

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

**GIDA**



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume:17 Sayı/Number:3 Temmuz - Eylül 2019

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

**SİDAS MEDYA**

**AKADEMİK GIDA®**  
**ACADEMIC FOOD JOURNAL**

**Akademik Gıda®** dergisi Gıda Bilimi ve Teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Araştırma Notu ve Editöre Mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilmektedir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanmaktadır. Dergide Türkçe veya İngilizce olarak hazırlanmış makaleler yayınlanmaktadır.

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Oğuz Gürsoy  
(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Editörler / Editors**

Özer Kınık (Ege Üniversitesi)  
Ramazan Gökçe (Pamukkale Üniversitesi)  
Yusuf Yılmaz (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**Teknik Editörler / Technical Editors**

Kübra Kocatürk (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)  
Hande Özge Güler (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

**International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu**

- Mohamed H. Abd El-Salam (National Research Centre, Egypt)  
Sibel Akalın (Ege University, Turkey)  
Abdullah Akdoğan (Pamukkale University, Turkey)  
Nihat Akın (Selçuk University, Turkey)  
Nesimi Aktaş (Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey)  
Tapani Alatossava (University of Helsinki, Finland)  
Patricia-Munsch Alatossava (University of Helsinki, Finland)  
Muhammet Arıcı (Yıldız Technical University, Turkey)  
Iuliana Aprodu (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)  
Adriana Pavese Ariseto (State University of Campinas, Brazil)  
Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)  
Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)  
Jurislav Babic (University of Osijek, Croatia)  
Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)  
Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)  
Noreddine Benkerroum (Inst. Agronomique et Vet. Hassan II, Morocco)  
Yavuz Beyatlı (Gazi University, Turkey)  
Kamil Bostan (Istanbul Aydın University, Turkey)  
Rajka Bozanic (University of Zagreb, Croatia)  
Cengiz Caner (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)  
Oana Emilia Constantin (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)  
Abdullah Çağlar (Afyon Kocatepe University, Turkey)  
İbrahim Çakır (Abant İzzet Baysal University, Turkey)  
Songül Çakmakçı (Atatürk University, Turkey)  
İlyas Çelik (Pamukkale University, Turkey)  
Utku Çopur (Uludağ University, Turkey)  
Ahmet Hilmi Çon (Öndokuz Mayıs University, Turkey)  
Mehmet Demirci (Namık Kemal University, Turkey)  
Yusuf Dilgin (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)  
Cynthia Ditchfield (University of Sao Paulo, Brazil)  
Fahrettin Göğüş (Gaziantep University, Turkey)  
Şebnem Harsa (Izmir Institute of High Technology, Turkey)  
Arif Hepbaşlı (Yaşar University, Turkey)  
Seda Ersus Bilek (Ege University, Turkey)  
A. Adnan Hayaloğlu (İnönü University, Turkey)  
Yekta Göksungur (Ege University, Turkey)  
Mehmet Güven (Çukurova University, Turkey)  
Filiz İçier (Ege University, Turkey)  
Kadir Halkman (Ankara University, Turkey)  
Mükerrrem Kaya (Atatürk University, Turkey)  
Semra Kayaardı (Manisa Celal Bayar University, Turkey)  
Yonca Karagül Yüceer (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)  
Harun Kesenkaş (Ege University, Turkey)  
Meral Kılıç Akyılmaz (Istanbul Technical University, Turkey)  
Piotr Koczon (Warsaw University of Life Sciences, Poland)  
Celalettin Koçak (Ankara University, Turkey)  
Ergun Köse (Manisa Celal Bayar University, Turkey)  
Ahmet Küçükçetin (Akdeniz University, Turkey)  
Erdoğan Küçüköner (Süleyman Demirel University, Turkey)  
Jung Hoon Lee (Fort Valley State University, USA)  
Sebahattin Nas (Pamukkale University, Turkey)  
Güliden Ova (Ege University, Turkey)  
Zümrüt Begüm Ögel (Konya Food and Agriculture University, Turkey)  
Semih Ötleş (Ege University, Turkey)  
Halil Özbaş (Süleyman Demirel University, Turkey)  
Beraat Özçelik (Istanbul Technical University, Turkey)  
Filiz Özçelik (Ankara University, Turkey)  
Sami Gökhan Özkal (Pamukkale University, Turkey)  
Mustafa Zafer Özel (Sensient Technologies, UK)  
Barbaros Özer (Ankara University, Turkey)  
Edward Pospiech (Poznan University of Life Sciences, Poland)  
Konstantinos Petrotos (Technological Educational Inst. of Larissa, Greece)  
Pican Prabasankar (CSIR-Central Food Technological Res. Inst., India)  
Jenny Ruales (Escuela Politécnica Nacional, Ecuador)  
Osman Sağdıç (Yıldız Technical University, Turkey)  
Saulius Satkauskas (Vytautas Magnus University, Lithuania)  
Meltem Serdaroğlu (Ege University, Turkey)  
Reyad R. Shaker (Jordan University of Science & Technology, Jordan)  
Ömer Şimşek (Pamukkale University, Turkey)  
Romeo Toledo (University of Georgia, USA)  
Mahir Turhan (Mersin University, Turkey)  
Yahya Tülek (Pamukkale University, Turkey)  
Harun Uysal (Ege University, Turkey)  
Mustafa Üçüncü (Ege University, Turkey)  
Y. Sedat Velioglu (Ankara University, Turkey)  
Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)  
Aydın Yapar (Pamukkale University, Turkey)  
Hasan Yetim (Istanbul Gelişim University, Turkey)  
Atıla Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)  
Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)  
Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

**AKADEMİK GIDA****ABSTRACTED / INDEXED / LISTED IN**

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

Akademik Gıda 17 (3) (2019)  
**İÇİNDEKİLER / CONTENTS**

■ Editörden / Editorial

IV-V

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

**Chemical Changes in Strained Dairy Product Produced with Organic Milk by Using Kefir Grains and Yogurt Culture during Refrigerated Storage** / Kefir Tanesi ve Yoğurt Kültürü ile Organik Sütten Üretilen Süzme Süt Ürününün Soğuk Depolanması Sırasında Kimyasal Değişimler / Zehra Guler, Ali Tekin, Ahmet Dursun

306-316

**Effect of Frozen Storage and Modified Atmosphere Packaging Followed by Cold Storage on Some Quality Characteristics of Semi-Dried Persimmons** / Yarı-Kurutulmuş Trabzon Hurmalarının Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Donmuş Depolamanın ve Modifiye Atmosferde Paketleme Sonrası Soğuk Depolamanın Etkisi / Hakan Karaca, Elif Kurşun

317-328

**Buğday Ununa Ozon Gazı Uygulamasının Un ve Ekmek Kalitesine Etkisi** / Effect of Ozone Gas Treatment of Wheat Flours on Flour and Bread Quality / Muhammed Sami Elgün, Nermin Bilgiçli

329-341

**Taze ve Kurutulmuş Yaban Mersini (Vaccinium myrtillus) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Probiyotik ve Patojen Bakteriler Üzerine Etkileri** / Effect of Fresh and Dried Blueberry (Vaccinium myrtillus) Fruit and Leaf Extracts on Probiotics and Pathogens / Ali Değirmencioğlu, Nurcan Değirmencioğlu

342-350

**Acı Biber Salçası Atıklarından Ultrason Destekli Ekstraksiyon İşlemiyle Karotenoid Ekstraksiyonu** / Ultrasound Assisted Extraction of Carotenoids from Hot Pepper Paste Wastes / Merve Civan, Seher Kumcuoğlu, Şebnem Tavman

351-361

**Dane veya Liyofilize Kefir Kültürü Kullanılarak Peyniraltı Suyu İçeceği Üretimi ve Karakterizasyonu** / Production and Characterization of Whey Beverage by Using Grain or Lyophilized Kefir Cultures / İrem Şen, Yonca Karagül Yüceer

362-370

**İzmir'de Satışa Sunulan Bazı Sofralık Zeytinlerin Duyusal Özellikleri** / Determination of Sensory Characteristics of Some Table Olives Marketed in Izmir, Turkey / Ferište Öztürk Güngör, Erkan Susamcı, Yeşim Altunoğlu, Şahnur İrmak

371-377

■ Derleme Makaleler / Review Papers

**Kuru İncirin İşlenmesi, Kalite Problemleri ve Gıda Endüstrisinin Geliştirdiği Yenilikçi Yöntemler** / Dried Fig Processing, Quality Problems and Innovative Methods Developed by Food Industry / Esra Gençdağ, Ahmet Görgüç, Fatih Mehmet Yılmaz

378-388

**Gıdalarda Deniz Kaynaklı Makroalg Özü Kullanımı ve Lipit Oksidasyonunu Önlemede Antioksidan Etkisi** / Use of Marine Macroalgae Extracts in Foods and Their Antioxidative Effect against Lipid Oxidation / Bahar Gümüş, Mustafa Ünlüsayın, Erkan Gümüş

389-400

**3-Kloropropandiol, 2-Kloropropandiol, Esterleri ve Glisidil Yağ Asidi Esterinin Toksik Etkileri** / Toxic Effects of 3-Chloropropanediol, 2-Chloropropanediol, their Esters and Glycidyl Fatty Acid Ester / Can Özgür Yalçın, Sezen Yılmaz-Sarıaltın

401-409

**Protein Emülsiyon Ağıyla Yapılandırılmış Oleojeller** / Oleogels Structured with Protein Emulsion Network / Eda Keskin Uslu, Emin Yılmaz

410-416

**Çay Bitkisinin (Camellia sinensis) Bileşimi ve Sağlık Etkileri** / Composition and Health Effect of Tea Plant (Camellia sinensis) / Cemre Elmas, Ceren Gezer

417-428

**Denetimli Örüntü Tanıma ve Gıda Analizlerinde Uygulamaları** / Supervised Pattern Recognition and its Applications in Food Analyses / Bahar Demircan, Yeşim Elmacı

429-438

**Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoxin M1** / Aflatoxin M1 in Milk and Dairy Products / Cesur Mehenktaş

439-443

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

VI-IX

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

X-XV

**Sahibi**

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

**Genel Yayın Yönetmeni**

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

**Baş Editör**

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
ogursoy@yahoo.com

**Editörler**

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

**Reklam Müdürü**

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

**Hukuk Danışmanı**

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

**Abone Sorumlusu**

Halil SOLAK

**Grafik Tasarım**

Sidas Medya Tasarım Grubu

**Yönetim Yeri**

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz  
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 17

Sayı: 85

Temmuz - Ağustos - Eylül 2019

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİMEDYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli  
Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 17. yayın yılının üçüncü sayısı ile sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 7 araştırma ve 7 derleme çalışması olmak üzere toplam 14 makale yer almaktadır.

Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne 2020 yılında geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

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

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

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

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

Saygılarımızla.

**Oğuz Gürsoy**  
Baş Editör

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

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

Galati Dunarea de Jos Üniversitesi Gıda Bilimi ve Mühendisliği Fakültesi tarafından 5-6 Eylül 2019 tarihleri arasında Galati'de (Romanya) bu yıl dokuzuncusu düzenlenecek olan EuroAliment sempozyumu ile ilgili detaylı bilgilere [http://www.euroaliment.ugal.ro/euro-aliment\\_2019.htm](http://www.euroaliment.ugal.ro/euro-aliment_2019.htm) adresinden ulaşılabilir.

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

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

**IDF Dünya Süt Zirvesi 2019**

Uluslararası Sütçülük Federasyonu tarafından bu yıl İstanbul'da (Hilton İstanbul Bomonti Hotel & Conference Center) gerçekleştirilecek Dünya Süt Zirvesi hakkındaki detaylı bilgilere <https://idfws2019.com/> adresinden ulaşılabilir.

**1.Uluslararası / 11. Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi**

Gıda Mühendisleri Odası tarafından iki yılda bir düzenlenen Gıda Mühendisliği Kongresi, bu yıl Gıda Mühendisleri Odası Yönetim Kurulu tarafından uluslararası kongreye dönüştürülmüştür. 1.Uluslararası/11.Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi bu yıl 7-9 Kasım 2019 tarihlerinde Antalya'da (Aska Lara Resort & SPA) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.foodengcongress.org/tr> adresinden ulaşılabilir.

**7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi**

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 4-5 Haziran 2020 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenligikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.



**Türkiye 13. Gıda Kongresi**

Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020 tarihlerinde Gıda Teknolojisi Derneği ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü işbirliği ile Çanakkale Üniversitesi Troia Kongre Merkezi'nde düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://gidakongresi2020.org/> adresinden ulaşılabilir.

## Chemical Changes in Strained Dairy Product Produced with Organic Milk by Using Kefir Grains and Yogurt Culture during Refrigerated Storage

Zehra Guler<sup>1</sup>  , Ali Tekin<sup>2</sup> , Ahmet Dursun<sup>1</sup> <sup>1</sup>Department of Food Engineering, Agriculture Faculty, Mustafa Kemal University, 31034, Hatay, Turkey<sup>2</sup>Department of Food Processing, Firat Vocational School, Firat University, 23119, Elazığ, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 08.11.2018, Accepted (Kabul Tarihi): 22.10.2019

 Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [zguler@mku.edu.tr](mailto:zguler@mku.edu.tr) (Z. Guler) +90 326 245 58 45-1055  +90 326 245 58 32

### ABSTRACT

The objective of this study was to produce a strained dairy product made from organic milk using yogurt culture and kefir grains as a new product development. Strained dairy product was analyzed for carbohydrates, organic acids, volatile organic compounds (VOCs), basic chemical composition as well as overall acceptability at 1, 7, 14, 21 and 28 days of refrigerated storage. While galactose content in dairy products increased, lactose and glucose contents decreased on 14<sup>th</sup> day of storage. The main VOC was ethanol, accounted for about 58% of total volatiles. An increase in succinic acid (from 312 mg/kg to 638 mg/kg), acetic acid (632 mg/kg-843 mg/kg), ethyl octanoate (1.07%-4.15%) and a decrease in viscosity (5754 mPas-1050 mPas) and total solids (24.33%-20.64%) towards the end of storage were observed. Refrigerated storage for more than 21 days could not be recommended since the product was found unacceptable by the panelists but the product consumption at the first 21 days of storage may be an advantage for lactose intolerance humans due to its low lactose level.

**Keywords:** Strained dairy product, Yogurt, Kefir, Organic acids, Volatile organic compounds

### Kefir Tanesi ve Yoğurt Kültürü ile Organik Sütten Üretilen Süzme Süt Ürününün Soğuk Depolanması Sırasında Kimyasal Değişimler

#### ÖZ

Yoğurt kültürü ve kefir tanesi, organik süt kullanılarak üretilen; süzme yeni bir ürün üretimi amaçlanmıştır. Süzülmuş üründe depolama boyunca (1., 7., 14., 21., 28. günlerde) karbonhidrat ve organik asit içeriği, uçucu bileşenler, temel kimyasal kompozisyon analizleri yapılmış ve genel kabul edilebilirlik değerlendirilmiştir. Depolamanın 14. gününde galaktoz miktarı artarken, laktoz ve glukoz miktarları azalmıştır. Üründe en fazla oranda belirlenen uçucu bileşen etanol olup; toplam uçucu bileşenlerin yaklaşık %58'ini oluşturmuştur. Depolamanın sonuna doğru süksinik asit (312 mg/kg'dan 638 mg/kg'a), asetik asit (632 mg/kg'dan 843 mg/kg'a) ve etil oktanoatta (%1.07'den %4.15'e) önemli düzeyde bir artma; viskozite (5754-1050 mPas) ve toplam kurumaddede (%24.33-%20.64) bir azalma gözlemlenmiştir. Yirmi bir günden daha uzun süre depolanan ürün panelistler tarafından kabul edilemez olarak değerlendirilmiştir. Ancak depolamanın 21. gününe kadar ürünün tüketimi, düşük laktoz içeriği nedeniyle laktoz intoleransı insanlar için bir avantaj olarak değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Süzme süt ürünü, Yoğurt, Kefir, Organik asitler, Uçucu bileşenler

## INTRODUCTION

Dairy products such as yogurt, kefir are produced by fermentation of milk with lactic culture and kefir grains, respectively. The roles of both yogurt culture (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) and kefir grains (*L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, lactococci and *L. lactis*, *Str. thermophilus*, *L. mesenteroides*, *L. cremoris*, *Kluyveromyces*, *Candida*, *Torulopsis*, and *Saccharomyces* sp.) can be summarized as milk acidification and synthesis of aromatic compounds. However, the shelf-life of these products is limited with almost 3-4 weeks with respect to keeping quality traits [1-3]. Removing whey of acidified product can extend the shelf-life and also water soluble nutrients such as lactose, vitamin and minerals are lost from acidified product along with whey [4]. Therefore, the nutritional value of product may be different from kefir and yogurt. Concentration process allows further fermentation by lactic acid bacteria and yeast resulting in a modified flavor of the final product.

