim of this study was to produce zein based nanobiocomposite active packaging materials loaded with mint essential oil and strengthened by chitin fibers/chitin microcrystals using electrospinning. Surface morphologies, mechanical properties and antimicrobial activities of the produced nanobiocomposites were determined. The average fiber diameter increased with the addition of chitin fibers into polymer solution. It was found that the mechanical properties of materials containing chitin microcrystals were weaker than the materials containing chitin fibers. The composite materials containing chitin fibers and mint essential oil did not form a clear zone on the test microorganisms. However, materials containing chitin microcrystals with mint essential oil were more effective on *Staphylococcus aureus* than *Escherichia coli*. It is considered that nanobiocomposites produced can be used in the development of potential active packaging systems.

Keywords: Electrospinning, nanobiocomposite, mint essential oil, chitin fibers, chitin microcrystals.

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author:

✉ aaltan@mersin.edu.tr,

☎ (+90) 324 361 0001 /17195

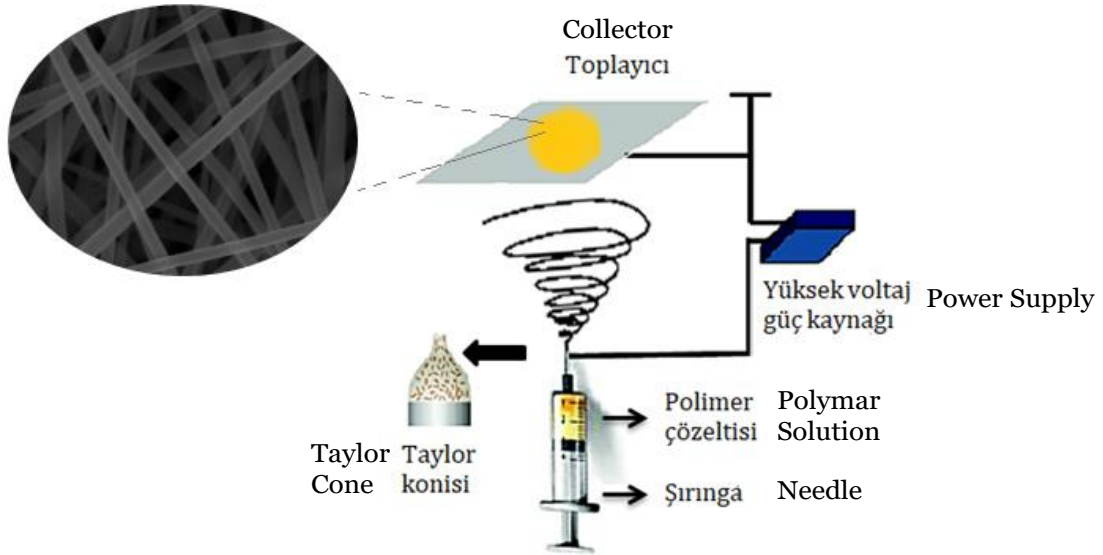
☎ (+90) 324 361 0032

GİRİŞ

Son yıllarda malzeme bilimi ve teknolojisinin gelişmesi, sürekli değişen tüketici taleplerine yanıt olarak gıda ambalajlama sistemlerini de etkilemiştir. Gıda maddelerinin üretiminden tüketimine kadar ürün koşullarının izlenmesi, gıda ambalajlama sistemlerinde nanoteknolojinin kullanımının gelişmesini sağlamıştır (Pereira de Abreu vd., 2012). Nanoteknoloji, malzemenin yapısını moleküler seviyede yeniden tasarlama ve birçok fonksiyonu bir arada bulunduran ambalaj malzemelerini üretme fırsatı sunmaktadır. Gıda ambalajlanmasında nanoteknoloji, nanokompozit ambalaj malzemelerinin üretilmesi ile akıllı ve aktif ambalaj malzemelerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Nanokompozit ambalaj malzemeleri, biyolojik olarak parçalanabilir olduklarından geleneksel petro-kimyasal türevli ambalajlara karşı umut verici bir alternatiftir. Akıllı paketleme sistemleri, nakliye ve depolama esnasında ambalajlı gıdanın durumunu izlemek ve hakkında bilgi sağlamaya yönelik karakterize edilmişlerdir. Aktif paketleme sistemleri ise gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılan, aynı zamanda tüketiciye taze ve güvenli şekilde yüksek kaliteli ürünler sunmayı hedefleyen, paketin geleneksel işlevinin ötesine geçtiği bir uygulamadır (Pereira de Abreu vd., 2012; Realini ve Marcos,

2014). Aktif paketleme uygulamaları, oksijen yakalayıcılar, nem düzenleyiciler, karbondioksit düzenleyiciler, etilen yakalayıcılar ve antimikrobiyal paketleme sistemlerinden oluşmaktadır (Vermeiren vd., 1999). Son zamanlarda, aktif ambalajlama için nanoliflerin kullanımına olan ilgi artmaktadır.

Gıda endüstrisi de dâhil olmak üzere birçok alanda kullanılan nanoliflerin üretimi için geliştirilen farklı yöntemler bulunmaktadır. Fakat bu yöntemler genellikle mekanik kuvvetleri temel alan, kurulumu zor ve pahalı sistemlerden oluşmaktadır. Elektroğirme yönteminde ise diğer lif üretim yöntemlerinden farklı olarak elektrik alan kuvvetlerinin etkisiyle polimerlerden lif oluşumu sağlanmaktadır. Elektroğirme, bir polimer çözeltisini yüksek elektrik alanına maruz bırakarak ultra ince liflerin oluşumunda kullanılan fiziksel bir işlemdir (Torres-Giner, 2011). Birçok alanda kullanım potansiyeli olan elektroğirme, nanometre çapında ve geniş bir yüzey alanına sahip lif üretmek için en etkili, avantajlı, uygulaması kolay, ucuz ve hızlı bir yöntemdir. Bu sistem genel olarak; bir yüksek gerilim güç kaynağı, ayarlanabilir bir şırınga pompası, şırınga, iğne ve bir toplayıcı plakadan meydana gelir. Elektroğirme sistemi Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Elektroğirme düzeneği
Figure 1. Electrospinning system

Elektroçirime tekniği, gıda ambalajlarında kullanılan aktif ara katman üretimi için potansiyel oluşturan bir yöntemdir. Geleneksel döküm yöntemine kıyasla nano ve mikro lifler ultra-ince çaplarına bağlı olarak çok büyük bir yüzey/hacim oranına sahiptirler (Schmatz vd., 2019; Torres-Giner, 2011). Nanolifler, elektroçirime prosesi ile bir fazın diğerleri içerisinde dağılmış halde bulunduğu üç boyutlu yapılar olan nanokompozitlere dönüştürülebilirler. Nanobiyokompozitler, biyolojik olarak parçalanabilen ve yenilenebilir doğal kaynaklardan elde edilen nanokompozitlerdir. Doğal biyopolimerlerden biri olan zein; mısırdan elde edilen α -Y-, β - ve δ - zeinin karışımı olan bir mısır proteindir. Zein, film oluşturma özelliği, yüksek termal direnci ve iyi oksijen ve aroma bariyer özellikleri nedeniyle potansiyel ambalaj malzemelerinin geliştirilmesinde kullanılabilir. Ancak biyopolimerlerden elde edilen filmlerin, zayıf mekanik ve bariyer özelliklerinden dolayı ambalaj materyali olarak kullanımlarının sınırlı olduğu bildirilmektedir (Junkasem vd., 2006).

Nanokompozitlerin geliştirilmesinde, uçucu yağlar ve bazı dolgu malzemelerinin kullanımı oldukça yaygındır (Antunes vd., 2017; Wen vd., 2016). Fakat kullanılan dolgu malzemelerinin çoğu inorganiktir. İnorganik dolgu malzemelerinin yerine yenilenebilir kaynaklardan elde edilen kıl kristalleri ve mikro kristaller de kullanılabilir. Bu malzemeler, düşük maliyetli, kolay bulunabilir, toksik olmayan ve yenilenebilir olmalarının yanı sıra iyi mekanik ve bariyer özelliklere sahip olmaları sebebiyle inorganik malzemelere iyi bir alternatif olabilirler. Güçlendirici dolgu malzemesi olarak bilinen kıl kristallerinin üretiminde kullanılan kitin, selülozdan sonra doğada en bol bulunan biyopolimerdir. Bu yapısal malzemenin büyük bir kısmı hayvanlarda, eklem bacaklıların dış iskeletlerinde (yengeçler, karidesler ve böcekler), bazı canlıların omurgalarında bulunmaktadır (Mincea vd., 2012). Doğal kaynaklardan elde edilen kitin ve türevleri yapı birimleri üzerinde reaktif bir amino grubu bulundurduğundan kimyasal reaksiyonlar ile modifiye edilmesi selüloz kaynaklı malzemelerden daha kolaydır (Zeng vd., 2012). Bol miktarda kitin içeren gıda sanayi

atıkları, mikro kristallerinin üretimi için önemli bir kaynaktır. Güçlendirici dolgu malzemesi üretiminde öncelikle demineralizasyon, deproteinizasyon ve renk giderim işlemleri ile kitin saflaştırıldıktan sonra asit hidrolizi, santrifüj ve liyofilizasyon aşamaları gerçekleştirilerek mikro kristaller elde edilebilir (Paillet vd., 2001). Jin ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, selüloz nano kristalleri (NCW) ile güçlendirilmiş lignin bazlı kompozit membranların üretiminde elektroçirime yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen nanolifli yüzeylerin mekanik özellikleri incelenmiş ve NCW'lerin lignine eklenmesinin, saf lignine göre gerilme direncini arttırdığı belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada ise zayıf mekanik özelliklere sahip olan poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) biyopolimerinin güçlendirilmesi amacıyla alüminyum oksit (Al_2O_3) kıl kristalleri kullanılmış ve elektroçirilmiş membranlar üretilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Al_2O_3 kristalleri içeren membranların saf PCL'ye göre daha iyi mekanik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Dong vd., 2012).

Nanobiyokompozitlerin fonksiyonelleştirilerek aktif ambalajların elde edilmesinde uçucu yağlar çok sık kullanılmaktadır. Uçucu yağlar damıtma veya preslemeyle, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk ve kök kısımlarından elde edilen oda sıcaklığında sıvı, genellikle renksiz veya açık sarı renkli kompleks bileşiklerdir. Bu bileşiklerin antimikrobiyal özellikleriyle gıdalarda bozulma ve zehirlenmelere neden olan *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella spp.*, *Escherichia coli* gibi bakteriler, maya ve küfler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Nostro vd., 2000; Sartoratto vd., 2004). Geçtiğimiz yıllarda Tang ve diğerleri (2019) tarafından yapılan bir çalışmada nane (PO) ve papatya uçucu yağı (CO) olmak üzere iki çeşit uçucu yağ içeren jelatin nanolifleri elektroçirime yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Nanoliflerin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi incelendiğinde, her iki yağın kombinasyonu ile elde edilen nanolifli yüzeylerin optimum aktivite sağladığı ve geliştirilen jelatin/PO/CO nanoliflerinin, yenilenebilir ambalajlama için yenilikçi bir çözüm olabileceği belirtilmiştir. Antunes ve diğerleri (2017) yaptıkları bir çalışmada antimikrobiyal ajan

olarak okaliptüs uçucu yağı (EEO) ve siklodekstrin (CD) kullanmış ve zein bazı elektroğirilmiş lifler üretmişlerdir. Üretilen antimikrobiyal kompozit membranların, gıda koruyucusu olarak kullanımının umut verici olduğu belirtilmiştir. Antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra uçucu yağlar sahip oldukları fonksiyonel gruplar sebebiyle ambalaj materyalinin mekanik ve termal özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Ayrıca içerdikleri fonksiyonel gruplar sayesinde uçucu yağların, biyopolimer bazı membranlara plastikleştirici etki kazandırdığı ve bu sebeple daha esnek yapılı materyallerin geliştirilebileceği belirlenmiştir (Wen vd., 2016).

Bu çalışma kapsamında elektroğirme yöntemi kullanılarak nane uçucu yağı yüklü nanolifler elde edilmiştir. Nane uçucu yağı, *Menthaspecies* cinsi bitkilerden elde edilen ve gıda sanayi, tıp, eczacılık ve kozmetikte kullanılan önemli bir bileşendir. Ayrıca nane uçucu yağının benzersiz antimikrobiyal, antifungal, antioksidan anti-inflamatuar özelliklere de sahip olduğu bilinmektedir (Barrosa vd., 2015). Tüm bu etkilerinden dolayı uçucu yağlar gıda paketlenme sistemlerinde biyopolimerlerin yapısına dâhil edilerek aktif ambalaj materyali üretiminde kullanılabilirler.

Bu çalışmanın amacı, elektroğirme yöntemi kullanılarak nane uçucu yağı yüklü ve güçlendirici dolgu malzemesi olarak kitin lifleri ve kitin mikro kristallerine sahip nanoliflerin aktif ambalaj sistemlerinde kullanım potansiyelinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda saf zein, zein-nane uçucu yağı, zein-kitin lifleri/kitin mikro kristalleri ve zein-nane uçucu yağı-kitin lifleri/kitin mikro kristalleri içeren elektroğirilmiş materyaller üretilmiştir. Üretilen materyallerin yüzey morfolojileri, kimyasal yapıları, mekanik ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Elektroğirilmiş membran yapılarının üretiminde kullanılan zein (Z3625) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); glasiyal asetik asit ise Carlo Erba (Rodano, Italy) firmasından satın alınmıştır. Aktif materyal olarak kullanılan nane uçucu yağı (NUY),

Çakıroğlu firmasından (Çakıroğlu Uçucu Yağ San. Tic. Ltd. Şti., Mersin) temin edilmiştir. Kitin lifleri (KL) ve kitin mikro kristalleri (KMK) yerel bir pazardan temin edilen mavi yengeç atıklarının demineralizasyon, deproteinizasyon, asit hidrolizi, santrifüj ve liyofilizasyonu ile elde edilmiştir. Üretilen malzemelerin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) test mikroorganizma kültürleri, Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Nane Uçucu Yağının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

Nane uçucu yağının *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Staphylococcus aureus'a* (ATCC 25923) karşı antimikrobiyal aktivitesi agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Kültürleri aktifleştirmek için Triptik Soy Broth (TSB) besiyeri, agar disk difüzyon yönteminde ise Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanılmıştır. Stok kültürden öze ile alınan koloniler TSB besiyerine aşılınıp 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin sonunda kültür yoğunluğu spektrofotometre (Cary60UV-Vis, Agilent Technologies, Malezya) ile ölçülerek, McFarland 0.5 standardına göre 1×10^{-8} olacak şekilde ayarlanmıştır. Yoğunluğu ayarlanan kültürden 0.1 mL alınıp MHA besiyerine ekim yapılmıştır. Uçucu yağın antimikrobiyal aktivite testi için kullanılacak diskler steril Whatman kağıtlarından 6 mm çapa sahip olacak şekilde elde edilmiştir. Nane uçucu yağı 20 µL olacak şekilde steril disklere emdirilip petrilere yerleştirilmiştir. Petrilere, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılıp inkübasyon sonunda inhibisyon zonları bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür (Tiryakioğlu, 2004). Antimikrobiyal aktivite testinde her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır.

Kitin Lifleri ve Kitin Mikro Kristallerinin Hazırlanması

Saf kitinden kitin lifleri (KL) ve kitin mikro kristalleri (KMK), iki farklı yöntem kullanılarak elde edilmiştir. Kitin pulcuklarının 3 N HCl çözeltisi içerisindeki oranı 1 g/30 mL olarak belirlenmiştir. Hazırlanan çözelti kaynamakta iken

90 dakika boyunca güçlü bir şekilde karıştırılmıştır. Asit hidrolizi tamamlandıktan sonra süspansiyon santrifüj (1390 x g, 15 dk) edilmiştir. Santrifüj işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Ardından süspansiyon tüm kalıntıların giderilmesi için pH=4 olana kadar saf su ile diyaliz edilip liyofilizatörde (Cryodos 50, TELSTAR, Spain) kurutulmuş kitin lifleri elde edilmiştir (Zhang vd., 2004). Kitin mikro kristalleri ise kitin pulcuklarının 3 N HCl çözeltisi içerisinde 104°C'de 6 saat boyunca güçlü bir şekilde karıştırılarak hidroliz edilmesiyle hazırlanmıştır. Kitinin HCl çözeltisi içerisindeki oranı kitin lifleri üretimde olduğu gibi 1 g/30 mL olarak belirlenmiştir. Asit hidrolizinden sonra elde edilen süspansiyon hemen saf su ile seyreltilip santrifüj (10397 x g, 15 dk) edilerek kitinin katı kısmının ayrılması sağlanmıştır. Santrifüj işlemi üç kez

tekrarlanmıştır. Daha sonra süspansiyon içerisindeki hidroklorik asit kalıntısının giderilmesi için süspansiyon oda sıcaklığında saf su içerisinde pH=6 olana kadar diyaliz edilmiştir. Süspansiyon 5 dakika ultrasonik cihazı (Kudos, SK1200H, China) ile homojen hale getirildikten sonra dondurarak kurutma yöntemiyle liyofilizatörde kurutulmuştur (Paillet vd., 2001).

Deney Tasarımı

Elektroçizme prosesinde kullanılan zein çözeltisi, NUY, KL ve KMK konsantrasyonları sırasıyla %36 (a/h), %13.4 (a/a) ve %5 (a/a) olarak belirlenmiştir. Saf zein, zein-NUY, zein-KL/zein-KMK ve zein-KL-NUY/zein-KMK-NUY içeren çözeltiler elektroçizme cihazında proses edilmiştir. Deney tasarımı detaylı olarak Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Deney tasarımı
Table 1. Experimental design

Deney Run	Zein çözeltisi Zein solution	NUY MEO	KL CF	KMK CM
1	+			
2	+	+		
3	+		+	
4	+	+	+	
5	+			+
6	+	+		+

NUY:Nane uçucu yağı; KL:Kitin lifleri; KMK:Kitin mikro kristalleri; MEO:Mint essential oil; CF:Chitin fibers; CM:Chitin microcrystals.

Çözeltilerin Hazırlanması

Öncelikle saf zein çözeltisi (%36, a/h) asetik asit içerisinde hazırlanmıştır. Elektroçizme prosesinde kullanılan zein çözeltisine, zein ağırlığı üzerinden %13.4 (a/a) oranında NUY eklenmiştir. Deney tasarımına göre (Çizelge 1) nane uçucu yağı içeren zein çözeltisine, zein ağırlığı üzerinden %5 (a/a) oranında KL ya da KMK ilave edilmiştir. Saf zein, zein-NUY, zein-KL, zein-KL-NUY; paralelinde saf zein, zein-NUY, zein-KMK ve zein-KMK-NUY içeren çözeltiler hazırlanmıştır.