Culture-containing dairy foods such as yogurt and kefir are an excellent source of many of milk nutrients and also they have beneficial effects for health due to their inherent lactic acid bacteria and yeast since the organic acids in yogurt and the other probiotic bacteria such as *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* tend to exert preservative effect by controlling the growth of contaminating spoilage and pathogenic organisms [5]. Lactic acid fermentation also contributes to improved storage qualities, physical properties and flavor. Kefir has a distinctive flavor due to the CO<sub>2</sub>, ethanol, lactic acid and the other volatile organic compounds [6-8]. These flavor compounds in yogurt and kefir are influenced by the chemical composition of milk base, type of milk, processing conditions (e.g. heat treatment, draining of whey), the inoculation rate, activity and strains of starter culture used and incubation period [1].

Several references are available, however, on the volatile compounds and organic acids in kefir and yogurt [2, 6-12], no scientific literature on biochemical properties of strained product made from organic milk using kefir grains and yogurt culture are existent. Various dairy products such as yogurt and cheeses have previously been produced using kefir as culture [13, 14]. To the best of our knowledge, such a product was produced for the first time. Therefore, we aimed to determine some quality attributes of strained product and their changes during refrigerated storage. For this purpose, the volatile organic compounds (VOCs), organic acids, physical and sensory properties as well as basic chemical composition of strained dairy product were analyzed because those are recognized as important traits in fermented dairy products for consumer acceptability.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Kefir grains (approximately 0.32 to 3.4 mm in diameter, small cauliflower florets in appearance) and commercial yogurt culture CH-1 (DVS) containing *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* were provided from Ankara University, Department of Dairy Science (Ankara, Turkey) and Chr.Hansen-Peyma (Istanbul, Turkey), respectively. Organic UHT (Ultra High Temperature) cows' milk was obtained from a retail market. Organic acid and lactose standards were purchased from Sigma-Aldrich GmbH (Steinheim, Germany) and Supelco (Bellefonte, PA, USA), respectively.

### Manufacture of Strained Dairy Product using Kefir Grains and Yogurt Culture

Strained dairy product was produced according to the procedure presented in Fig. 1. Organic cow milk is used for strained product manufacturing since kefir grains display a good activity in organic milk compared with conventional milk also organic milk kefir is more aromatic [15]. Kefir grains were inoculated at the rate of 0.2 g/100 g milk to organic cow milk at 25°C. After incubation at 25°C for 28 h to pH 4.6, the grains were separated from the fermented milk by filtration through a sieve and fermented milk was heated to 43°C and inoculated at rate of 1 g/100 g with CH-1 type yogurt culture and incubated at 43°C up to 4.4 pH. Decrease from pH 4.6 to 4.4 took place approximately 2.5 h. This may be due to the fact that the high ethanol content of the product suppresses the activity of yogurt bacteria. After cooling one night at 4°C, the fermented product was gently mixed and transferred into a cotton cloth bag. To prevent recontamination, the cloth bag was hung to drain the whey (4°C) until about 25% total solids. Dry salting (1 g/100 g) was applied to the product in order to the development of taste and the preservation of product. Production was repeated three times, and all analyses were performed in triplicate. Samples were analyzed at 7-day intervals during refrigerated storage.

### Chemical Analyses

The total solids, fat, protein, ash and acidity as lactic acid of the strained dairy product were analyzed according to methodology recommended by the Association of Official Analytical Chemist Methods [16]. The pH was measured using a pH meter (Orion, Thermo, Beverly, MA, USA).

According to the procedure described by Fernandez-Garcia and McGregor [17] organic acids and carbohydrates were analyzed in an automated HPLC system (HPLC-20 AD Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan) using an ion exchange column (Aminex HPX-87 H, 300x7.8 mm, BIO-RAD, Hercules, CA, USA). Organic acids and carbohydrates were detected at 210 nm with a UV/VIS detector (SPD-20 AV, Shimadzu, Kyoto, Japan) and refractive index detector (RID-10A,



Shimadzu, Kyoto, Japan), respectively. Linear regression curves based peak areas were calculated for

the individual organic acid and carbohydrate covering a broad range of concentrations.

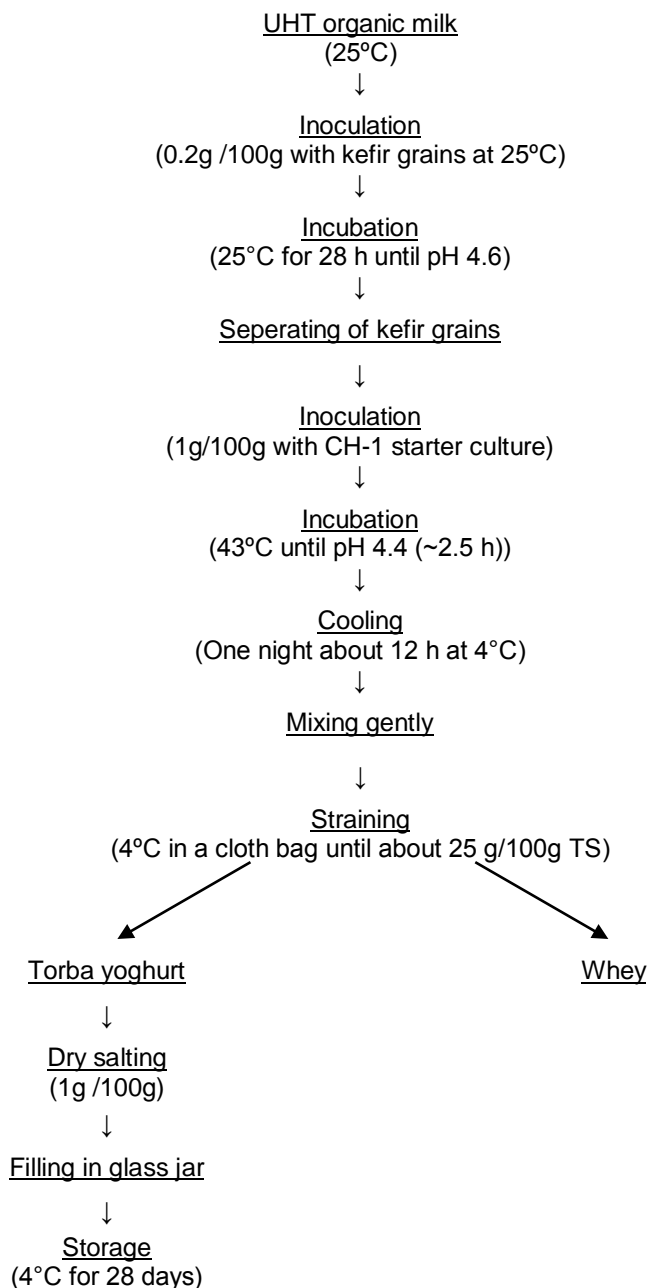


Figure 1. Flow diagram of strained dairy production

The extraction and characterization of the volatile compounds were carried out by headspace (HS)/solid phase microextraction (SPME)/Gas Chromatography (GC)/Mass Spectrometry (MS) analysis, which were able to detect the most volatile compounds. Ten g of the strained dairy sample was immediately transferred in 20 mL head space vial containing 1 g NaCl (Agilent, USA). The vials were sealed using crimp-top caps with PTFE/silicone headspace septa (Agilent, USA) and immediately frozen at -20°C until use. Prior to analysis, frozen samples were thawed at 4°C overnight. At the time of solid phase microextraction analysis, the vials were placed in a water bath with temperature control

and stirring. The sample vials were equilibrated for 30 min at 60°C in water bath then a 50/30 µm DVB/CAR/PDMS (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane) fibre (Supelco, Bellefonte PA.,USA) was exposed to the sample headspace for 40 min at 60°C. Several preliminary tests were carried out to optimize solid phase microextraction (SPME) system. Identification and estimation of volatile compounds was carried out according to procedure described by Guler et al. [18].

## Apparent Viscosity

Apparent viscosity (millipascal-seconds, mPas) was measured according to Felfoul et al. [19] with minor modification using a Selecta rotational viscometer with Spindle No 7 at 200 rpm (J. P. Selecta, Barcelona, Spain). Viscosity measurements were carried out at 5°C, with the sample in a 250 mL beaker. Strained product was gently stirred for 20 s before analysis.

## Sensory Analysis

Sensory evaluation was performed by 10 experienced panelists. The panel consisted of academic staff and students from the Department of Food Engineering in Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey. Strained product was removed from refrigerator (4°C) 1 h prior to sensory evaluation, kept at room temperature (22±2°C). According to procedure stipulated by the Bodyfelt et al. [20], the product is graded on a 20-point scale as follows: 5 points maximum for whey separation, 5 points maximum for spreadable, 5 points maximum for odour and 5 points maximum for taste. By using a 9-point hedonic scale (1=dislike extremely, 5=neither like nor dislike, 9=like extremely), panelists rated overall acceptability.

## Statistical Analysis

A factorial arrangement (5x3) was set up to study the influence of the following factor: storage time (5) using

three replicates. A total of 15 samples were investigated on 1, 7, 14, 21 and 28 days. All analyses were conducted at least twice. One-way (ANOVA) variance analyses of all data obtained from strained dairy product for effects of storage period was performed using SPSS (Version 17.00) statistic program [21]. The mean differences were analyzed using Duncan's multiple-range test at least  $P<0.05$  significance.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Physicochemical Aspects of Strained Dairy Product

As presented in Table 1, there were no significant differences in total solids contents of strained product during the first 14 days of storage. However, it decreased significantly ( $P<0.001$ ) at the latter days of storage. A sharp decrease in total solids, and also fat, protein and titratable acidity (Fig. 2) could be related to substances such as CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub> formed from degradation of protein and fat by microbial enzymes in strained product since they lead to the alkalization and decrease in total solids of fermented products [1, 22]. The pH value increased significantly ( $P<0.05$ ) on day 7 (Fig. 2). The increase in acidity up to 14 days is not accompanied by a strong decrease in pH, probably due to HCO<sub>3</sub> formation as a result of reaction between H<sup>+</sup> and CO<sub>2</sub> and/or the presence of substances such as citrate capable of neutralizing H<sup>+</sup> present, and also the increases in esters (Table 2).

Table 1. Basic chemical composition of strained product during refrigerated storage

Chemical Composition	Storage days					P
	1	7	14	21	28	
Total solids (g/100g)	24.33±0.52 <sup>a</sup>	24.14±0.80 <sup>a</sup>	24.77±0.26 <sup>a</sup>	21.98±0.88 <sup>b</sup>	20.64±0.52 <sup>b</sup>	***
Fat (g/100g)	9.33±0.52 <sup>b</sup>	9.83±0.51 <sup>b</sup>	11.00±0.27 <sup>a</sup>	9.45±0.27 <sup>b</sup>	8.75±0.22 <sup>b</sup>	**
Protein (g/100g)	8.83±0.21 <sup>b</sup>	9.91±0.15 <sup>b</sup>	11.50±0.16 <sup>a</sup>	10.88±0.13 <sup>ab</sup>	9.66±0.09 <sup>b</sup>	**
Carbohydrate (g/100g)	3.59±0.32 <sup>a</sup>	1.82±0.08 <sup>b</sup>	0.40±0.05 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>c</sup>	0.14±0.01 <sup>c</sup>	***
Salt (g/100g)	1.05±0.09 <sup>b</sup>	1.28±0.03 <sup>b</sup>	1.67±0.04 <sup>a</sup>	1.52±0.06 <sup>ab</sup>	1.76±0.03 <sup>a</sup>	**
Ash (g/100g)	0.95±0.08 <sup>b</sup>	1.25±0.05 <sup>b</sup>	1.78±0.07 <sup>a</sup>	1.71±0.02 <sup>a</sup>	1.75±0.04 <sup>a</sup>	*

<sup>a-c</sup> Different letters in the same row are significantly different (\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ ) between values for storage days.

The mean values of total solids, fat, protein and ash of strained dairy product were similar to those reported by Guler & Sanal [4] for Torba yogurt and by Musaiger et al. [23] for Labneh. The pHs were slightly higher and titratable acidity values were lower than those previously reported for Torba yogurt [4]. This could be attributed to the low inoculation ratio of yogurt culture also the use of kefir grains as culture.

## Carbohydrates

As shown in Fig. 3., lactose and glucose decreased significantly ( $P<0.01$ ) up to 14 and 21 days of storage, respectively. Afterwards, they did not change. However, galactose increased significantly ( $P<0.01$ ) during the first 14 days of storage. This is probably a consequence of hydrolysis of lactose by lactic acid bacteria [24] and by yeasts [2]. Galactose was not detected between 21 and 28 days of storage. In this time, it may be utilized by yeasts and/or heterofermentative bacteria as carbon source [2, 22]. After 14 days of storage, microbial flora

in strained product could have changed in favor of heterofermentative bacteria and yeasts due to the increases in ethanol and acetic acid production.

## Organic Acids

Organic acids are shown in Figure 4. As expected, the primary organic acid was lactic acid. Its concentration ranged from 11154 mg/kg to 12422 mg/kg. Lactic acid decreased significantly ( $P<0.05$ ) on day 14, after that it remained stable. This result was consistent with increases in galactose and ethanol concentrations on day 14. After this period, possible biochemical changes could be carried out via glucose and galactose by heterofermentative lactic acid bacteria or yeast due to the high ethyl acetate (Fig. 5), succinic acid (Fig. 4b) and acetic acid (Fig. 4c) concentrations. The lactic acid concentration was higher than that reported by Guler [10] for yogurt and by Keskenas et al. [25] for kefir. This may be due to the high total solid content of strained product.