Yöntem

Elektroçizme Yöntemi

Elektroçizme işlemi, Çizelge 1'de verilen deney tasarımına göre hazırlanan çözeltiler kullanılarak

dikey çalışma prensibine göre tasarlanmış olan elektroçizme cihazı (NE 100, Inovenso, Türkiye) ile gerçekleştirilmiştir. Elektroçizme cihazı şırınga pompası (NE-300, New EraPump Systems Inc., USA), toplayıcı ve güç kaynağından oluşmaktadır. Uygulanan voltaj 25 kV, akış hızı 1 mL/sa ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe ise 13.5 cm olarak sabit tutulmuştur. Üretilen elektroçizilmiş membran yapılar alüminyum folyo üzerine toplanmıştır. Elektroçizme işlemi oda koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM)

Elektroçizme tekniği ile üretilen nanolifli yüzeylerin morfolojisinin incelenmesi ve nanolif

çaplarının tespit edilmesi için taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) (Supra 55, Zeiss, Germany) kullanılmıştır. Alınan her bir görüntüde 100 farklı ölçüm yapılarak ortalama çap bulunmuştur.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Analizi (FTIR)

Nane uçucu yağının kitin mikro kristalleri ile güçlendirilmiş zein biyopolimerlerine eklenmesiyle elde edilen elektroğirilmiş malzemelerde zein-uçucu yağ ve kitin mikro kristalleri arasında meydana gelen etkileşimler FTIR spektrofotometresi (FTIR/FIR/NIR SpectrometerFrontier, ATR, Perkin Elmer, UK) kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin FTIR spektrumları $4000-400\text{ cm}^{-1}$ aralığında 4 cm^{-1} spektral çözünürlüğü ile elde edilmiştir.

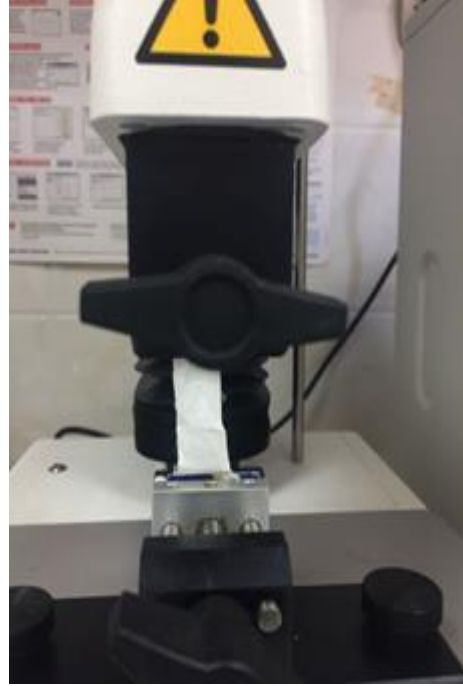
Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi

Kitin lifleri/kitin mikro kristalleri ile güçlendirilmiş zein/nane uçucu yağı nanobiyokompozitlerinin mekanik özellikleri TA.XT2i Tekstür Analiz cihazı (Stable Micro Systems, Surrey, England) ile belirlenmiştir. Elektroğirme yöntemi ile üretilen yapıların uzunluğu 5 cm, genişlikleri ise 1.5 cm olacak şekilde kalıp kullanılarak kesilmiştir. Örneklerin kalınlıkları rastgele üç noktada dijital mikrometre (Mitutoyo, Japan) ile ölçülmüştür. Kesilen örnekler mandal şeklindeki A/TG probunun arasına yerleştirilerek 0.5 mm/s test hızı uygulanarak kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı ölçülmüştür (Şekil 2). Gerilme direnci nanoliflerin yüzey alanları esas alınarak hesaplanıp MPa cinsinden ifade edilmiştir. Uzama miktarı (%) ise örneğin kopma anındaki yüzde uzama miktarı olarak tanımlanmıştır (Zivanovic vd., 2007). Her bir örnek için en az üç paralel ölçüm yapılmıştır.

Kitin Lifleri/Kitin Mikro Kristalleri ile Güçlendirilmiş Zein/Nane Uçucu Yağı Nanobiyokompozit Yapıların Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Disk şeklinde ve 6 mm çapında kesilmiş olan numuneler ekim yapılmış MHA besiyeri plağı üzerine yerleştirilerek 37°C 'de 24 saat

inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra inhibisyonun olduğu berrak zonun çapı ölçülmüştür (Kara vd., 2016). Her bir örnek için üç paralel ölçüm yapılmıştır.



Şekil 2. Mekanik özelliklerin belirlenmesinde kullanılan tekstür analiz probu

Figure 2. Texture analysis probe used for the determination of mechanical properties

SONUÇ VE TARTIŞMA

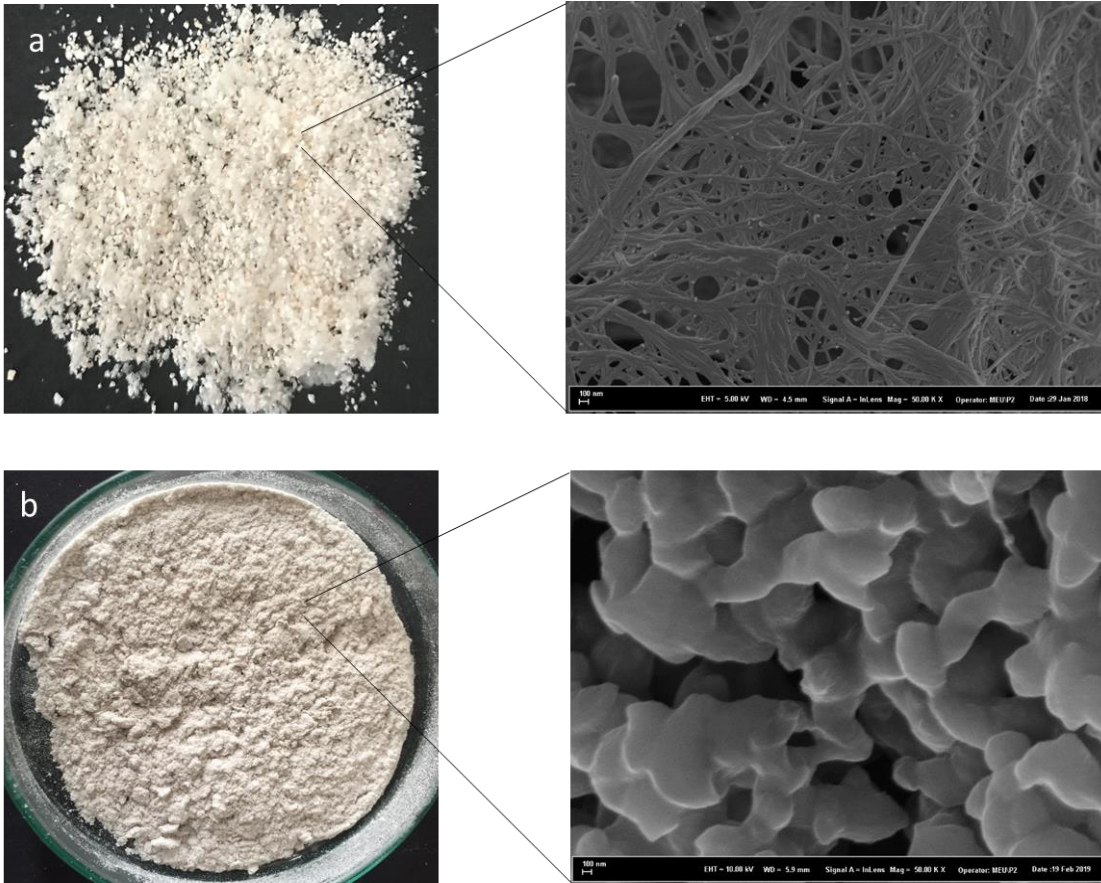
Morfolojik Analiz

Nanobiyokompozit yapıları nanoliflerin düzgün bir çap dağılımı göstermesi ve boncuklu yapıların oluşmaması, elde edilen lifli yüzeylerin mekanik ve bariyer özellikleri ile aktif bileşenin salımı açısından önemlidir. Zein proteininden elde edilen yapıları kitin lifleri ile kitin mikro kristalleri ilave edilmiş ve bunların nanobiyokompozit yapılarının morfolojik özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Kitin lifleri ve kitin mikro kristallerinin morfolojisi Şekil 3'te verilmiştir.

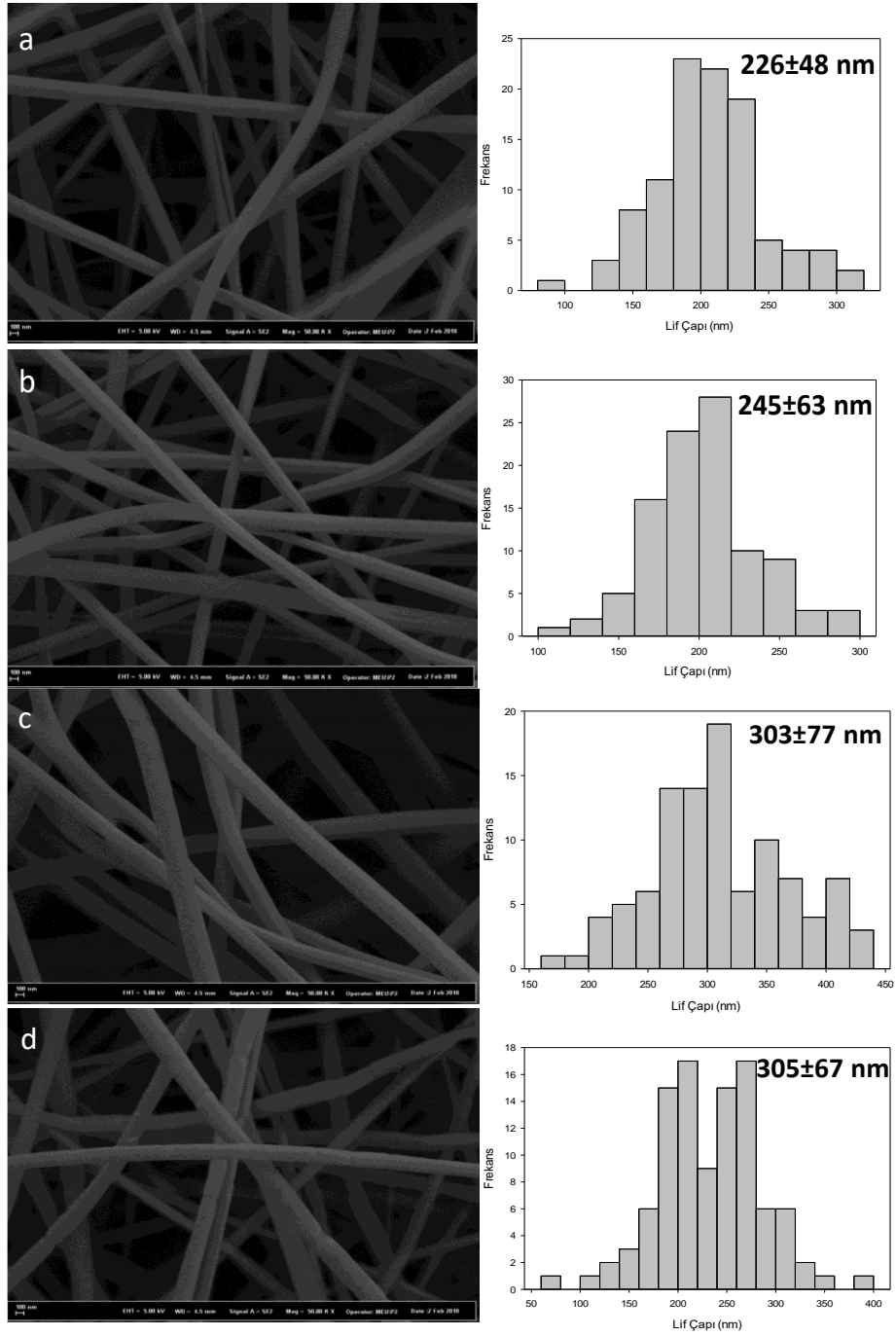
Üretilen nanobiyokompozit yapıları liflerin FE-SEM görüntüleri ve lif çaplarının dağılımı Şekil 4 ve Şekil 5'te gösterilmiştir. Hem kitin lifleri hem de kitin mikro kristallerinden elde edilen nanobiyokompozit yapılarının morfolojileri düzgün ve homojen dağılmıştır. Histogram grafiklerine

bakıldığında lif çaplarının çoğunluğunun ortalama 200 nm civarında yoğunlaştığı ve düzenli bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Üretilen liflerin ortalama çapları 79 ile 440 nm aralığında değişmektedir. Saf zein çözeltisi ve bu çözeltiliye nane uçucu yağının eklenmesiyle elde edilen nanoliflerin ortalama çapları arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Bununla beraber kitin mikro kristallerinden elde edilen nanobiyokompozit yapıların lif çaplarının, kitin liflerinden elde edilen nanobiyokompozit yapıların lif çaplarına göre azalma gösterdiği belirlenmiştir. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı ($p>0.05$) bulunmamıştır. Bununla birlikte lif çaplarındaki azalmanın kitin mikro kristallerinin iyonik iletkenliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Kitin mikro kristalleri çözücü içerisinde dağıtıldığında yüksek iyonik iletkenliğe yol açan amino grupları ortaya çıkar ve elektroğirme işlemi sırasında polimer jetinin yük

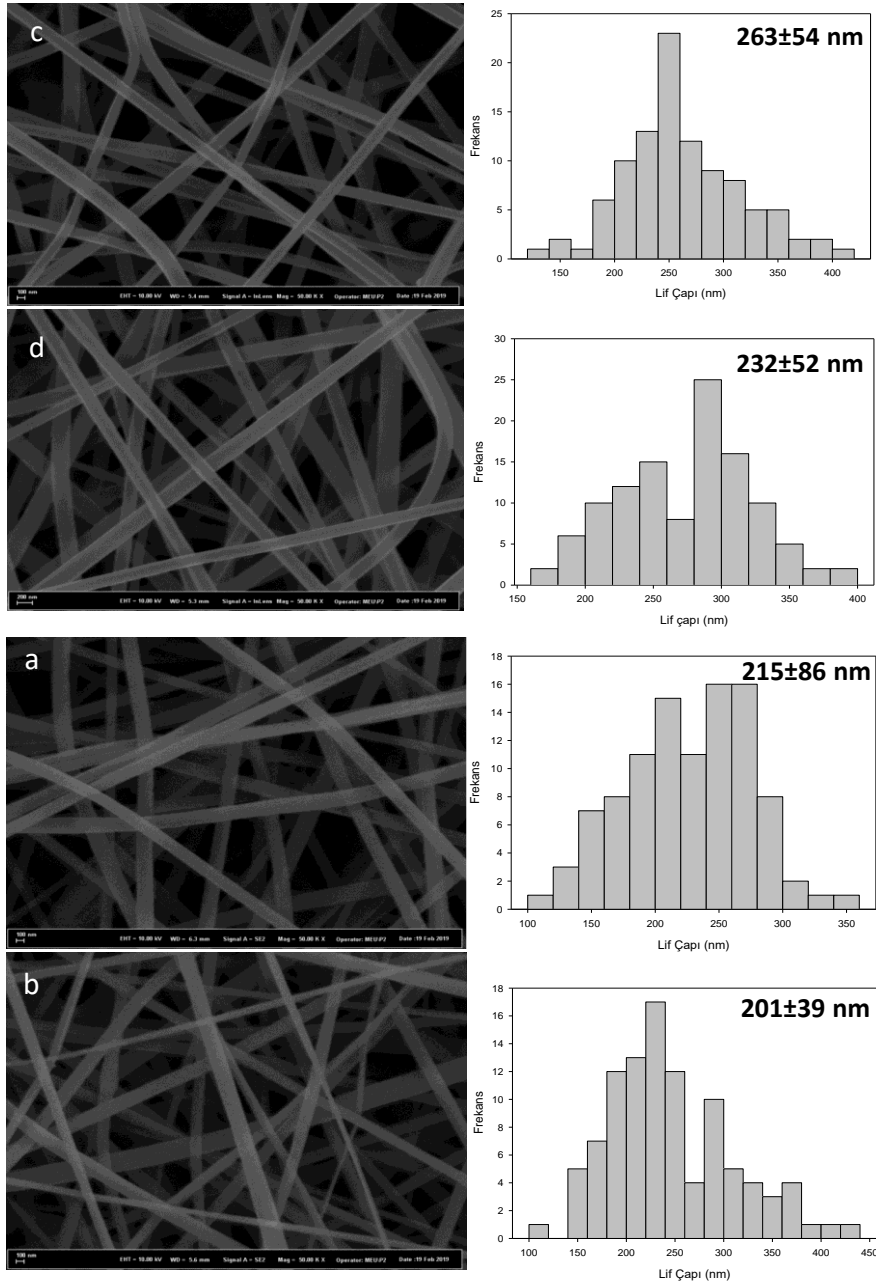
yoğunluğunu artırır. Bu nedenle, kitin mikro kristallerinin kitin liflerine kıyasla daha küçük çaplı liflerin üretimine sebep olduğu ancak mikro kristallerin miktarı artırıldığında ortalama lif çapının artırılabilceği düşünülmektedir (Wen vd., 2017). Benzer bir çalışmada poli(L-laktik asit) (PLLA) ve belirli oranlarda eklenen kitin kıl kristallerinden elektroğirme yöntemi ile elde edilen nanolifli yüzeylerin lif çapı dağılımı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre PLLA ve kitin kıl kristalleri içeren nanoliflerin, düzgün ve homojen lif çapı dağılımına sahip olduğu gözlenmiştir. Bu yapılar saf PLLA nanolifli yüzeyler ile karşılaştırıldığında, %2.5 ve %5 oranında kitin kıl kristalleri içeren nanobiyokompozitlerin lif morfolojisinde anlamlı bir farklılığın olmadığı, ancak kıl kristalleri içeriği %10 iken lif çaplarının arttığı görülmüştür (Liu vd., 2016).