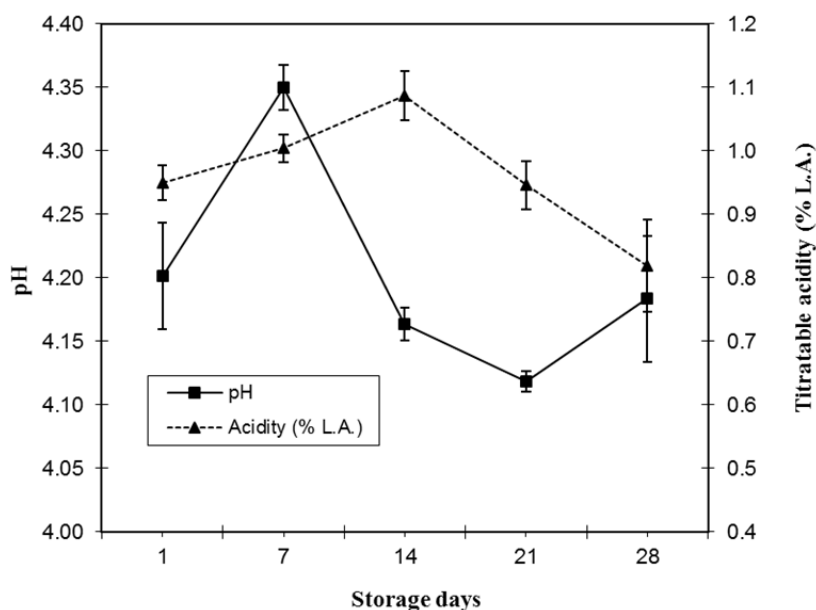


Figure 2. Variations in pH values and titratable acidity of strained product manufactured using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage. The error bars are indicated standard deviation (n=3)

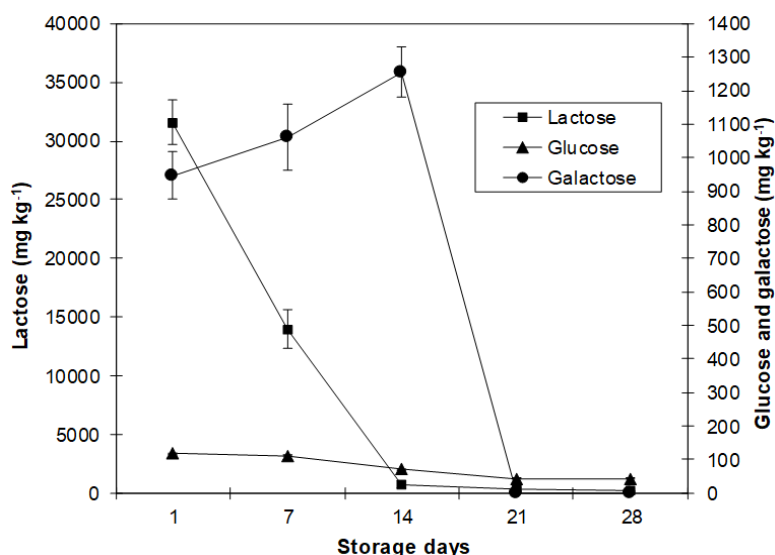


Figure 3. Variations in carbohydrates of strained product manufactured using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage. The error bars are indicated standard deviation (n=3)

Insignificant change in pyruvic acid was observed up to 14 days whereas it decreased significantly ( $P < 0.05$ ) on day 21 and slightly increased at the end of storage. This result was complied with decrease in glucose and increases in acetic acid and ethyl acetate since pyruvic acid is an intermediate product in glucose metabolism. It is probably converted to ethanol and acetic acid by acetic acid bacteria and yeast. Citric acid concentration decreased significantly ( $P < 0.01$ ) from 1806 mg/kg on day 1 to 1237 mg/kg on day 14 (Fig.4b.), after that it showed a slight decrease trend towards to the end of storage. This result was inconsistent with that reported by Guzel-Seydim et al. [8] for kefir whereas it was similar to the findings of Gronnevik et al. [2] for kefir and of Guler [10] for yogurt. Succinic acid was found for the

first time in yogurt and kefir. It may be formed as a consequence of citrate metabolism by yeasts and probably some heterofermentative *Lactobacillus* strains since yeasts such as *S. cerevisiae* disrupting in succinate dehydrogenase enzyme in the absence of oxygen can dramatically accumulate succinate via citrate [26]. As shown in Fig. 4b, succinic acid increased significantly ( $P < 0.001$ ) from 383 mg/kg on day 7 to 643 mg/kg on day 21. No significant differences in succinic acid were observed between days 1 and 7, also days 21 and 28. Throughout the 21 days of storage, increases in succinic acid were complied with decreases in citric acid and glucose. High succinic acid concentration of strained compared with yogurt and kefir may be an important *Bacteroides* virulence factor for peoples [27].

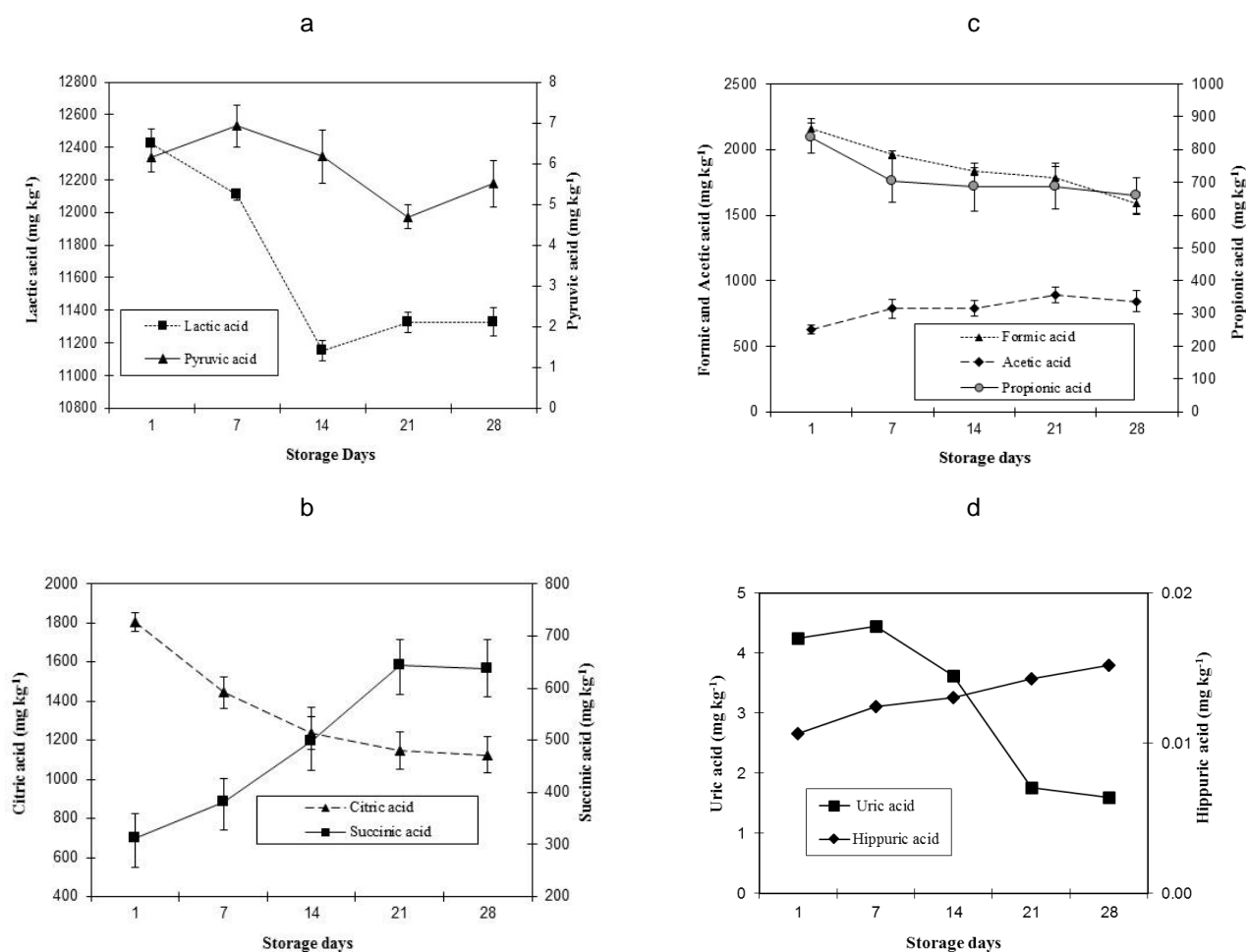


Figure 4. Variations in (a) lactic acid and pyruvic acid, (b) citric acid and succinic acid, (c) formic acid, acetic acid and propionic acid (d) uric acid and hippuric acid of strained product manufactured using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage. The error bars are indicated standart deviation. (n=3)

Like succinic acid, formic acid was detected for the first time in kefir. Insignificant changes in formic acid were observed up to 21 days of storage, but it decreased significantly ( $P < 0.05$ ) at the end of storage (Fig. 4c). Formic acid may have been converted to other substances such as ether methoxy (Table 2). After one day of storage, propionic acid decreased significantly ( $P < 0.05$ ). This could be attributed to increase in propionic acid ethyl ester. However, acetic acid together with acetate esters increased during storage up to 21 days. This could be explained by the ongoing acetic acid production via citrate, lactose or ethanol by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, heterofermentative lactic acid bacteria or acetic acid bacteria, respectively [28]. As shown in Fig. 4d, hippuric acid, is consisting of benzoic acid, was found at the lowest level initially, but it increased significantly ( $P < 0.05$ ) after 21 days. Uric acid decreased significantly ( $P < 0.01$ ) from day 14 to the end of storage. This could be attributed to the utilization of uric acid as nitrogen source by microorganism in strained product since some gasses such as  $\text{CO}_2$  and  $\text{NH}_3$  are produced as a result of urea hydrolysis [1]. This finding was agreement with decreases in total solids and titratable acidity after 14 days of storage.

### Volatile Organic Compounds (VOCs)

As shown in Table 2, a total of 42 volatile compounds were identified in strained product during storage, including 6 alcohols, 10 esters, 6 acids, 6 ketones, 10 compounds with benzene, 1 alkane, 1 alkene, 1 amine and 1 ether. Ethanol, 3-methyl butanol, benzenemethanol, ethyl acetate, ethyl octanoate, oxime-methoxy phenyl and n-ethyl-1,3-dithioisindoline were the most abundant compounds, accounting for 90% of the total VOCs identified in strained product (Fig. 5). The present product was different from yogurt with respect to distribution of VOCs since carbonyl compounds such as acetaldehyde, diacetyl, and acetone were no detected. It was probably that the high ethanol content of the product might have been suppressed the activity of yogurt bacteria. Mena and Aryana [29] reported that ethanol incorporation yogurt was significantly affected *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* counts, and the magnitude of cell death increased with increase in ethanol concentration. However, the strained product was similar to kefir in terms of the high ethanol, 3-methyl butanol and ethyl acetate contents [2, 6, 7] and to soft cheeses with respect to the most VOCs such as oxime-methoxy

phenyl, n-ethyl-1,3-dithioisindoline, ethyl octanoate, benzyl alcohol, p-cresol, vinyl benzene and dimethylamine [30]. As indicated in Table 2, 13 volatile compounds were identified for first time in strained product when compared to yogurt and kefir.

During storage, ethanol was principle VOCs in strained product as kefir [2, 7]. It increased significantly ( $P < 0.01$ ) up to 14 days of storage, and it did not any change at the rest days of storage (Fig. 5). This could be attributed to the increase in percentage composition of ethyl ester compounds despite the formation of ethanol. Three-

methyl-1-butanol was the second most abundant alcohol. It decreased significantly ( $P < 0.01$ ) during storage. Decreased 3-methyl-1-butanol would be due to decreased leucine uptake by yeasts and/or increased 3-methyl-1-butanol acetate during storage. Three-methyl-butanol also 2-methyl propanol can be formed by reduction of aldehydes produced from Leucine and Valine amino acids via Strecker degradation. Similarly, phenyl alcohols (benzene methanol) or phenyl derivatives can be formed from amino acids as phenylalanine and tyrosine [31].

Table 2. The percentage compositions of volatile compounds identified in strained product during refrigerated storage

No	Compounds	RI	No	Compounds	RI
<i>Alcohols</i>			<i>Esters (continued)</i>		
1	Ethanol <sup>§#</sup>	941.45	22	Hexanoic acid, ethyl ester <sup>°</sup>	1257.14
2	2-Methyl-1-propanol <sup>§</sup>	1130.11	23	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester <sup>°</sup>	1380.90
3	3-Methyl-1-butanol <sup>§#</sup>	1236.36	24	Octanoic acid, ethyl ester <sup>§</sup>	1470.35
4	2-Heptanol <sup>°</sup>	1347.24	25	Nonanoic acid, ethyl ester	1577.18
5	2,3-Butanediol <sup>°</sup>	1615.79	26	Decanoic acid, ethyl ester <sup>°</sup>	1683.46
6	Furfural alcohol (2-Furan methanol) <sup>§</sup>	1710.66	27	Ethyl-9-decenoate	1739.34
<i>Ketones</i>			28	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester ) a,a'-dipyridyl	2159.68
7	2-Heptanone <sup>§</sup>	1211.69	<i>Compounds containing benzene</i>		
8	3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin) <sup>§#</sup>	1331.16	29	N-Ethyl-1,3-dithioisindoline	878.98
9	2-Nonanone <sup>§</sup>	1427.91	30	Styrene (Vinyl benzene) <sup>§</sup>	1293.07
10	9H-pyrrolo[3'4':3,4]pyrrolo[1,2-a]phthalazine-9,11(10H)dione, 10-ethyl-8-penhyll	1568.46	31	11H-Dibenzo[b,e] [1,4]diazepin-11-one, 5,10-dihydro-5-[3-(methylamino)propyl]	1495.93
11	δ-Amylvalerolactone	2261.43	32	8-Methylisothiazolo[4,5-c]-2,1,3-benzothiadiazole	1582.14
12	2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-pentyl- (δ-valerolactam)	>2200	33	Benzaldehyde <sup>§</sup>	1584.11
<i>Acids</i>			34	Oxime-, methoxy-phenyl <sup>§</sup>	1771.31
13	Acetic acid <sup>§#</sup>	1491.86	35	2-Phenylethyl acetate <sup>°</sup>	1890.27
14	Butanoic acid <sup>§#</sup>	1673.68	36	Benzenmethanol (Benzyl alcohol)	1992.16
15	Pentanoic acid <sup>§#</sup>	1715.57	37	β-Resorcylic acid (2,5-dihydroxy benzoic acid)	2048.41
16	Hexanoic acid <sup>§#</sup>	1895.58	38	p-Cresol	2111.29
17	Octanoic acid <sup>§#</sup>	2078.34	<i>Amines</i>		
18	Decanoic acid <sup>§#</sup>	2279.84	39	Dimethylamin	615.29
<i>Esters</i>			<i>Alkane-Alkene</i>		
19	Acetic acid, ethyl ester <sup>§</sup>	902.63	40	2-Methoxycarbonyl-2-(cis-2'pentenyl)-3-Methoxycarbonylcethylcyclopentene	1525.50
20	Butanoic acid ethyl ester <sup>§</sup>	1059.89	41	Pristane <sup>§</sup>	1532.89
21	1-Butanol, 3-methyl, acetate	1148.33	<i>Ether</i>		
			42	Diisopropyl ether <sup>#</sup>	712.24

RI= retention index based on identified compound retention times (RTs), calculated from linear equation between each pair straight alkanes (C<sub>5</sub>-C<sub>25</sub>). <sup>§</sup>Compounds were previously determined in yoghurt and kefir. <sup>°</sup>Compounds were previously determined in only kefir. <sup>#</sup>Compounds verified with authentic standards. All compounds were also considered to be tentative (based on the MS library Wiley7n.1/ Nist

Of ester compounds, 3-methyl butanol acetate, nonanoic acid ethyl ester, ethyl-9-decenoate and Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester ) a,a'-dipyridyl were found for the first time in yogurt and/or kefir. Ethyl acetate was the most abundant ester in strained product (Fig. 5). It increased significantly ( $P < 0.01$ ) up to 21 days of storage and latter significantly decreased. The value of ethyl acetate was

similar to that reported by Aghlara et al. [6]. Unlike ethyl acetate, the other esters increased steadily up to the end of storage (data not shown). These findings were well agreement with the decreases in their corresponding acids except for acetic acid. As known, esters are formed by a reaction between alcohols and acids via alcohol acyl transferase enzyme.