Şekil 3. Kitin lifleri (KL), mikro kristalleri (KMK) ve FE-SEM görüntüleri a) KL, b) KMK
Figure 3. Chitin fibers (CF), microcrystals (CMC) and FE-SEM images a) CF, b) CMC



Şekil 4. Farklı zeyin çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin lifi içeren kompozit yapılarının FE-SEM görüntüleri a) saf zeyin, b) zeyin-NUY, c) zeyin-KL, d) zeyin-KL-NUY
Figure 4. FE-SEM images of nanofibers obtained from different zeyin solutions and their composite structures containing chitin fiber a) pure zeyin, b) zeyin-MEO, c) zeyin-CF, d) zeyin-CF-MEO



Şekil 5. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin mikro kristalleri içeren kompozit yapılarının FE-SEM görüntüleri a) saf zein, b) zein-NUY, c) zein-KMK, d) zein-KMK-NUY
 Figure 5. FE-SEM images of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin microcrystals a) pure zein, b) zein-MEO, c) zein-CM, d) zein-CM-MEO

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre (FTIR)

Zein, zein-NUY, zein-KMK ve zein-NUY-KMK liflerinin FTIR spektrumları Şekil 6'da verilmiştir. Saf zein çözeltisinden elde edilen lifin FTIR spektrumunda protein bantları için spesifik olan Amit A, Amit I ve Amit II pikleri, 3300, 1651 ve 1537 cm^{-1} 'de belirlenmiştir. Amit A piki N-H gerilme titreşim, Amit I piki C=O gerilme, Amit II ise N-H bükülme ve C-N gerilme gruplarından meydana gelmektedir (Bancila vd., 2016). 2929 cm^{-1} 'de alifatik grup C-H gerilme titreşimi, 1447 cm^{-1} 'de ise CH_2 gerilme titreşimi bulunmuştur. Zein içeren diğer nanobiyokompozit yapılar da zeinin sahip olduğu spesifik piklere rastlanmıştır (Şekil 6b, 6c ve 6d). Nane uçucu yağı içeren nanobiyokompozit yapıların FTIR spektrumları Şekil 6b ve 6d'de verilmiştir. Nane uçucu yağının 3349 cm^{-1} 'deki absorpsiyon piki, içerisinde bulunan hidroksil (-OH) gruplarının gerilmesi nedeniyle oluşmaktadır. Bu pik nanobiyokompozit yapılarında zeinden kaynaklı 3300 cm^{-1} 'de oluşan pik ile birleşmektedir. C-H gerilme gruplarından dolayı meydana gelen 2927 cm^{-1} 'deki pik yapısı, zeinin 2929 cm^{-1} 'de oluşturduğu pik yapısı ile birlikte görüntülenmektedir. Nane uçucu yağındaki alken (C=C) yapısından kaynaklanan 1633 cm^{-1} 'de pikin, 1651 cm^{-1} 'deki zeinin Amit I pikiyle çakışarak keskinleştiği belirlenmiştir. 1537 cm^{-1} 'de nane uçucu yağından dolayı meydana gelen C=C gerilmesi, zeinin aynı noktada oluşturduğu Amit II pikiyle birleşmektedir. Nane uçucu yağının sahip olduğu aromatik halkalardan kaynaklanan piklerin nanobiyokompozit yapılar da 599 cm^{-1} 'den 700 cm^{-1} 'e kaydığı belirlenmiştir (Jain vd., 2016).

Kitin mikro kristallerinin FTIR spektrumu Şekil 6e'de gösterilmiştir. Kitinin Amit I (C=O) yapısı 1614 ve 1593 cm^{-1} 'de bölünmüş çift pikler şeklinde görülmüştür. N-H ve O-H gerilmeleri ise 3051 ve 2889 cm^{-1} 'de meydana gelmiştir. Amit II piki 1519 cm^{-1} 'de C-N-H germe titreşimi ve N-H bükme titreşimi kombinasyonu olarak görülmüştür. Bu sonuçlar literatürdeki kitin ile yapılan çalışmalar ile uyumludur. Liu ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada kitindeki Amit I (C=O) pikini 1659 ve 1621 cm^{-1} 'de

belirlemişlerdir. Amit II yapısını ise keskin bir pik şeklinde 1560 cm^{-1} 'de gözlemlemişlerdir. Kitin mikrokristallerinin pikleri, nanobiyokompozit yapısının sahip olduğu zein polimerinin piklerinin şiddetini artırmıştır.

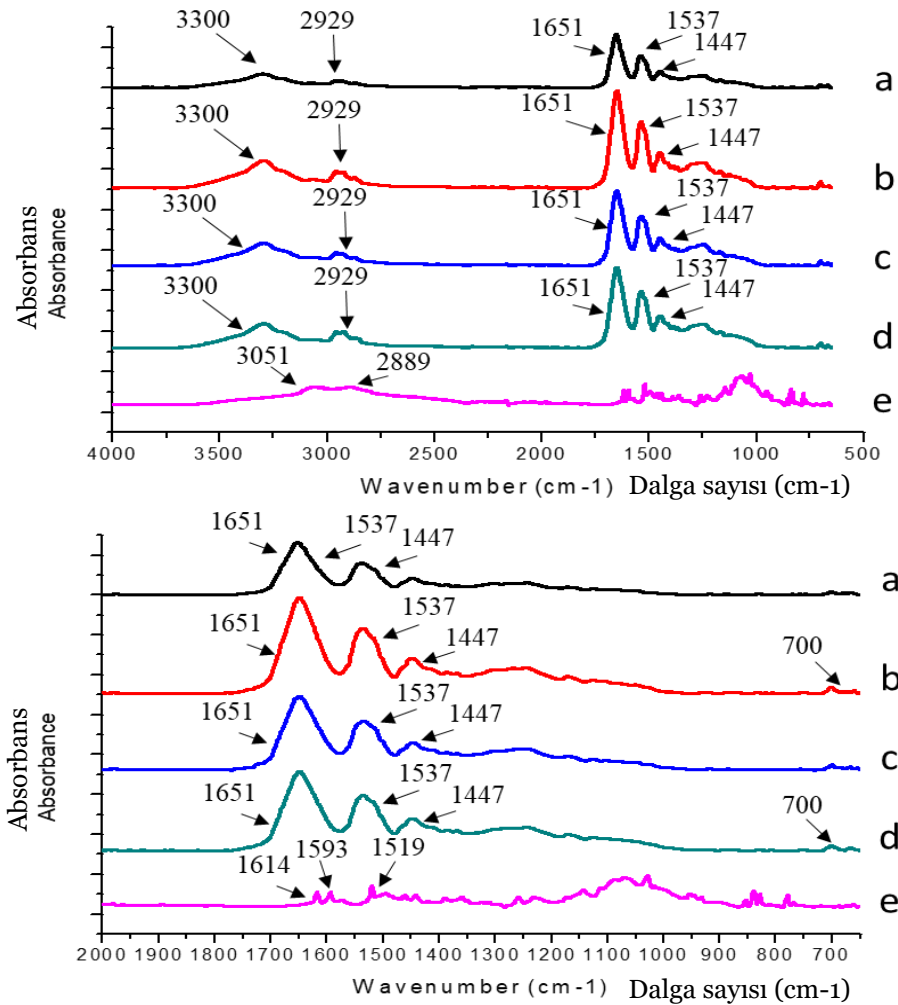
Mekanik Özellikler

Elde edilen nanobiyokompozit yapıları liflerin kalınlık, gerilme direnci ve uzama miktarı Çizelge 2'de gösterilmiştir. Nanobiyokompozit yapıları liflerin kalınlıkları 0.034±0.01 ile 0.101±0.03 mm arasında değişim göstermiştir. Saf zeinden elde edilen liflerin gerilme direnci 1.16±0.24 MPa ve uzama miktarı %5.01±1.12 olarak belirlenmiştir. Zein çözeltisine nane uçucu yağı eklenmesiyle elde edilen liflerin gerilme direnci 1.44±0.36 MPa ve uzama miktarı %6.65±1.64 olarak belirlenmiştir. Zein çözeltisine nane uçucu yağı ilave edilmesinin, nanobiyokompozit yapıları liflerin mekanik özelliklerini iyileştirdiği ve bu iyileştirmenin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunan bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada çay ağacı ve manuka uçucu yağlarının polilaktik asit bazlı elektroörgülmüş liflerin mekanik ve antibakteriyel özellikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Kullanılan uçucu yağların uzama miktarı ve gerilme direncini 12 kata kadar arttığı sonucuna varılmıştır. Bu artışın nedeni uçucu yağ bileşiminde bulunan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin polimer zincirlerinin hareketliliğini ve polimer serbest hacmini artırarak plastikleştirici etki göstermesidir (Zhang vd., 2017).

Zein çözeltisine kitin liflerinin eklenmesi ile elde edilen nanoliflerin gerilme direnci 1.35±0.33 MPa ve uzama miktarı %9.52±1.14 olarak belirlenmiştir. Kitin mikro kristallerinin eklenmesi ile elde edilen liflerin gerilme direnci 0.92±0.09 MPa ve uzama miktarı %6.33±0.56 olarak belirlenmiştir. Saf zeine kitin lifi ilavesinin, yapının gerilme direncini ve uzama miktarını artırdığı belirlenmiştir. Saf zeine kitin mikro kristali eklenmesi ise saf zeine göre gerilme direncini azaltırken, uzama miktarını artırmıştır. Bu değişim istatistiksel olarak anlamlı ($p>0.05$) bulunmamıştır. Bu azalmanın nanolifli yüzeyler içerisinde sürekli bir faz oluşturan kitin liflerine

karşın mikro kristallerin homojen olmayan aşırı birikimi ve topaklanma eğilimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Nanolifli yüzeylerin üretiminde kullanılan %5'lik mikro kristal konsantrasyonunun optimize edilmesi ile mekanik özelliklerin geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Benzer bir şekilde Yang ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan bir çalışmada elektroegirme yöntemi kullanılarak polilaktik asit (PLA) ve polimer ağırlığı üzerinden farklı oranlarda (%0, %3, %5, %7, %10) selüloz nanolifleri (CNF)

içeren nanokompozitler üretilmiştir. Elde edilen nanolifli membranların mekanik özellikleri incelenmiş ve selüloz liflerinin biyopolimer çözeltilisine %3 oranında eklenmesi ile elde edilen nanoliflerin gerilme direncinin saf PLA'dan oluşan nanoliflere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Öte yandan daha yüksek konsantrasyonlarda gerilme direncinin azalması selüloz liflerinin aşırı birikimine bağlı olarak topaklanma eğilimi göstermesine bağlanmıştır.