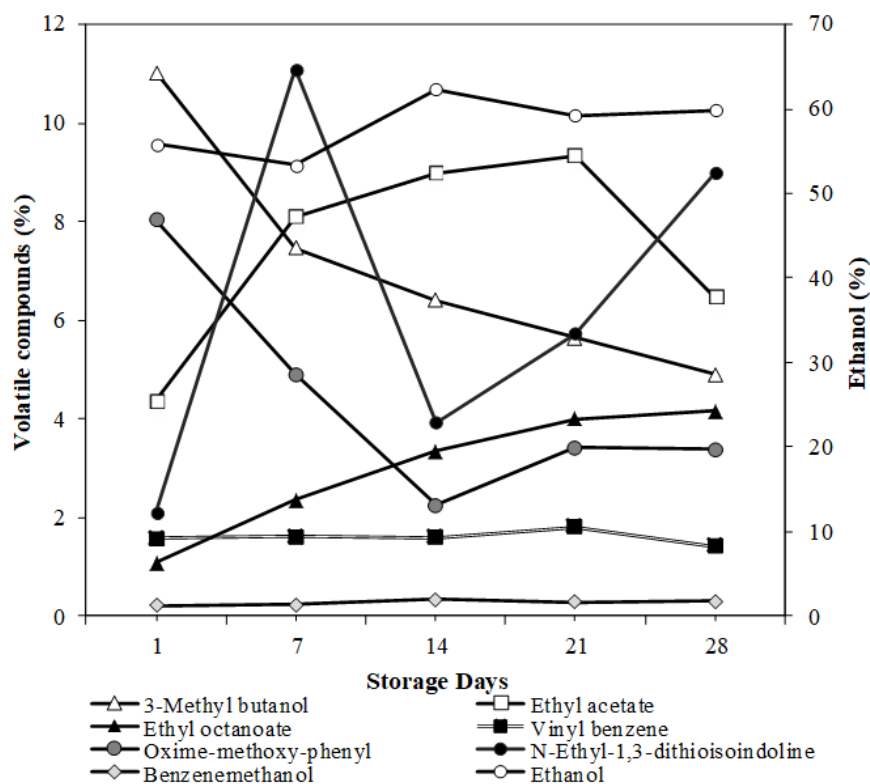


Figure 5. The main volatile compounds in strained product during refrigerated storage (n=3)

Of benzene-containing compounds oxime methoxy phenyl, n-ethyl-1,3-dithioisindoline, benzenmethanol (benzyl alcohol) and styrene (vinyl benzene) were the most plentiful compounds identified in strained product (Fig. 5). These compounds exhibited fluctuations as increase and decrease during storage. This could be attributed to the microbial flora in strained product. Compounds n-ethyl-1,3-dithioisindoline, 11H-dibenzo[b,e] [1,4]diazepin-11-one, 5,10-dihydro-5-[3-(methylamino)propyl], 8-methylisothiazolo[4,5-c]-2,1,3-benzothiadiazole, benzenmethanol (benzyl alcohol),  $\beta$ -resorcylic acid (2,5-dihydroxy benzoic acid), *p*-cresol were identified for the first time in yogurt and/or kefir. The other compounds with benzene were previously found in kefir [6] and yogurt [32]. High levels of benzene derivatives could be attributed to the yeast activation since some yeasts have extracellular enzymes which are accelerated the cyclocondensation of 2-aminothiophenol and aldehydes [33]. The presence of inorganic compounds such as NaCl in medium may catalysis this cyclocondensation.

### Apparent Viscosity

During the storage, the apparent viscosity of strained product decreased significantly ( $P < 0.05$ ) from 5754 mPa to 1050 mPa (Fig. 6). This result was different from findings of Guler [10] for yogurt. However, decrease in apparent viscosity with storage time was similar to that reported by Irigoyen et al. [34] for kefir. Decrease in

apparent viscosity would be explained by the decrease in strength and number of bonds between casein micelles in strained product. Apparent viscosity values found for strained product during storage were higher than that in kefir [34, 35] and in yogurt [10]. This could be attributed to the high total solids content of strained product compared to kefir and yogurt.

### Sensory Analysis

Sensory analyses scores are shown in Figure 7. As the strained product was unacceptable by panelists at day 28, it is shown in Figure 7. Scores of sensory properties for taste, odor, whey separation, spreadable and also overall acceptability increased up to 14 days of storage and decreased significantly ( $P < 0.01$ ) on day 21. According to panelists' reports, they perceived intensively "fruity", "bitter", "salty" and "sour" taste attributes after 14 days of storage and a decrease in "milky" taste intensity on day 21. These results were consistent with chemical and physical findings since a considerable increase in ethyl octanoate and ethyl decanoate characterizing by "apricot", "wine" and "fruity", "grape" flavor notes, and 2-phenylethyl acetate and *p*-cresol characterizing by "medicinal" and "heavy" flavor [30] was observed after 14 days of storage. Viscosity also decreased significantly ( $P < 0.01$ ) on day 28.

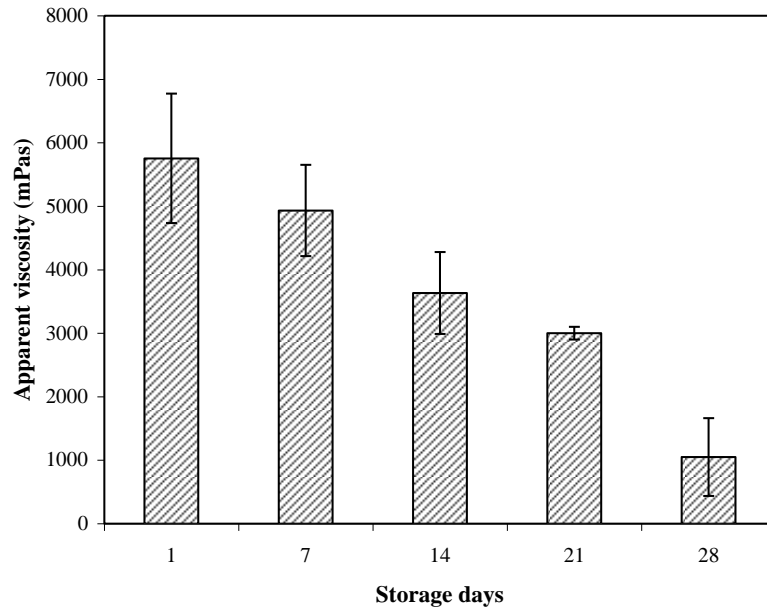


Figure 6. Variations in viscosity values of strained product manufactured using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage. The error bars are indicated standart deviation (n=3)

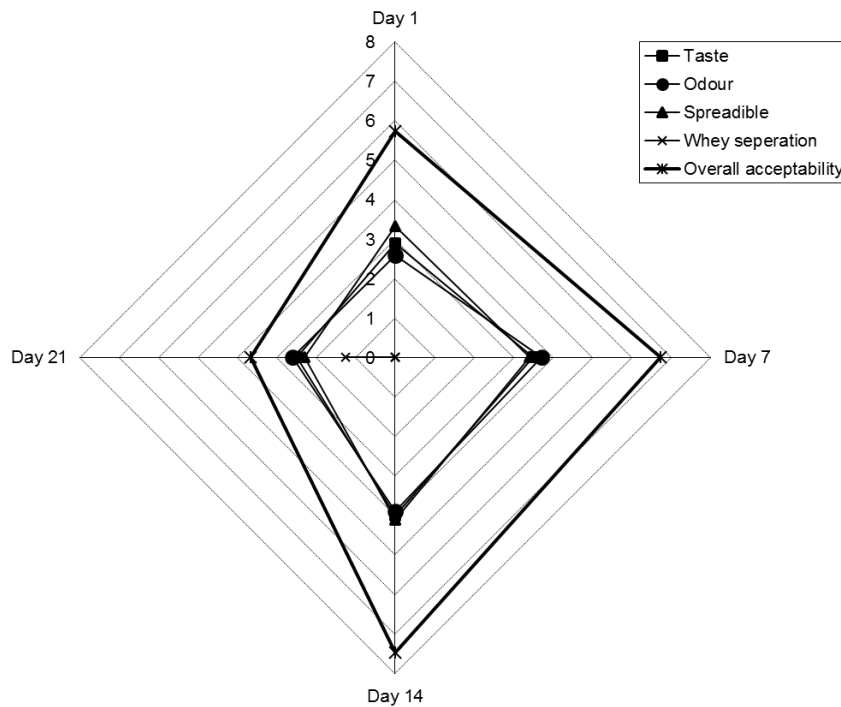


Figure 7. Scores of taste, odour, spreadible and whey separation (out of 5), and overall acceptability (out of 9) for sensory evaluation of strained product manufactured using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage (Except for day 28)

Succinic acid may have resulted in an unacceptable flavor in strained product, reaching a maximum level of 643 mg/kg on day 21 since it is characterized by a strong salty flavor and acidic taste [36]. At the end of storage, the occurrence of diisopropyl ether might also have been caused unacceptance of strained product by panelists. It is noteworthy that the panelists have liked

product with a pronounced milky taste and a certain viscosity level.

**CONCLUSION**

We concluded that strained product using kefir grains and yogurt culture may be produced. With respect to

changes in organic acids and the distribution of most VOCs, strained product showed a different trend from yogurt and kefir according to available literature. Significant changes in physicochemical properties of strained product were observed after 14 day of storage. Decreases in ketones and acids and also increases in esters and some benzene derivatives towards the end of storage may have adversely affected product acceptability. Shelf-life of this product was shorter than strained yogurt. However, shelf-life of product could be extended by changing of ratios of grains and/or yogurt culture used as inoculate. When compared to yogurt and kefir, such a product may advice for lactose intolerance humans due to its lactose content at trace level.

In the further studies, the main objects will be to determine the both microbial count and to make their identification, to detect CO<sub>2</sub> content and to produce using the different ratios of kefir grains and yogurt culture.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Arzu Zeynep Çalı, Burcu Mungan, Melis Ozguner, Bilge Sengul for technical assistance in laboratory. GC-MS and HPLC in this work were supported by the T.R. Prime Ministry State Planning Organization (DPT) project (Project no: 02 K 120860).

## REFERENCES

- [1] Tamime, A.Y., Robinson, R.K. (1999). *Yogurt Science and Technology*. 2<sup>nd</sup> Ed., Woodhead, Cambridge, U.K.
- [2] Gronnevik, H., Falstad, M., Narvhus, J.A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21, 601-606.
- [3] Leite, A.M.O., Leite, D.C.A., Del Aguile, E.M., Alvares, T.S., Peixota, R.S., Miguel, M.A.L., Silva, J.T., Paschoalin, V.M.F. (2013). Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *Journal of Dairy Science*, 96, 4149-4159.
- [4] Guler, Z., Sanal, H. (2009). The essential mineral concentration of Torba yoghurts and their wheys compared with yoghurt made with cows', ewes' and goats' milks. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60, 153-164.
- [5] Brady, L.J., Gallaher, D.D. (2000). The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *The Journal of Nutrition*, 130, 410-414.
- [6] Aghlara, A., Mustafa, S., Manap, Y.A., Mohamad, R. (2009). Characterization of headspace volatile flavor compounds formed during kefir production: application of solid phase microextraction. *International Journal of Food Properties*, 12, 808-818.
- [7] Beshkova, D.M., Simova, E.D., Frengova, G.I., Simov, Z.I., Dimitrov, Z.H.P. (2003). Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. *International Dairy Journal*, 13, 529-535.
- [8] Guzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K. (2000). Organic acids and volatile flavour components evolved during refrigerated storage of kefir. *Journal of Food Composition and Analysis*, 83, 275-277.
- [9] Guler, Z., Tasdelen, A., Senol, H., Kerimoğlu, N., Temel, U. (2009). The determination of volatile compounds in set-type yoghurts by using static headspace gas chromatographic method. *The Journal of Food*, 3, 137-142.
- [10] Guler, Z. (2013). Organic acid and carbohydrate changes in carrot and wheat bran fortified set-type yoghurts at the end of refrigerated storage. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 1, 1-6.
- [11] Guler, Z., Gursoy-Balci, A. (2011). Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes', goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 127, 1067-1071.
- [12] Guler, Z., Park, Y.W. (2011). Characteristics of physico-chemical properties, volatile compounds and free fatty acid profiles of commercial set-type Turkish yoghurts. *Open Journal of Animal Sciences*, 1, 1-9.
- [13] Lucey, J.A., Singh, H. (1998). Formation and physical properties of acid milk gels: A review. *Food Reviews International*, 7, 529-542.
- [14] Behannis, M., Kayanush, J.A. (2012). Influence of ethanol on probiotic and culture bacteria *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* within a therapeutic product. *Open Journal of Medical Microbiology*, 2, 70-76.
- [15] Guler, Z., Tekin, A., Park, Y.W. (2016). Comparison of biochemical changes in kefir produced from organic and conventional milk at different inoculation rates of kefir grains. *Journal of Food Science and Nutrition Therapy*, 2, 8-14.
- [16] AOAC (2003). *Official Methods of Analysis*. Vol.1.17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- [17] Fernandez-Garcia, E., McGregor, J.U. (1994). Determination of organic acids during the fermentation and cold Storage of yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 77, 2934-2939.
- [18] Guler, Z., Karaca, F., Yetisir, H. (2013). Volatile compounds in the peel and flesh of cucumber (*Cucumis sativus* L.) grafted onto bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) rootstock. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88, 123-128.
- [19] Felfoul, I., Borchani, M., Samet-Bali, O., Attia, H., Ayadi, M.A. (2017). Effect of ginger (*Zingiber officinalis*) addition on fermented bovine milk: Rheological properties, sensory attributes and antioxidant potential. *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology*, 44, 2400-2409.
- [20] Bodyfelt, F.W., Tobias, J., Trout, G.M. (1988). *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. p. 227, Van Nostrand Reinhold, New York.
- [21] Coakes, S.J., Steed, L.G., Ong, C. (2009). *Analysis without anguish using SPSS Version 17.0 for windows*. John Willey and Sons, London, UK.



- [22] Zourari, A., Accolas, J.P., Desmazeaud, M.J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review: *Lait*, 72, 1-34.
- [23] Musaiger, A.A., Al-Saad, J.A., Al-Hooti, D.S., Khunji, Z.A. (1998). Chemical composition of fermented dairy products consumed in Bahrain. *Food Chemistry*, 61, 49-52.
- [24] Robinson, R.K., Tamime, A.Y., Wszolek, M. (2002). Microbiology of fermented milks. In Dairy microbiology handbook, Edited by R.K. Robinson, John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 367-430.
- [25] Kesekas, H., Dinkci, N., Seekin, K., Kinik, O., Gonc, S., Ergonul, G.P., Kavas, G. (2011). Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of soymilk kefir. *African Journal of Microbiology Research*, 5, 3737-3746.
- [26] Kregiel, D. (2012). Succinate dehydrogenase of *Saccharomyces cerevisiae* –the unique enzyme of TCA cycle – current knowledge and new perspectives. In Dehydrogenases, Edited by R.A. Canota, In Tech, Rijeka, Croatia, pp. 211-235.
- [27] Rotstein, O.D., Pruet, T.L., Fiegel, V.D., Nelson, R.D., Simmons, R.L. (1985). Succinic acid, a metabolic by-product of bacteroides species, inhibits polymorphonuclear leukocyte function. *Infection and Immunity*, 48, 402-408.
- [28] Ostlie, H.M., Helland, M.H., Narvhus, J.A. (2003). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 17-27.
- [29] Mena, B., Aryana, K.J. (2012). Influence of ethanol on probiotic and culture bacteria *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* within a therapeutic product. *Open Journal of Medicinal Microbiology*, 2, 70-76.
- [30] Sable, S., Cotteceau, G. (1999). Current knowledge of soft cheeses flavor and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4825-4836.
- [31] McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheese during ripening: A review. *Lait*, 80, 293-324.
- [32] Guler, Z. (2007). Changes in salted yogurt during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 235-237.
- [33] Gupta, A., Rawat, S. (2010). Synthesis and Cyclization of Benzothiazole: Review. *Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3, 13-23.
- [34] Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613-620.
- [35] Ergin, F., Öz, G., Özmen, Ü., Erdal, Ş., Çavana, E., Küçükçetin, A. (2017). Effect of homogenization of milk on physicochemical and microbiological properties of kefir. *Akademik Gıda*, 15, 368-376.
- [36] Kaneuchi, C., Seki, M., Komagata, K. (1988). Production of succinic acid from citric acid and related acids by lactobacillus strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 3053-3056.
-

## Effect of Frozen Storage and Modified Atmosphere Packaging Followed by Cold Storage on Some Quality Characteristics of Semi-Dried Persimmons

Hakan Karaca , Elif Kurşun 

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Pamukkale University, 20070, Kinikli, Denizli, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 30.01.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 11.10.2019

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): [hkaraca@pau.edu.tr](mailto:hkaraca@pau.edu.tr) (H. Karaca)

☎ +90 258 296 30 85 📠 +90 258 296 32 62

### ABSTRACT

Dried persimmon is a relatively new product for Turkish consumers. Thus, the quality characteristics and storage conditions of this product have not yet well-defined. In this study, the effect of frozen storage and modified atmosphere packaging (100% N<sub>2</sub> and 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>) followed by cold storage on microbiological, physicochemical and sensory quality of semi-dried persimmons was investigated. Both modified atmosphere packaging and frozen storage were effective in suppressing the growth of total aerobic mesophilic bacteria, yeast and mold. Increase in L color values, an indicator of sugar migration, was observed in air and modified atmosphere packaged samples. Increases in a and b color values were recorded during frozen storage probably due to ongoing browning reactions. Moisture contents and firmness values merely changed during storage and were not affected by any of the treatments. Sensory analysis results revealed that color, taste and general acceptability scores of modified atmosphere packaged and freeze-stored samples were significantly higher than those of air packaged ones. Therefore, both modified atmosphere packaging and frozen storage can be recommended to maintain the quality characteristics of semi-dried persimmons.

**Keywords:** Modified atmosphere packaging, Frozen storage, Semi-dried fruits, Shelf life

### Yarı-Kurutulmuş Trabzon Hurmalarının Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Donmuş Depolamanın ve Modifiye Atmosferde Paketleme Sonrası Soğuk Depolamanın Etkisi

#### ÖZ

Kurutulmuş Trabzon hurması, Türk tüketiciler için nispeten yeni bir üründür. Bu nedenle, söz konusu ürünün kalite karakteristikleri ve depolama koşulları henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bu çalışmada, donmuş muhafazanın ve modifiye atmosferde (%100 N<sub>2</sub> and %30 CO<sub>2</sub>+%70 N<sub>2</sub>) paketleme sonrası uygulanan soğukta depolamanın yarı-kurutulmuş Trabzon hurmalarının mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerine etkisi incelenmiştir. Hem modifiye atmosferde paketleme hem de donmuş muhafaza toplam aerobik mezofilik bakteri, maya ve küf gelişimini baskılamada etkili bulunmuştur. Normal ve modifiye atmosferde paketlenen örneklerde, şeker göçünün bir göstergesi olarak L renk değerlerinde artış gözlenmiştir. Donmuş muhafaza edilen örneklerde, gerçekleşen esmerleşme reaksiyonları nedeniyle a ve b renk değerlerinde artışlar meydana gelmiştir. Örneklerin nem içerikleri ve sertlik değerleri depolama boyunca istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde değişmemiş ve bu değerler gerçekleştirilen uygulamalardan etkilenmemiştir. Duyusal analiz sonuçları göstermiştir ki, modifiye atmosferde paketlenen ve donmuş muhafaza edilen örneklerin renk, tat ve genel kabul edilebilirlik skorları hava atmosferinde paketlenen örneklerinkinden yüksektir. Bu nedenle, gerek modifiye atmosferde paketleme gerekse donmuş muhafaza teknikleri yarı-kurutulmuş Trabzon hurmalarında kalitenin korunması için önerilebilir.

**Keywords:** Modifiye atmosferde paketleme, Donmuş muhafaza, Yarı-kuru meyve, Raf ömrü

## INTRODUCTION

Persimmon (*Diospyros kaki* L.), belonging to the *Ebenaceae* family, was originated from Far East Asia. This plant is distributed from tropical to temperate climates in a wide range of areas around the world [1]. There are more than 400 species of the plant, but *Diospyros kaki* L., *D. lotus* L., *D. oleifera* and *D. virginiana* L. are the most commercially important ones. The most common cultivars grown worldwide are

astrigent 'Hachia' and non- astrigent 'Fuyu' [2]. China is the biggest producer of persimmon in the world. According to the FAO statistics, this country produced approximately 4.2 million tons of persimmons in 2017 [3]. Korea, Japan, Brazil and Azerbaijan are the other leading persimmon producer countries. Turkey also produces persimmons and the production amount has increased each year since the early 2000s [4]. This upward trend can be clearly seen in Figure 1.

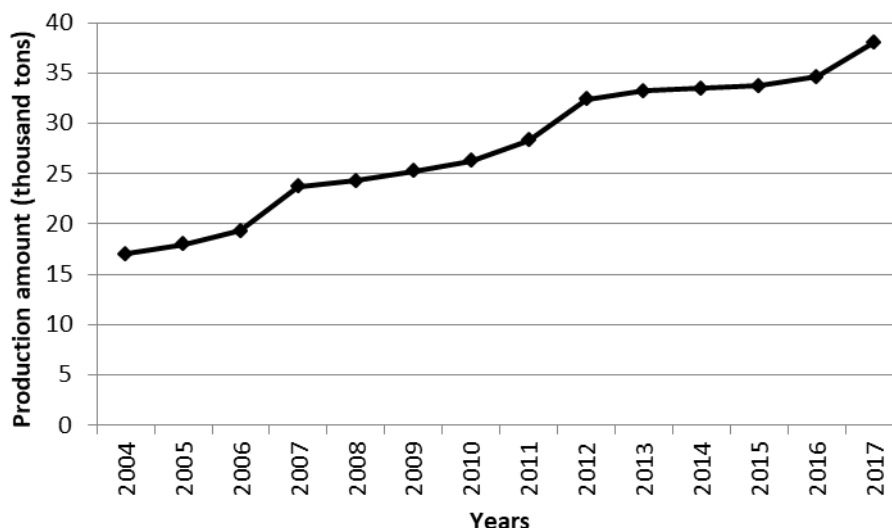


Figure 1. Changes in annual persimmon production in Turkey over the years from 2004 to 2017 [4]

Persimmon is a climacteric fruit. The respiration of climacteric fruit increases at the onset of ripening and is related to the ethylene production of the fruit. Normally, persimmon produces a small amount of ethylene but the sensitivity of the fruit to ethylene is extremely high [5]. Storing the fruit at low temperatures (typically at 0°C) can be used to hold fruit for 1-3 months. However, the fruit is also very sensitive to chilling injury, a significant quality loss expressed as softening and gelling of flesh; flavor, odor, juice and sweetness losses; flesh darkening and mottling, and skin translucence which is generally observed in the fruit held at higher temperatures, e.g., 5°C [6]. Therefore, storing of persimmons as a fresh fruit can be challenging. For this reason, this fruit can be generally processed into products such as jam, marmalade, etc. or preserved by canning or drying techniques.

Regardless of which product is produced (jam, marmalade, fresh, canned or dried fruit), harvesting the fruit at the correct maturity is crucial in terms of product quality. Skin color, fruit flesh firmness, soluble solid and tannins contents are common parameters used for indicating harvest maturity. Kuzucu and Kaynas [7] indicated astringency caused by high tannin content and over-softening as the main problems in early- and late-harvested fruits, respectively. For persimmons for fresh consumption in the Çanakkale Region, the authors suggested the second half of November as the appropriate harvesting time. The best harvest time for persimmons to be dried should be just before this, in

other words, the period in which the fruit color changes from green to yellow [8].

In Turkey, persimmons are dried conventionally in open air by some grower families with limited means, therefore the production amount are not very high. For dried persimmon production, harvested fruits are simply washed to remove dirt and dust, and peeled with a knife. The peeled fruit are tied consecutively with long strings, hung in a high position and then let dry as whole fruit in open air. The moisture levels of dried persimmons were reported as 35 and 19% by Tulek and Demiray [9] and Bolek and Obuz [10], respectively. Drying can be thought as a preservation method for persimmons and can also be employed as a way of producing "a new product" from this fruit. Actually, dried persimmons have been produced in the Far East countries for years; however production and consumption of this product has recently started in Turkey. Dried persimmon production has also appealed to many investigators and various research studies have been conducted by Turkish scientists in recent years [8-15]. Since it is a relatively new product and not known very well in the whole country, it has not been cited in Turkish legislations and thus any characteristics (even moisture content) of dried persimmons have not been regulated by legislation.

In domestic production, in order to prevent microbiological deterioration, persimmons are sometimes over-dried and consequently the moisture content of the final product is quite low (<25%). This low

moisture product is resistant to microbial spoilage but the sensory characteristics are usually undesirable. An alternative way to produce dried persimmon is drying the product to relatively high moisture content ( $\geq 30\%$ ). However, at this moisture level, the product is quite susceptible to microbial attack and frozen storage is inevitable. Obviously, it is not a very cost-effective preservation method and scientific community is in search of economical techniques that can maintain microbiological and physicochemical quality of semi-dried persimmons.

Storage conditions are critical issues in maintaining quality of the product after processing. Humidity is one of the most important parameters to be controlled since it is directly related with dehydration and/or rehydration of the product. Storage temperature is also of vital importance in maintaining quality of the product. Storage of dried fruits at refrigerated temperatures preserves sensorial qualities, thereby extending shelf life. Freezing dried fruits allows for extremely longer storage periods but generally thought as a costly process. Vacuum and modified atmosphere packaging techniques could work perfectly for maintaining the quality of dried fruits during storage.

The number of studies focused on the storage conditions of semi-dried fruits, especially of semi-dried persimmons, is very limited. The aim of this study was to investigate the effect of packaging in air and modified atmosphere (100% N<sub>2</sub> and 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>) and subsequent cold storage on microbiological, physicochemical and sensory quality of semi-dried persimmons and to compare the results with those of frozen storage.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Plate count agar (PCA), dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) and sodium chloride were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Microbiological media and the solutions used in the study were prepared in high purity water obtained from TKA Pacific UP/UPW water purification systems (Niederelbert, Germany).

The persimmons used in the study were harvested in late September 2017 from plants grown in an orchard located in Honaz Region in Denizli, Turkey. Fruits of which color was about to change from green to yellow were chosen for harvest. The fruits were washed under running tap water, peeled manually, tied with a string and hung on an overhead bar made of stainless steel. Then, the fruits were let dry in open air for 32 days until the moisture content fell down to  $30\pm 5\%$ . Weather conditions during drying (September 30-October 31, 2017) were as follows: minimum temperature was 8°C, maximum temperature was 28°C and relative humidity ranged between 39.5-91.2% (Data obtained from Turkish State Meteorological Service).

### Packaging and Storage

Semi-dried persimmon samples were packaged using a packaging machine (DZ-260, Seles, Wenzhou Xingye Machinery Equipment Co. Ltd., Beijing, China). Laminated plastic pouches (polyethylene terephthalate coextruded ethyl vinyl alcohol, 25x25 cm, Sesa Ambalaj ve Plastic San. Tic. A.Ş., İzmir, Turkey) were used for air and modified atmosphere packaging of the samples. Based on technical data sheet provided by the supplier, O<sub>2</sub> transfer rate (23°C and 0% RH) and water transfer rate (38°C and 90% RH) of the pouches were less than 5 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> day and 5 g/m<sup>2</sup> day, respectively. The thickness of the bag was measured with a digital caliper (Mitutoyo Co., Kanagawa, Japan) and determined as  $130\pm 2$  µm. Semi-dried persimmons (approximately 200 g) were placed in these plastic pouches. After evacuating the air inside the pouch to a partial pressure of 675.1 mm of Hg by vacuum and flushing the desired gas composition (100% N<sub>2</sub> or 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>) into the package, the pouches were heat-sealed. Then, these packages were placed in a fridge (Vestel GT 366, Manisa, Turkey) at + 4°C for the storage period.

The samples to be frozen were placed in freezer bags (low density polyethylene,  $10\pm 2$  µm thickness, 20x30 cm, Koroplast, Istanbul, Turkey). Then, the bags were heat-sealed using the same machine mentioned above and placed in a deep-freezer (Vestel FT 280, Manisa, Turkey) set at - 18°C. The CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> concentrations in the packages were determined using a portable gas analyzer (Dansensor, Checkpoint, PBI, Ringsted, Denmark) at the beginning and end of storage.

### Microbiological, Physicochemical and Sensory Analyses

For microbiological analyses, 10 g of semi-dried persimmon was put into a stomacher bag and 90 mL of sterile sodium chloride solution (0.85%) was added. The content of the bag was homogenized in a stomacher (Stomacher 400, Seward Medical, London, UK). Serial dilutions were prepared from this homogenizate. TAMB and yeast-mold counts were determined by spread-plating onto PCA and DRBC, respectively. Incubation periods were 24 h at 37°C for TAMB and 3 d at 25°C for yeast-mold.

A colorimeter (CSM 1, PCE Instruments, Southampton, UK) was used to measure L (lightness), a (redness) and b (yellowness) values of the samples in the Hunter color space. The light source was D65 and the measuring aperture was 4 mm. Measurements were taken from five different places on the surface of the fruits and averages of these measurements were reported. The firmness of the samples was measured using a fruit sclerometer (GY-3, Zhejiang Top Cloud-Agri Technology Co., Ltd., Zhejiang, China) with an 8-mm diameter penetrometer tip. The tip was inserted into 3 different places on the surface of the fruits and averages of these measurements were reported. The moisture contents of the samples were determined using a digital moisture analyzer (SMO 01, Scaltec, Göttingen, Germany). Five g of shredded fruit was put into the disk plate analyzer,

dried at 130°C to a constant weight and the moisture content was read out on the display. On each sampling day, three replicates were analyzed for each treatment.

Sensory analysis was conducted by 30 untrained panelists on each sampling day during storage. For each treatment, samples were portioned, coded with randomly chosen 3-digit numbers and served on plastic plates at room temperature. Frozen samples were served after thawing at room temperature within 1 h. Panelists evaluated color, odor, taste, chewiness and general acceptability of the samples on a scale ranging from very poor (1) to very good (5). Spring water was served for rinsing the mouth before testing each sample.