Şekil 6. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin mikro kristalleri içeren kompozit yapıların FTIR spektrumları a) saf zein, b) zein-NUY, c) zein-KMK, d) zein-KMK-NUY, e) KMK
Figure 6. FTIR spectra of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin microcrystals a) pure zein, b) zein-MEO, c) zein-CM, d) zein-CM-MEO, e) CM

Zein çözeltisine NUY ile birlikte kitin liflerinin eklenmesi ile elde edilen nanolifli yüzeylerin gerilme direnci 1.14 ± 0.20 MPa ve uzama miktarı 7.11 ± 0.21 olarak belirlenmiştir. Zein çözeltisine NUY ile birlikte kitin mikro kristallerinin eklenmesi ile elde edilen nanoliflerin gerilme direnci ise 0.63 ± 0.12 MPa ve uzama miktarı 5.77 ± 2.36 olarak belirlenmiştir. Nane uçucu yağı ile birlikte kitin lifi ve kitin mikro kristali eklenmesi, elektroğrılmış membran yapıların gerilme direncini saf zeine göre azaltmıştır. Gerilme direncindeki azalmanın nane uçucu yağına kitin mikro kristali eklendiğinde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Elektroğrılmış membran

yapılara NUY ile birlikte KL veya KMK eklenmesi, liflerin uzama miktarını saf zeine göre artırmış fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Saf zeine NUY ile birlikte kitin liflerinin eklenmesi kitin mikro kristallerinin ilavesine göre uzama miktarını daha fazla artırmıştır. Mekanik özellik açısından, nanobiyokompozit yapılara kitinin lif formunun ilave edilmesinin mikro kristal formunun ilave edilmesine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların, kitin mikro kristallerinin kitin liflerine göre daha yüksek sertlik ve kristallğe sahip olması ve nanolifli yüzeylerde süreksiz bir faz oluşturmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (Yang vd., 2019).

Çizelge 2. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin lifi/kitin mikro kristalleri içeren kompozit yapılarının mekanik özellikleri

Table 2. Mechanical properties of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin fiber/chitin microcrystals

Deney Run	Kalınlık (mm) Thickness (mm)	Gerilme direnci (MPa) Tensile strength (MPa)	Uzama Miktarı (%) Strain (%)
1	0.034 ± 0.01^a	1.16 ± 0.24^b	5.01 ± 1.12^a
2	0.036 ± 0.00^a	1.44 ± 0.36^c	6.65 ± 1.64^a
3	0.043 ± 0.00^a	$1.35 \pm 0.33^{b,c}$	9.52 ± 1.14^b
4	0.067 ± 0.01^{ab}	1.14 ± 0.20^b	$7.11 \pm 0.21^{a,b}$
5	0.098 ± 0.00^{bc}	$0.92 \pm 0.09^{a,b}$	6.33 ± 0.56^a
6	0.101 ± 0.03^c	0.63 ± 0.12^a	5.77 ± 2.36^a

Farklı harfler istatistiksel olarak önemli farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Antimikrobiyal Aktivite

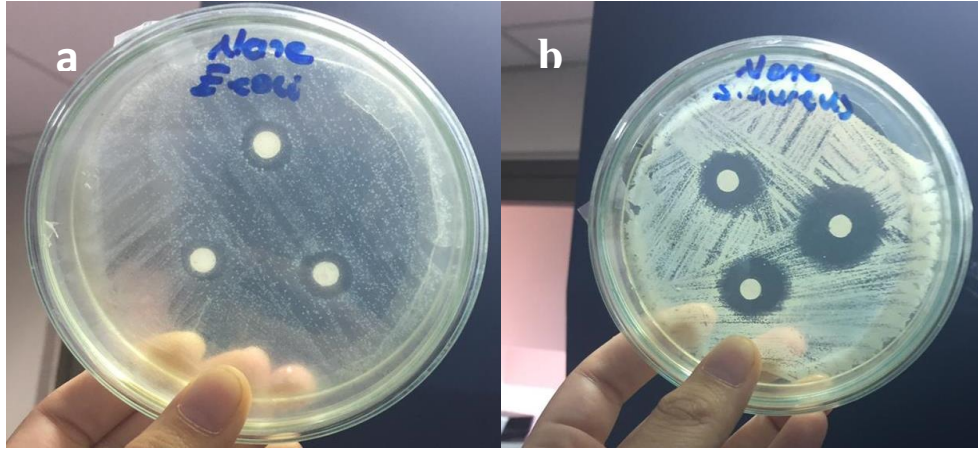
Nane uçucu yağının ve kitin lifleri/kitin mikro kristalleri ile güçlendirilmiş zein/NUY içeren nanobiyokompozit liflerin antimikrobiyal aktivitesi iki test mikroorganizması *E. coli* (Gram-negatif) ve *S. aureus* (Gram-pozitif) kullanılarak Agar Disk Difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bunlar hayati tehdit oluşturan fırsatçı mikroorganizmalar oldukları için, patojenite, direnç, bulaşıcı süreç incelemesi için model olarak kullanılan mikroorganizmalardır (Bachir Raho ve Benali, 2012). Nane uçucu yağının antimikrobiyal etkisinin sonuçları Şekil 7'de gösterilmiştir. NUY *S. aureus* üzerinde 22.0 ± 0.35 mm, *E. coli* üzerinde ise 11.3 ± 0.05 mm zon çapı oluşturmuştur. *E. coli* mikroorganizmasının nane uçucu yağına toleransının daha yüksek olduğu, nane uçucu

yağının *S. aureus* üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Kitin lifleri/kitin mikro kristalleri ve NUY içeren ve içermeyen liflerin antimikrobiyal etkileri karşılaştırılmıştır. Zein-NUY-KL içeren nanobiyokompozit yapıların çevresinde berrak zon oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 8). Kitin mikro kristallerinden üretilen nanobiyokompozit yapılarda ise; kitin lifleri ile elde edilen nanobiyokompozit yapılara göre berrak zon çapı oluşumu görülmüştür (Şekil 9). Bu durum; kitinin morfolojisinin kristalleşmesiyle antimikrobiyal etkinin oluşmasını sağlayan nane uçucu yağının daha iyi enkapsüle edilmesinin sağlandığını ve antimikrobiyal özelliğe sahip nanobiyokompozit yapının elde edildiğini göstermiştir. Ortalama zon çapının değişimi Çizelge 3'de gösterilmiştir. Zein-

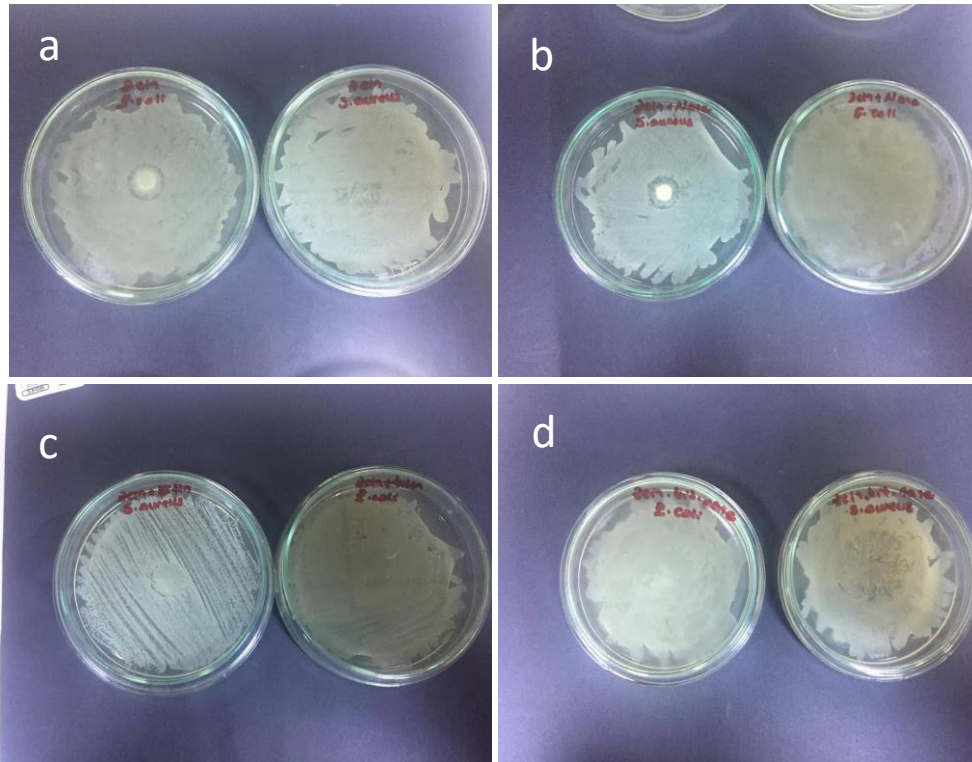
NUY-KMK içeren nanobiyokompozitlerin *S. aureus* üzerinde oluşturduğu zon çapı 14.5 mm iken, *E. coli* üzerinde oluşturduğu zon çapı 13.03 mm'dir. Nanobiyokompozit yapıların

antimikrobiyal özelliğinin, nane uçucu yağında olduğu gibi, *S. aureus* üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir (*E. coli* < *S. aureus*).