### Statistical Analysis

An analysis of variance (ANOVA) was employed to determine significant differences among means using a statistical package program (MINITAB v. 13, MINITAB Inc., State College, PA, USA). Significant differences among means were identified by Duncan's Multiple Range Test ( $p \leq 0.05$ ) using MSTAT-C statistical software (MSTAT 1991, Michigan State University, MI, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Effect of Frozen Storage and Modified Atmosphere Packaging Followed by Cold Storage on Microbiological Quality of Semi-Dried Persimmons

The counts of TAMB in semi-dried persimmon samples packaged in air and modified atmosphere during storage for 4 months are shown in Figure 2. Initial TAMB counts of the samples were  $1.96 \pm 0.24$ - $2.16 \pm 0.45$  cfu/g. The TAMB counts steadily increased throughout the storage in samples packaged in air. On each sampling day, TAMB counts of these samples were significantly higher than that on the previous sampling day ( $p < 0.05$ ). Significant increases were also observed in the TAMB counts of samples packaged in modified atmosphere, but these increases were much slighter when compared with the ones packaged in air. The TAMB counts of the frozen and modified atmosphere packaged samples were significantly lower than that of the samples packaged in air on each sampling day ( $p < 0.05$ ). There were not significant differences among the TAMB counts of the frozen and modified atmosphere packaged samples at the end of the second, third and fourth months of storage ( $p > 0.05$ ). Gatto et al. [16] investigated the effect of packaging and storage conditions on some quality parameters of semi-dry tomato. The authors indicated that the product stored in modified atmosphere

(30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>) at + 4°C had best quality characteristics and good microbiological stability. On the contrary, Papoff et al. [17] reported that modified atmosphere packaging resulted in no additional improvement on the microbial quality of dried figs stored at + 20°C for 6 months. It can be due to O<sub>2</sub> (2.96%) remained inside the packages used in their study. In our study, the O<sub>2</sub> concentration did not exceed 0.1% in any of the package used for modified atmosphere packaging (data not shown). Certainly, performance of the packaging machine, permeability of the packaging material, O<sub>2</sub> demand of the microorganisms, storage conditions (temperature, etc.) and characteristics of the packaged product determine the success of the modified atmosphere packaging technique.

Similar to TAMB counts, yeast counts of the samples packaged in air significantly increased during storage (Figure 3). There was also a significant increase at the end of storage in yeast counts of the samples stored in 100% N<sub>2</sub> atmosphere ( $p < 0.05$ ). However, this increase was quite low when compared with that determined for the samples packaged in air. On the other hand, yeast counts of the samples packaged in 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub> did not increase significantly at the end of storage period. At the first month of storage, the yeast counts of these samples were even lower than the initial counts ( $p < 0.05$ ), however this effect disappeared over time. Antimicrobial effect of CO<sub>2</sub> was also reported in the past. Panagou et al. [18] reported that the death rate of yeasts in table olives was quite high in the presence of 40 and 100% CO<sub>2</sub> compared to aerobic conditions. El Halouat and Debevere [19] reported that the inhibitory effect of CO<sub>2</sub> against *Zygosaccharomyces rouxii* was pH-dependent. The strains of the yeast showed a high tolerance to CO<sub>2</sub> at high pH values (pH>4.0). The authors reported that even 80% CO<sub>2</sub> did not inhibit the growth of the strains studied.

Mold counts in semi-dried persimmon samples packaged in air and modified atmosphere during storage for 4 months are shown in Figure 4. There were no significant differences in mold counts of the samples packaged in air for the first two months of storage. However, mold counts of these samples increased dramatically in the last two months of storage. Slight and insignificant increases were observed in mold counts of frozen and modified atmosphere packaged samples ( $p > 0.05$ ). On any sampling day, the differences among the mold counts of frozen and modified atmosphere packaged samples were not significant ( $p > 0.05$ ). These results are in agreement with the findings of Villalobos et al. [20] who reported the effectiveness of modified atmosphere packaging in controlling fungal growth.

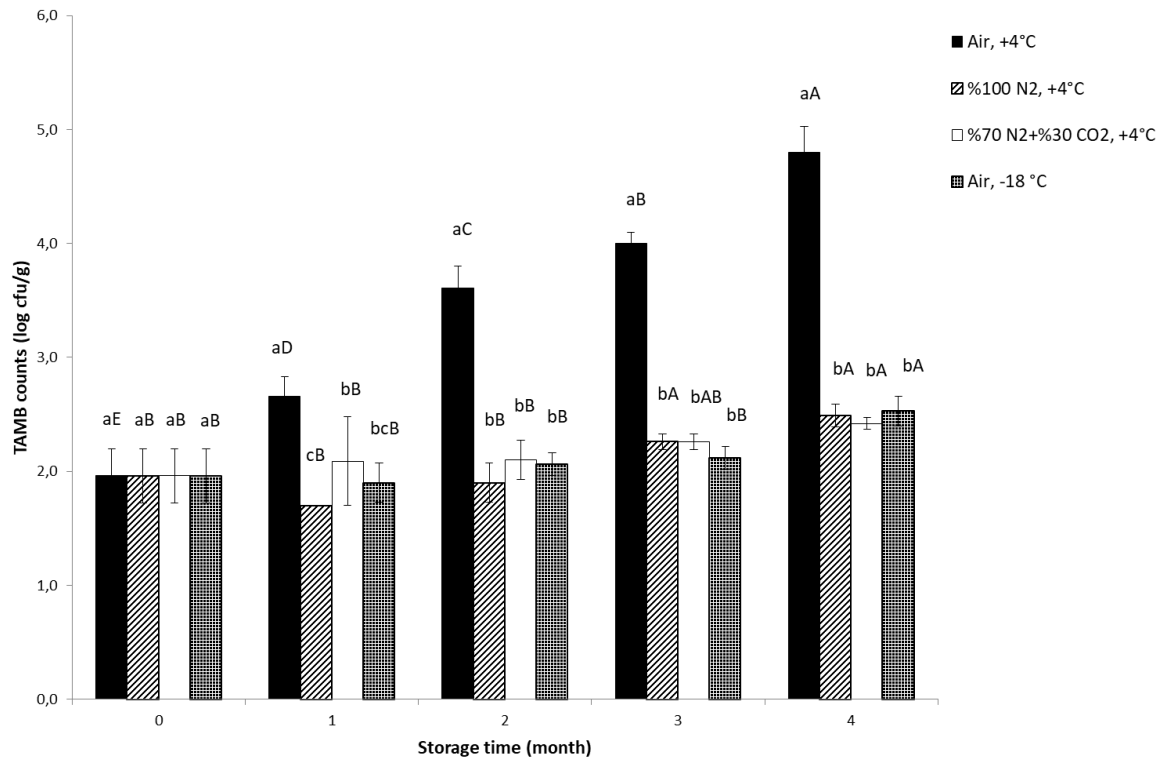


Figure 2. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) counts of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

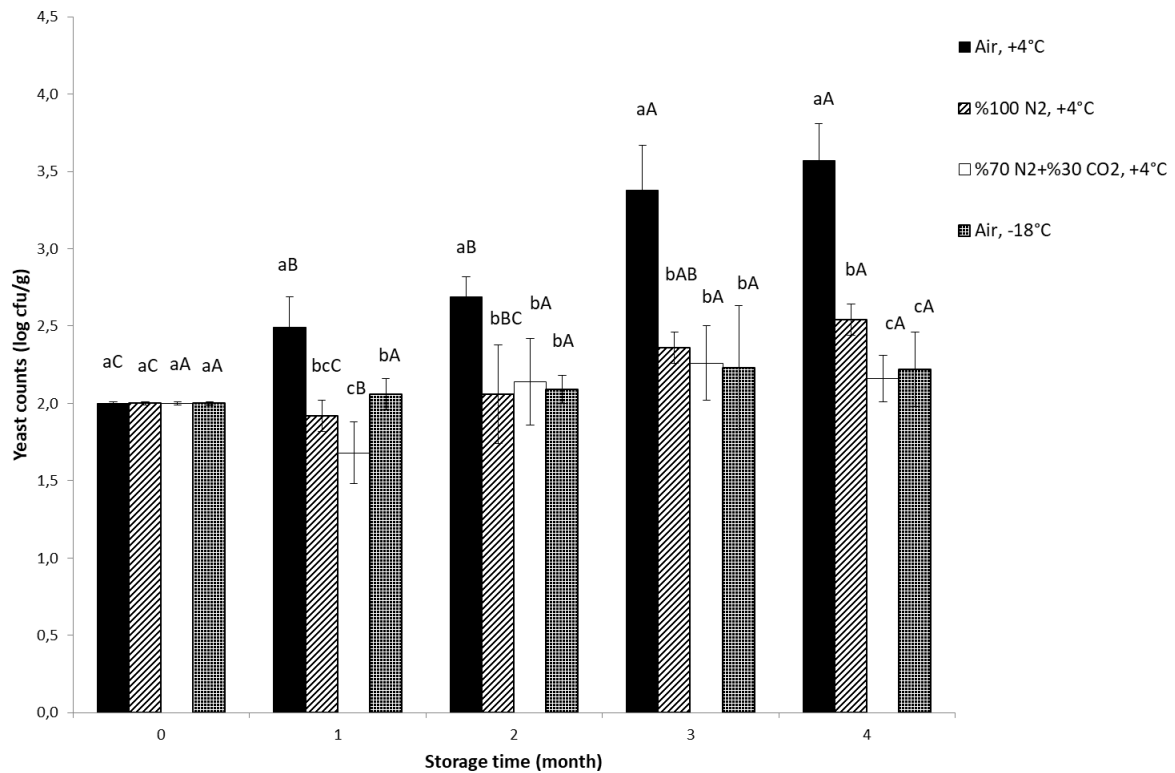


Figure 3. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on yeast counts of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

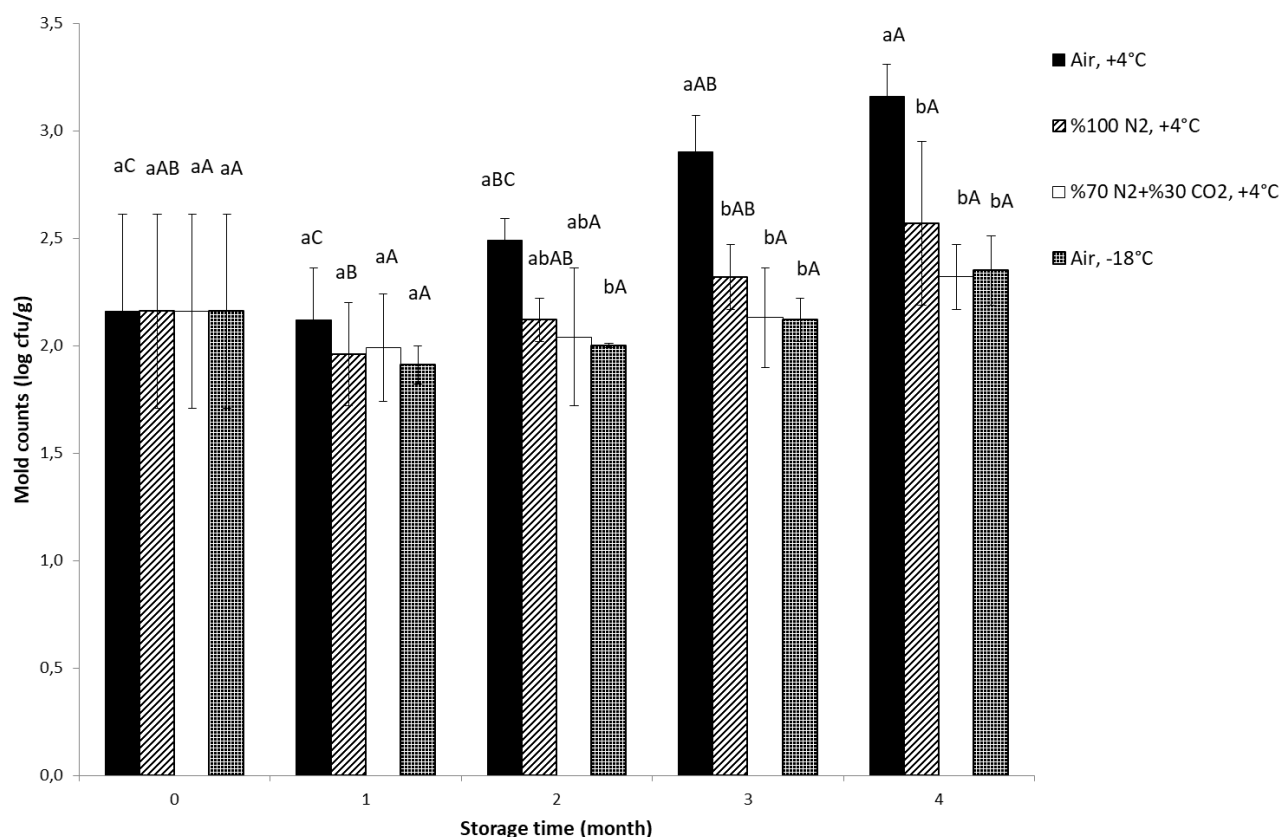


Figure 4. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on mold counts of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

According to the results of our study, modified atmosphere packaging (especially the atmosphere containing  $\text{CO}_2$ ) are quite effective in maintaining the microbiological quality of semi-dried persimmons. The counts of microorganisms in modified atmosphere packaged samples were lower than those of packaged in air in all experiments conducted in this study. Additionally; TAMB, yeast and mold counts of the samples packaged in 30%  $\text{CO}_2$ +70%  $\text{N}_2$  were not significantly different than those of frozen samples. Therefore, it can be concluded that packaging in 30%  $\text{CO}_2$ +70%  $\text{N}_2$  atmosphere followed by storage at 4°C were as effective as frozen storage in terms of microbiological control in semi-dried persimmons. It is probably a result of both limiting the survival of aerobic microorganisms due to reduced oxygen concentration in the package and inhibitory effect of  $\text{CO}_2$  against microorganisms.

#### Effect of Frozen Storage and Modified Atmosphere Packaging Followed by Cold Storage on Physicochemical Properties of Semi-Dried Persimmons

The effects of modified atmosphere packaging and frozen storage on L color values of semi-dried persimmons are shown in Figure 5. The L values of all samples (except the frozen ones) increased during storage. The increase was more pronounced in the

samples packaged in air but observed as well as in the ones packaged in modified atmosphere. This can be explained by local accumulation of soluble solids. During drying and subsequent storage -if the humidity of the surrounding environment is relative low- moisture transfers from inner parts to the surface of the fruit. Soluble solids (mainly sugars) are also transported within the moisture as a solution through the fruit tissues. Free moisture evaporates from the fruit surface while soluble solids reside on the surface of the fruit, crystallize in time and form a white layer [21]. On the other hand, increases in L value were not observed for the samples stored at -18°C. It shows that moisture transfer from inner parts of the fruit was restricted by immobilization of water molecules through phase transition. On the contrary, L values of these samples were significantly lower at the end of storage. Most probably, this can be a result of a browning reaction. It is known that enzymes in the frozen tissues continue to catalyze many biochemical reactions including browning reactions unless they are inactivated by a heat treatment such as blanching. Moreover, in frozen fruit, since a high amount of water is turned into ice the residual solution becomes more concentrated [22]. It means that the concentrations of the reactants of the reactions (e.g. non-enzymatic browning reactions) could increase and more severe reactions could take place in the frozen samples.

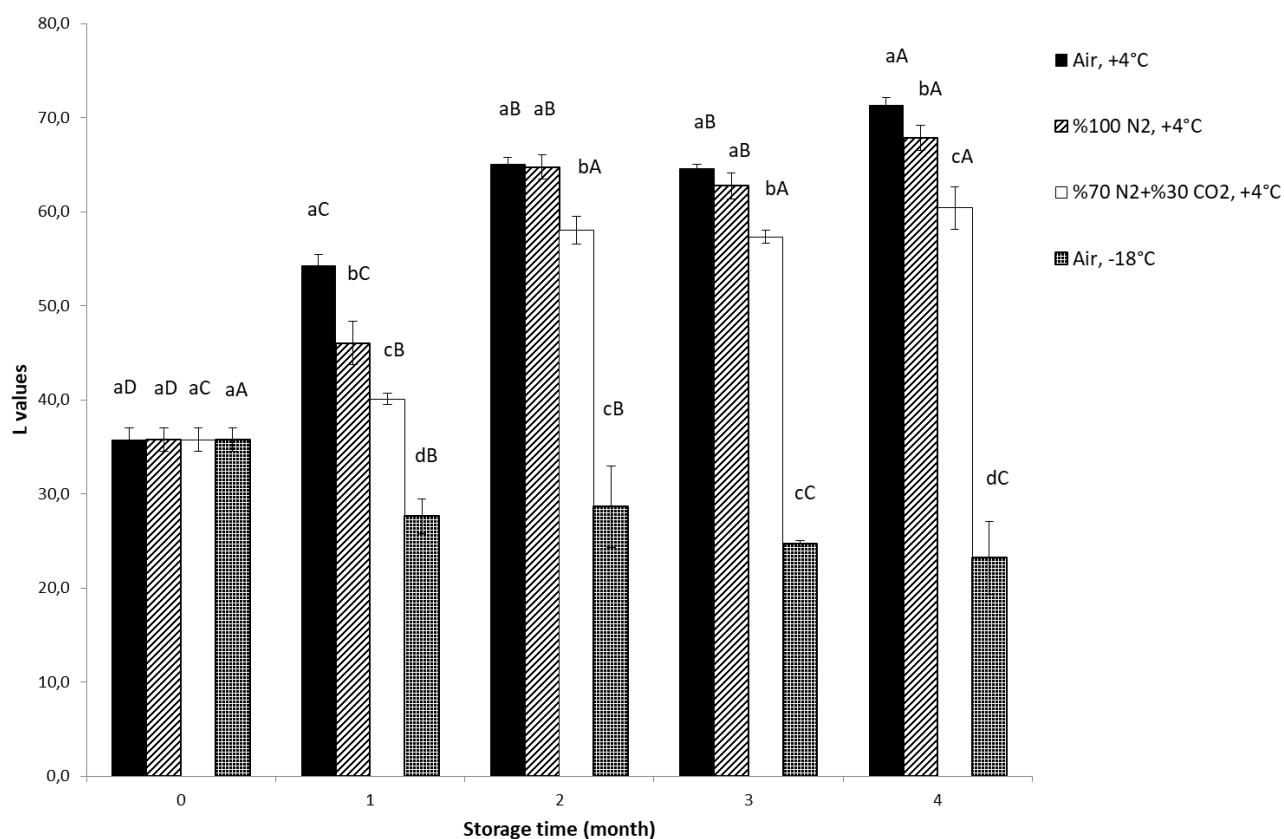


Figure 5. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on the L color values of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

The effects of modified atmosphere packaging and frozen storage on the a and b color values of semi-dried persimmons are shown in Figure 6 and Figure 7, respectively. Both a and b values of the samples stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  increased throughout the storage. It can be a result of browning reactions or pigment destruction process. According to Karaman et al. [13], during drying process and subsequent storage, the enzymes are released upon tissue injury of the plants and the reaction may proceed to form new compounds with different colors. Similar color changes were observed during storage of electron beam irradiation treated and non-treated sun-dried apricots at ambient temperature [23]. It is surprising that these color changes were not observed in any samples stored at  $+4^{\circ}\text{C}$ . Most probably, the same reactions occurred also in these samples (maybe more severely), however the white layer (formed due to local accumulation of soluble solids) covered the whole surface of the fruit masked these color changes.

The effects of modified atmosphere packaging and frozen storage on moisture contents of semi-dried persimmons can be seen in Figure 8. Moisture contents of the samples fluctuated within the range of 28.8-33.16% during the storage period. However, no significant differences were determined in the moisture contents of any samples at the beginning and at the end of storage. Moreover, there were no significant differences among the moisture contents of the samples treated with different techniques. In contrast to our results, Wani et al. [24] reported significant increases in dried apricots stored under ambient conditions. The authors attributed the change in moisture content to vapor pressure differential between apricots and the storage environment. Of course, water vapor permeability of the packaging material is a determining factor on this issue. For the samples stored at  $-18^{\circ}\text{C}$ , possible explanation for maintaining moisture content could be the limiting the transportation of the water from the fruit to surrounding environment by changing its state from liquid to solid [25].



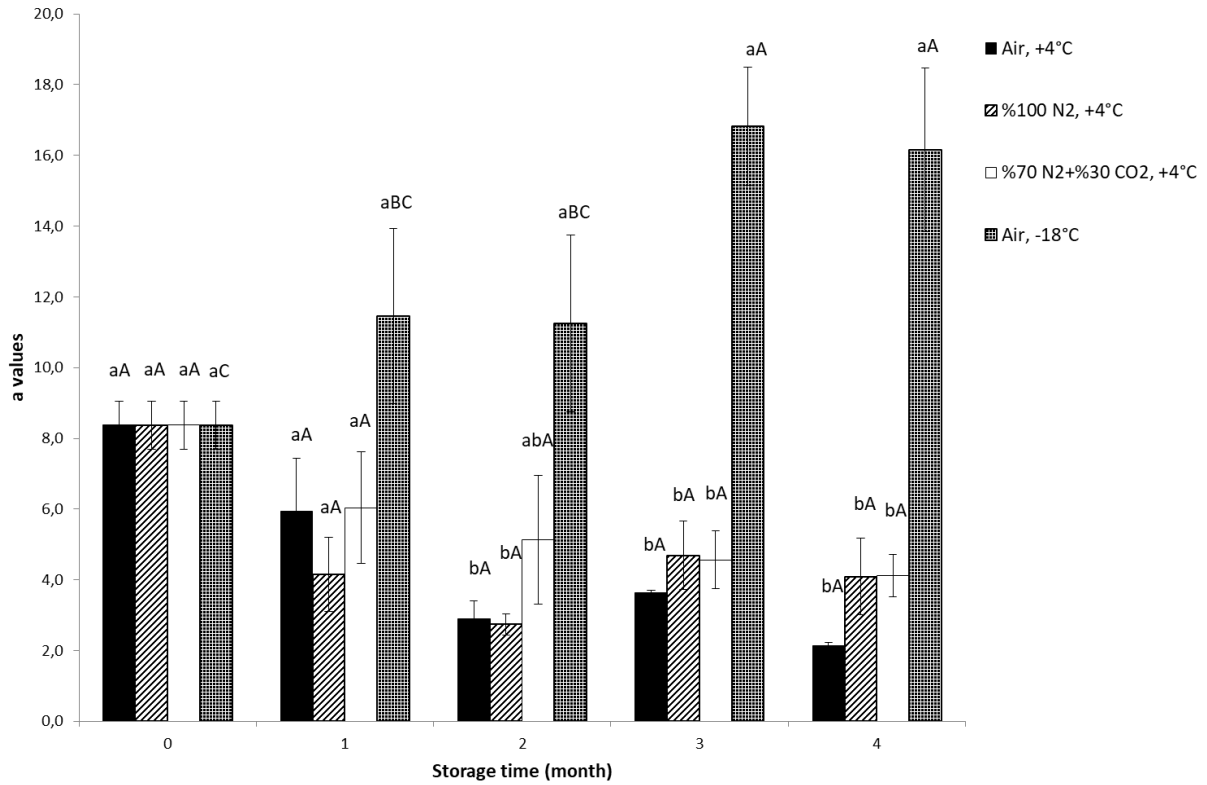


Figure 6. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on the a color values of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

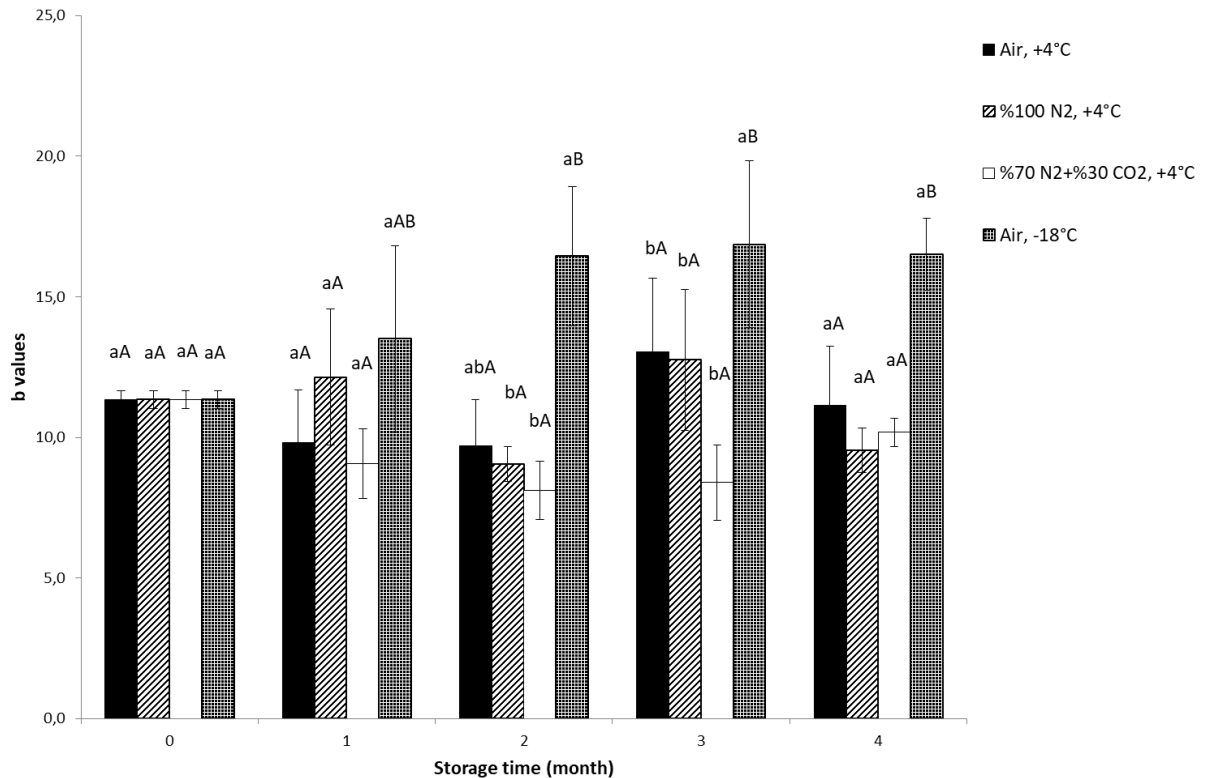


Figure 7. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on the b color values of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant difference among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant difference among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

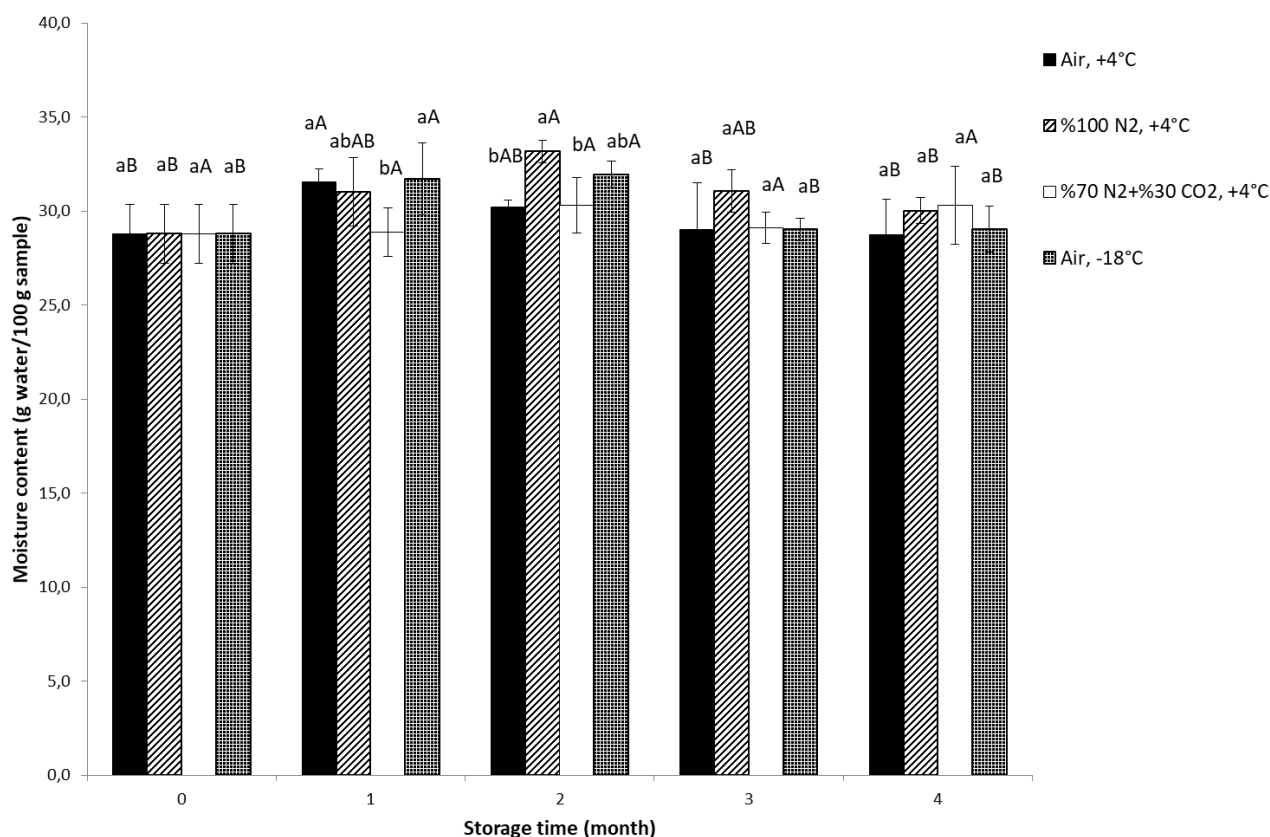


Figure 8. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on moisture contents of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

Similar to moisture content, firmness values of the samples were not significantly different at the beginning and at the end of storage (Figure 9). Although slight differences were observed among the firmness values of the samples treated with different techniques, they were not significant for the last two months of storage ( $p > 0.05$ ). Increase in firmness could be a result of water loss from the samples. For instance, Sen et al. [26]

reported moisture loss and firmness increment in dried figs treated with phosphine and vacuum after a storage period of 2 months at ambient temperature. Since our results related with moisture content variation is parallel to firmness values, it could be concluded that there would be no water loss and firmness problem in semi-dried persimmons stored for four months preserved with the techniques used in the present study.