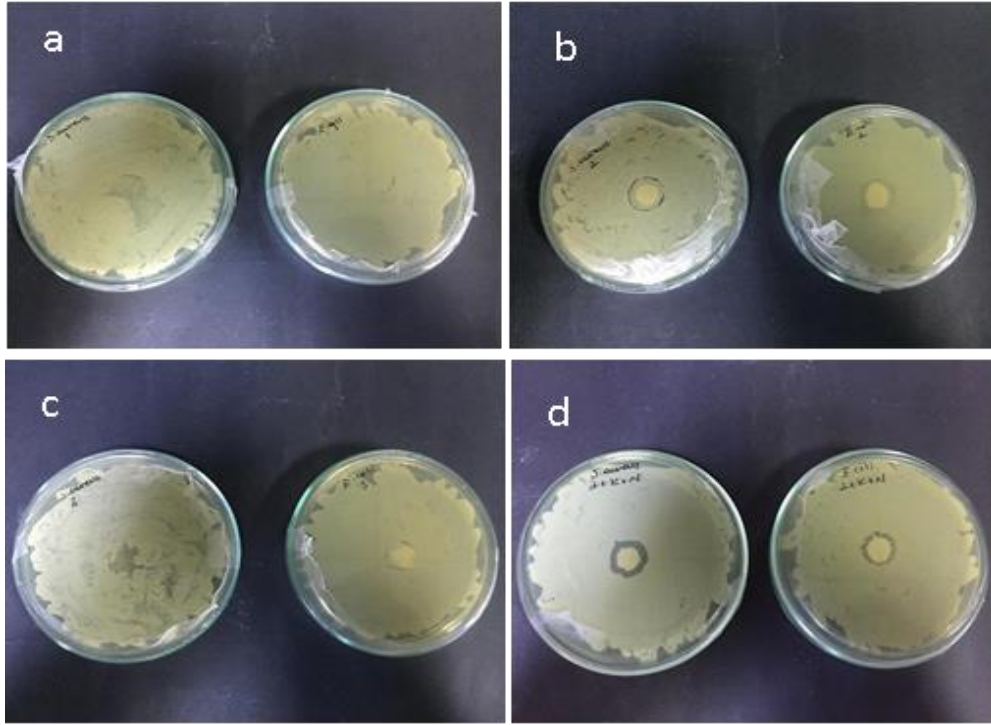
Şekil 7. Nane uçucu yağının (NUY) test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi a) *E. coli*, b) *S. aureus*

Figure 7. Antimicrobial activity of mint essential oil (MEO) on test microorganisms a) *E. coli*, b) *S. aureus*



Şekil 8. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin lifi içeren kompozit yapılarının disk difüzyon testleri a) saf zein, b) zein-NUY, c) zein-KL, d) zein-KL-NUY

Figure 8. Disk diffusion tests of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin fiber a) pure zein, b) zein-MEO, c) zein-CF, d) zein-CF-MEO



Şekil 9. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin mikro kristalleri içeren kompozit yapınının disk difüzyon testleri a) saf zein, b) zein-NUY, c) zein-KMK, d) zein-KMK-NUY
 Figure 9. Disk diffusion tests of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin microcrystals a) pure zein, b) zein-MEO, c) zein-CM, d) zein-CM-MEO

Liakos ve diğerleri (2017) çalışmalarında esansiyel yağ içeren malzemelerin mikrobiyal bağlanma ve canlı oluşumu engellediğini belirtmişlerdir. Aynı grubun bir başka çalışmasında limon yağının selüloz asetat içerisinde enkapsüle edilmesiyle elde edilen nanopartiküllerin *S. aureus* mikroorganizması üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir (Liakos vd., 2016). Literatürdeki bir diğer çalışmada sodyum aljinat ile enkapsüle edilen esansiyel yağın *Candida albicans* mantarı üzerinde etkisinin *E. coli*'ye göre daha fazla olduğu ve film içerisindeki yağ miktarının artmasıyla oluşan zon çapının doğru orantılı olduğu belirlenmiştir (Liakos vd., 2014).

Yapılan bu çalışma sonucunda elektroçirme yöntemi kullanılarak nane uçucu yağı yüklü, kitin lifleri ve kitin mikro kristalleri ile güçlendirilmiş nanoliflerin morfolojileri, mekanik ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Nanoliflerin nane uçucu yağı sayesinde antimikrobiyal özellik kazandığı görülmüştür. Kitin lifleri ve kitin mikro kristallerinin ilave

edilmesinin nanoliflerin mekanik özelliklerini iyileştirdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, elde edilen nanobiyokompozit yapıların potansiyel aktif ambalaj sistemlerinde yenilikçi bir çözüm olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 3. Farklı zein çözeltilerinden elde edilen nanolifler ve kitin lifi/kitin mikro kristalleri içeren kompozit yapınının antimikrobiyal aktiviteleri

Table 3. Antimicrobial activities of nanofibers obtained from different zein solutions and their composite structures containing chitin fiber/ chitin microcrystals

Deney Run	Zon çapı (mm) Zone diameter (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	14.50±0.01	13.03±0.01

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince (BAP), 2018-1-TP2-2738 nolu proje ile desteklenmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan nane uçucu yağını temin eden Çakıroğlu Yağ (Çakıroğlu Uçucu Yağ San. Tic. Ltd. Şti., Mersin) firmasına ve mavi yengeç kabuklarını temin eden Mezitli Balık Pazarı'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Antunes, M.D., da Silva Dannenberg, G., Fiorentini, Â.M., Pinto, V.Z., Lim, L.T., da Rosa Zavareze, E., Dias, A.R.G. (2017). Antimicrobial electrospun ultrafine fibers from zein containing eucalyptus essential oil/cyclodextrin inclusion complex. *Int J Bio Macromolecules* 104:874-882.
- Bachir Raho, G., Benali, M. (2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Biomed* 2(9):739-742.
- Bancila, S., Ciobanu, C-I., Murariu, M., Drochioiu, G. (2016). Ultrasound-assisted zein extraction and determination in some patented maize flours. *Rev Roum Chim* 61(10):725-731.
- Barrosa, A., Moraisa, S.M., Ferreira, P.A.T., Vicirab, I.G.P., Craveiroc, A.A., Fontenelled, R., Jane Menezesa, E., Silvaa, F., Sousa, H. (2015). Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. *Ind Crops Prod* 76:557-564.
- Dong, Z., Wu, Y., Wang, Q., Xie, C., Ren, Y., Clark, R. L. (2012). Reinforcement of electrospun membranes using nanoscale Al₂O₃ whiskers for improved tissue scaffolds. *J Biomed Mater Res* 100(4):903-910.
- Jain, P.K., Soni, A., Jain, P., Bhawsar, J. (2016). Phytochemical analysis of *Mentha spicata* plant extract using UV-VIS, FTIR and GC/MS technique. *J Chem Pharm Res* 8(2):1-6.
- Jin, X. Y., He, C. W., Liu, X. R., Yan, X. J., Yu, Q. Z. (2017). Effect of cellulose crystal content on the mechanical property of nano-crystal line cellulose/lignin composite fibrous film. *Key Eng Mater* 727:527-531.
- Junkasem, J., Rujiravanit, R., Supaphol, P. (2006). Fabrication of *α*-chitin whisker-reinforced poly(vinylalcohol) nanocomposite nanofibres by electrospinning. *Nanotechnol* 17:4519-4528.
- Kara, H., Xiao, H., Sarker, M., Jin, T., Sousa, A., Liu, C., Tomasulu, P.M. (2016). Antibacterial poly(lactic acid) (PLA) film grafted with electrospun PLA/allyl isothiocyanate fibers for food packaging. *J Appl Polym Sci* 10:1-8.
- Liakos, I., Abdellatif, M., Innocenti, C., Scarpellini, A., Carzino, R., Brunetti, V., Marras, S., Brescia, R., Drago, F., Pompa, P. (2016). Antimicrobial lemongrass essential oil-copper ferrite cellulose acetate nanocapsules. *Molecules* 21:520, doi:10.3390/molecules21040520.
- Liakos, I., Holban, A., Carzino, R., Lauciello, S., Grumezescu, A. (2017). Electrospun fiber pads of cellulose acetate and essential oils with antimicrobial activity. *Nanomater* 7:84, doi:10.3390/nano7040084.
- Liakos, I., Rizzello, L., Scurr, D., Pompa, P., Bayer, I., Athanassiou, A. (2014). All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. *Int J Pharm* 463:137-145, doi:10.1016/j.ijpharm.2013.10.046.
- Liu, H., Liu, W., Luo, B., Wen, W., Liu, M., Wang, X. (2016). Electrospun composite nanofiber membrane of poly(L-lactide) and surface grafted chitin whiskers: Fabrication, mechanical properties and cytocompatibility. *Carbohydr Polym* 147:216-225.
- Mincea, M., Negrulescu, A., Ostafe, V. (2012). Preparation, modification and applications of chitin nanowhiskers: A Rev *Adv Mater Sci* 30:225-242.
- Nostro, A., Germano, M.P., D'angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett Appl Microbiol* 30(5):79-84.
- Paillet, M., Dufresne, A. (2001). Chitin whisker reinforced thermoplastic nanocomposites. *Macromolecules* 34:6527-6530.

- Pereira de Abreu, D. A., J. M. Cruz, P. P. Losada. (2012). Active and intelligent packaging for the food industry. *Food Rev Int* 28:146–187.
- Realini, E.C., Marcos, B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Sci* 98:404-419.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueria, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian J Microbiol* 35(4):275-280.
- Schmatz, D., Costa, J., Greque de Moraes, M. (2019). A novel nanocomposite for food packaging developed by electrospinning and electrospaying. *Food Packaging Shelf Life* 20-100314.
- Tang, Y., Zhou, Y., Lan, X., Huang, D., Luo, T., Ji, J., Wang, W. (2019). Electrospun gelatin nanofibers encapsulated with peppermint and chamomile essential oils as potential edible packaging. *J Agric Food Chem* 67(8):2227-2234.
- Tiryakioğlu, B. (2004). *Euphorbia seguieriana* bitkisinden hazırlanan özütlerin antibakteriyel etkilerinin incelenmesi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale, Türkiye.
- Torres-Giner, S. (2011). Chapter 5: Electrospun nanofibers for food packaging applications. *Multifunctional Nanoreinforced Polym Food Packaging*, Woodhead Publishing Limited, 108-125, doi.org/10.1533/9780857092786.1.108.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Beest, V.M., Kruijf, N., Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. *Trends Food Sci Technol* 10(3):77-86.
- Wen, P., Zhu, D., Feng, K., Liu, F., Lou, W., Li, N., Zong, M., Wu, H. (2016). Fabrication of electrospun polylactic acid nanofilm incorporating cinnamon essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex for antimicrobial packaging. *Food Chem* 196:996-1004.
- Wen, Q., Lan, W., Zhang, R., Whang, S., Liu, Y. (2017). Development of poly(lactic acid)/chitosan fibers loaded with essential oil for antimicrobial applications. *Nanomaterials* 7: 194-207.
- Yang, Z., Li, X., Si, J., Cui, Z., Peng, K. (2019). Morphological, mechanical and thermal properties of poly(lactic acid)(PLA)/cellulose nanofibrils(CNF) composites nanofiber for tissue engineering. *J Wuban Univ Technol Mater Sci Ed* 34(1):207-215.
- Zeng, J.B., He, Y., Li, S., Wang, Y. (2012). Chitin whiskers: an overview. *Biomacromolecules* 13:1-11.
- Zhang, L., Yongshang, L., Weng, L. (2004). Morphology and properties of soy protein isolate thermoplastics reinforced with chitin whiskers. *Biomacromolecules* 5:1046-1051.
- Zhang, W., Huang, C., Kusmartseva, O., Thomas, N.L., Mele, E. (2017). Electrospinning of polylactic acid fibres containing tea tree and manuka oil. *Reactive Functional Polym* 117:106-111.
- Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P.M., Ki, K. (2007). Physical, mechanical, and antibacterial properties of chitosan/PEO blend films. *Biomacromolecules* 47:1505-1510.

İçindekiler / Content

Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

Atalar, I., Gul, O., Gul, L. B., Yazici, F. <i>Storage stability of low and high heat treated hazelnut beverages</i> / Düşük ve yüksek ısı işlem uygulanmış fındık içeceklerinin depolama stabiliteleri	980-987
Terkuran, M., Erginkaya, Z. <i>The relationships between serving temperatures and microbiological quality of normal and dietary meals produced in a university hospital kitchen</i> / Üniversite hastane mutfağında üretilen normal ve diyet öğünlerinin servis sıcaklıkları ile mikrobiyolojik kalitesi arasındaki ilişkiler.....	1020-1029
Gündüz, H., Aras Hisar, Ş., Gündüz, F. <i>The effect of different ultrasound powers treatment on some quality parameters of sardines (Sardina pilchardus) packed in vacuum packaging</i> / Farklı güçte ultrases uygulamalarının vakum paketlenen sardalya balıklarının (<i>Sardina pilchardus</i>) bazı kalite parametreleri üzerine etkisi.....	1071-1080
Yorulmaz, A., Erinç, H., Tatlı, A., Tekin, A. <i>The effect of irrigation on olive and olive oil characteristics</i> / Sulama işleminin zeytin ve zeytinyağının özelliklerine etkisi.....	1081-1091
Dinçer, C., Çam, İ. B., Torun, M., Başunal Gülmez, H., Topuz, A. <i>Mathematical modeling of concentrations of grape, pomegranate and black carrot juices by various methods</i> / Üzüm, nar ve kara havuç sularının farklı yöntemlerle konsantrasyonunun matematiksel modellenmesi.....	1092-1105
Levent, H., Yeşil, S. <i>The effects of drying methods on the quality of Turkish noodle with legume flours</i> / Kurutma metodlarının baklagil unlu Türk erişte kalitesi üzerine etkileri	1161-1173

Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

Gülüm, L., Akoğlu, İ. T. Akoğlu, A. <i>Bıldırcın nugget üretimi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi</i> / <i>Quail meat nugget production and determination of storage stability</i>	954-968
Alayunt, N., Ö. Bölgesel farklılık ve depolama süresinin propolisin antioksidan özellikleri üzerine etkisi / <i>The effect of regional difference and storage time on antioxidant properties of propolis</i>	969-979
Kılıç, S., Kılıç, M. <i>Kırmızı pul biber örneklerinde element içeriğinin belirlenmesi</i> / <i>Determination of element contents in red pepper samples</i>	1000-1007
Öztürk Oruç, S., Çakır, İ. <i>Probiyotik kültürlerle fermente karpuz suyu üretimi üzerine bir araştırma</i> / <i>A research on production of fermented watermelon juice by probiotic culture</i>	1030-1041
Çorapçı, B., Kocatepe, D. <i>Modifiye atmosfer (MA) paketlenmiş kırlangıç (Cbelidionichthys lucerna linnaeus, 1758) sotenin kalite özellikleri</i> / <i>The quality characteristics of tub gurnard (Cbelidionichthys lucerna linnaeus, 1758) saute packaged with modified atmosphere (MA)</i>	1059-1070
Göksel Saraç, M., Dedebaş, T. <i>Turuncgil albedoları ile zenginleştirilmiş lokum üretimi ve karakterizasyonu</i> / <i>Production and characterization of Turkish delight enriched with citrus albedos</i>	1121-1135
Terakye, E., Bayrakdar, M. G., Suna, S., Çopur, Ö. U. <i>Baharat ekstraktlarıyla zenginleştirilmiş sirkeli içecek üretimi üzerine bir araştırma</i> / <i>A research on the production of vinegar beverage enriched with spice extracts</i>	1136-1147
Güzel, N., Bahçeci, K. S. <i>Çorum yöresi ballarının fenolik madde içerikleri ile renk ve antioksidan kapasiteleri arasındaki ilişki</i> / <i>Correlation of phenolic content of honeys from Çorum region with colour and antioxidant capacity</i>	1148-1160
Lavkor, I. <i>Mısırdaki koçan çürüklüğüne neden olan fungal türler ve mısırdaki oluşan mikotoksinler</i> / <i>Fungal species causing ear rot in corn and occurred mycotoxins in corn</i>	1197-1209
Selçuk, H., Velioglu, Y. S. Baloglu, Z. <i>Ozonlama ve filtrasyon işleminin suların demir ve mangan içeriğine etkisi</i> / <i>Effects of ozonation and filtration on the iron and manganese contents of water</i>	1210-1221
Karabulut, M., Atay, E., Altan, A. <i>Kitin ile güçlendirilen elektroçözümlü nanoliflerin aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabilirliğinin incelenmesi</i> / <i>Investigation of electrospun nanofibers strengthened with chitin as active packaging material</i>	1237-1252

Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

Var, I., Çelik, Ç. <i>Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama ve çoğunluğu algılama mekanizmasının engellenmesi</i> / <i>Quorum sensing and quorum quenching mechanism in microorganisms</i>	943-953
Değerli, C., Nehir El, S. <i>Optimum beslenme sağlıklı atıştırmaıkların yeri</i> / <i>Importance of healthy snacks in optimal nutrition</i>	988-999
Karakuş, E., Ayhan, Z. <i>Gıda atıklarından çevre dostu biyobozunur ambalaj malzemesi üretimi</i> / <i>Production of environmentally friendly biodegradable packaging materials from food waste</i>	1008-1019
Çağlar Gökırmaklı, Ç., Havva Nilgün Budak, H. N., Zeynep Banu Güzel-Seydim, Z. B. <i>Sirkenin sağlık üzerine etkileri</i> / <i>Effects of vinegar on health</i>	1042-1058
Akpınar, M., Halkman, A.K. <i>Gıda patojenlerinin biyokontrolünde bakteriyofaj uygulamaları</i> / <i>Application of bacteriophages for biocontrol of food pathogens</i>	1106-1120
Oğuz, Ş., Andıç, S. <i>Peynir üretiminde kullanılan starter kültürler</i> / <i>Starter cultures used for the manufacture of cheese</i>	1174-1196
Geniş, B., Tuncer, Y. <i>Probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan farklı kaplama materyalleri ve yöntemler</i> / <i>Different coating materials and methods used in microencapsulation of probiotic cultures</i>	1222-1236