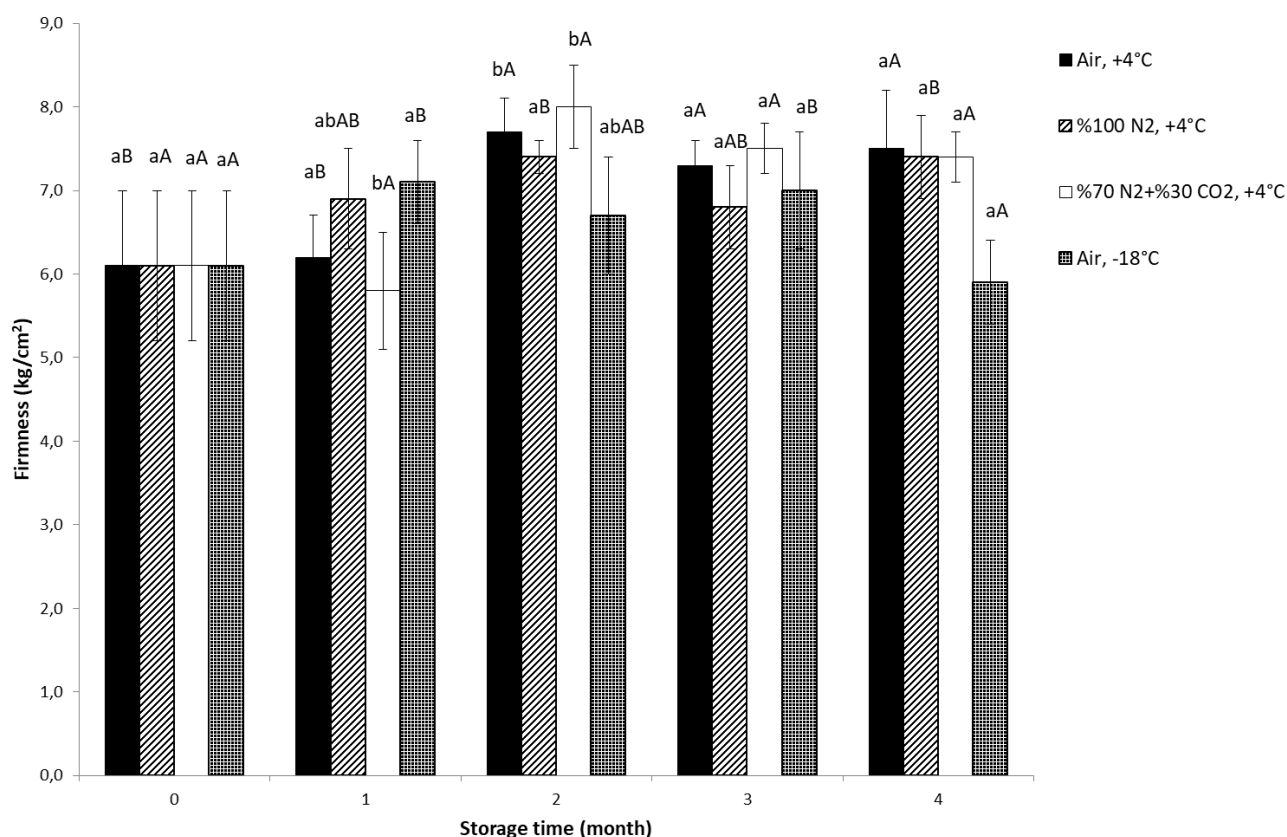


Figure 9. Effect of modified atmosphere packaging and frozen storage on firmness of semi-dried persimmons. Data represent mean values and standard errors from 3 replicates. Values with different small letters show significant differences among different treatments for the same sampling day ( $p < 0.05$ ). Values with different capital letters show significant differences among different sampling days for the same treatment ( $p < 0.05$ ).

### Effect of Frozen Storage and Modified Atmosphere Packaging Followed by Cold Storage on Sensory Properties of Semi-Dried Persimmons

Table 1 shows the average scores obtained for sensory characteristics of semi-dried persimmons packaged in air and modified atmosphere during storage for 4 months. Odor and chewiness characteristics of the samples did not change during storage, however significant decreases were observed in color, taste and general acceptability scores at the end of storage ( $p < 0.05$ ). Similarly, Elmaci et al. [27] observed significant decreases in the appearance, texture and flavor quality scores of unsulfured sun dried apricots during a storage period of 48 weeks. Meyvaci et al. [28] reported that the most significant changes were observed in skin color and flavor of dried figs during storage. The treatments tested in the present study (modified atmosphere packaging and frozen storage) did not significantly affect the odor and chewiness of the product however resulted in slight but significant increases in taste and general acceptability scores in the first month of storage. In general, color scores of modified atmosphere packaged and frozen samples were higher than those packaged in air and stored at +4°C. Modified atmosphere packaging was also reported

to improve the sensory characteristics of other dried products like pistachios [29] and almonds [30].

### CONCLUSIONS

In this study, we examined the effects of normal and modified atmosphere packaging and subsequent cold storage on microbiological, physicochemical and sensory quality of semi-dried persimmons and compared the results with those of frozen storage. On the microbiological aspect, modified atmosphere packaging (especially packaging in 30% CO<sub>2</sub>+70% N<sub>2</sub>) can be an alternative preservation technique for semi-dried persimmons since low microbial loads were recorded at the end of storage period as if the product was frozen. According to sensory analysis; color, taste and general acceptability scores of modified atmosphere packaged and freeze-stored samples were similar and higher than those of packaged under normal atmosphere. On the other hand, parameters such as relative humidity and temperature during storage should be chosen carefully and kept stable. Otherwise, undesirable color changes caused by sugar migration, browning, pigment destruction, etc. could not be prevented.

Table 1. Results of the sensory analysis of semi-dried persimmons packaged in air and modified atmosphere during storage for 4 months\*,\*\*

Characteristic	Treatment	Initial	Month 1	Month 2	Month 3	Month 4
Color	Air, 4°C	3.8±0.9aA	3.3±1.1bAB	3.2±1.1bB	3.5±1.0aAB	3.0±0.9bB
	100% N <sub>2</sub>		3.9±0.8aA	3.9±0.9aA	3.5±1.0aA	3.7±0.9aA
	70% N <sub>2</sub> +30% CO <sub>2</sub>		3.8±0.8abA	3.8±1.0aA	3.6±1.1aA	3.3±1.2abA
	Air, -18°C		3.8±1.0abA	3.7±1.2abA	3.6±1.2aAB	3.1±1.1bB
Odor	Air, 4°C	3.7±0.8aA	3.8±0.6aA	3.7±0.7aA	3.8±0.9aA	3.4±0.8aA
	100% N <sub>2</sub>		3.9±0.9aA	4.0±0.8aA	3.7±1.1aA	3.8±0.7aA
	70% N <sub>2</sub> +30% CO <sub>2</sub>		3.9±0.7aA	3.8±0.8aA	3.7±0.8aA	3.6±0.7aA
	Air, -18°C		4.1±0.8aA	3.8±0.8aA	3.8±0.8aA	3.7±0.5aA
Taste	Air, 4°C	4.3±0.7aA	3.6±1.1bB	3.5±1.0aB	3.9±1.2aAB	3.8±0.7aB
	100% N <sub>2</sub>		3.9±0.9abABC	3.5±1.2aC	4.1±0.7aAB	3.8±0.8aBC
	70% N <sub>2</sub> +30% CO <sub>2</sub>		4.2±0.6aA	3.7±0.9aBC	4.0±0.9aAB	3.5±0.9aC
	Air, -18°C		4.2±0.8aAB	3.8±1.2aB	3.9±1.1aAB	3.8±0.9aB
Chewiness	Air, 4°C	4.0±0.9aA	3.9±0.9aA	3.6±1.2aA	3.8±1.0aA	3.9±1.0aA
	100% N <sub>2</sub>		3.9±0.9aA	3.7±0.8aA	4.0±0.8aA	4.0±0.8aA
	70% N <sub>2</sub> +30% CO <sub>2</sub>		4.0±0.7aA	3.9±1.0aA	3.8±1.1aA	3.8±0.9aA
	Air, -18°C		4.2±0.8aA	3.9±1.2aA	4.1±1.1aA	3.8±1.2aA
General acceptability	Air, 4°C	4.2±0.7aA	3.7±1.0bB	3.6±0.9aB	3.8±1.0aAB	3.6±0.9aB
	100% N <sub>2</sub>		3.9±0.8abAB	3.6±1.0aB	3.9±0.8aAB	3.9±0.7aAB
	70% N <sub>2</sub> +30% CO <sub>2</sub>		4.2±0.6aA	3.8±0.9aAB	3.7±1.0aB	3.5±0.9aB
	Air, -18°C		4.2±0.9aA	3.7±1.0aB	4.0±1.1aAB	3.6±0.9aB

\*: Values are the average of the evaluations of 30 panelists

\*\* : For a specific characteristic, values with different small letters within a column and values with different capital letters within a row are significantly different (p<0.05)

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Scientific Research Project Foundation of Pamukkale University under grant number 2016FEBE0046.

## REFERENCES

- Celik, A., Ercisli, S. (2008). Persimmon cv. Hachiya (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit: some physical, chemical and nutritional properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8), 599-606.
- Giordani, E. (2002). Varietal Assortment of Persimmon in the Countries of Mediterranean Area and Genetic Improvement. In First Mediterranean Symposium on Persimmon, Edited by E. Bellini, E. Giordani, Ciheam, Zaragoza, Spain, 126p.
- FAO. (2018). Food and Agricultural Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>, Accessed December 15, 2018.
- TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu. (2018). <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>, Accessed December 15, 2018.
- Harima, S., Nakano, R., Yamauchi, S., Kitano, Y., Yamamoto, Y., Inaba, A., Kubo, Y. (2003). Extending shelf-life of astringent (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit by 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 29(3), 319-324.
- Fahmy, K., Nakano, K. (2016). Effective transport and storage conditions for preserving the quality of 'Jiro' persimmon in export market. *Agriculture and Agriculture Science Procedia*, 9, 279-290.
- Kuzucu, F.C., Kaynas, K. (2004). Chemical and physiological changes in persimmon (*Diospyros kaki* L.) harvested in different time periods. *Bahçe*, 33, 17-25.
- Kurşun, E., Karaca, H. (2018). Dried persimmons: bioactive components, health aspects and current drying techniques. *Acta Horticulturae*, 1195, 169-176.
- Tulek, Y., Demiray, E. (2014). Effect of hot air drying and different pretreatments on color and drying characteristics of persimmons. *Journal of Agricultural Sciences*, 20, 27-37.
- Bolek, S., Obuz, E. (2014). Quality characteristics of Trabzon persimmon dried at several temperatures and pretreated by different methods. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38, 1-8.
- Akyildiz, A., Aksay, S., Benli, H., Kiroglu, F., Fenercioglu, H. (2004). Determination of changes in some characteristics of persimmon during dehydration at different temperatures. *Journal of Food Engineering*, 65(1), 95-99.
- Demiray, E., Tulek, Y. (2017). The effect of pretreatments on air drying characteristics of persimmons. *Heat and Mass Transfer*, 53(1), 99-106.
- Karaman, S., Toker, O.S., Cam, M., Hayta, M., Dogan, M., Kayacier, A. (2014). Bioactive and physicochemical properties of persimmon as affected by drying methods. *Drying Technology*, 32(3), 258-267.
- Kaya, A., Kamer, M.S., Ahin, H.E. (2015). Experimental investigation of drying kinetic of Trabzon persimmon (*Diospyros kaki* L.). *The Journal of Food*, 40(1), 15-21.
- Kiroglu-Zorlugenc, F., Fenercioglu, H. (2012). The effect of osmo-convective dehydration on color characteristics of persimmon fruits. *Çukurova University Journal of Science and Engineering*, 28,

- 149-159.
- [16] Gatto, M.A., Sergio, L., Pieralice, M., Linsalata, V., Spremulli, L., Di Venere, D. (2015). Effect of packaging and storage conditions on some biochemical parameters and microbiological safety of semi-dry tomato. *Acta Horticulturae*, 1144, 447-452.
- [17] Papoff, C.M., Battacone, G., Sanna, F.E., Piga, A., D'Aquino, S. (1997). The influence of industrial dehydration on quality of fig fruits. *Acta Horticulturae*, 480, 233-237.
- [18] Panagou, E.Z., Tassou, C.C., Katsaboxakis, K.Z. (2002). Microbiological, physicochemical and organoleptic changes in dry-salted olives of Thassos variety stored under different modified atmospheres at 4 and 20°C. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 635-641.
- [19] El Halouat, A. Debever, J.M. (1996). Influence of modified atmosphere and preservatives on the growth of *Zygosaccharomyces rouxii* isolated from dried fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 219-229.
- [20] Villalobos, M.D.C., Serradilla, M.J., Martin, A., Hernandez-Leon, A., Ruiz-Moyano, S., Cordoba M.D.G. (2017). Characterization of microbial population of breba and main crops (*Ficus carica*) during cold storage: Influence of passive modified atmospheres (MAP) and antimicrobial extract application. *Food Microbiology*, 63, 35-46.
- [21] Cemeroğlu, B., Özkan, M. (2004). Kurutma Teknolojisi. In Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Edited by B. Cemeroğlu, Başkent Klîşe Matbaacılık, Ankara, Turkey, 628p.
- [22] Kennedy, C.J. (2000). Managing Frozen Foods. Woodhead Publishing, Cambridge, England.
- [23] Wei, M., Zhou, L., Song, H., Yi, J., Wu, B., Li, Y., Zhang, L., Che, F., Wang, Z., Gao, M., Li, S. (2014). Electron beam irradiation of sun-dried apricots for quality maintenance. *Radiation Physics and Chemistry*, 97, 126-133.
- [24] Wani, S.M., Masoodi F.A., Ahmad, M., Mir, S.A. (2018). Processing and storage of apricots: effect on physicochemical and antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11), 4505-4514.
- [25] Roos, Y.H. Drusch, S. (2016). Phase Transitions in Foods. Academic Press, San Diego CA, USA.
- [26] Sen, F., Aksoy, U., Emekci, M., Ferizli A.G. (2015). Determining effect of phosphine (ECO<sub>2</sub>FUME®) fumigation under atmospheric and vacuum conditions on dried fig quality. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(6), 2046-2051.
- [27] Elmaci Y., Altug, T., Pazir, F. (2008). Quality changes in unsulfured sun dried apricots during storage. *International Journal of Food Properties*, 11, 146-157.
- [28] Meyvacı, K.B., Sen, F., Aksoy, U., Ozdamar, F., Cakir, M. (2003). Research on prolonging the marketing period of dried and ready-to-eat type figs (*Ficus carica*). *Acta Horticulturae*, 628, 439-445.
- [29] Maskan, M., Karatas, S. (1999). Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistachia vera* L.) at various conditions. *Food Chemistry*, 66, 227-233.
- [30] Raisi, M., Ghorbani, M., Mahoonak, A.S., Kashaninejad, M., Hosseini, H. (2015). Effect of storage atmosphere and temperature on the oxidative stability of almond kernels during long term storage. *Journal of Stored Products Research*, 62, 16-21.
- 
-

## Buğday Ununa Ozon Gazı Uygulamasının Un ve Ekmek Kalitesine Etkisi

Muhammed Sami Elgün<sup>1</sup> , Nermin Bilgiçli<sup>2</sup>  

<sup>1</sup> İttifak Holding İmaş Makina Sanayi A.Ş. 2.Organize Sanayi Bölgesi Lalehan Cad. No:61 Selçuklu, Konya  
<sup>2</sup> Necmettin Erbakan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Meram, Konya

Geliş Tarihi (Received): 13.10.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 27.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [nerminbil2003@hotmail.com](mailto:nerminbil2003@hotmail.com) (N. Bilgiçli)

☎ 0 332 323 79 26 📠 0 332 236 21 41

### ÖZ

Bu araştırmada, farklı buğday çeşitlerine ait unlara uygulanan ozon gazının, un, hamur ve ekmek özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, öğütmeyi takiben iki farklı buğday çeşidine (Bezostaya-1 ve Gerek-79) ait unlara şahide karşılık ozon jeneratörü yardımıyla 0,4 g/h debi ile ozon gazı uygulanmıştır. Un örneklerinde ozonlamanın yapıldığı gün ve 21 günlük dinlendirme sonrasında fiziksel, kimyasal, teknolojik, reolojik ve mikrobiyolojik analizler ile ekmek denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ozon uygulaması un örneklerinin sarılık değerini 9.17'den 8.37'e düşürmüştür. 21 gün dinlendirme ve ozon uygulaması sinerjistik etki göstererek unların parlaklık değerini daha fazla artıp, sarılık değerinin daha fazla düşmesine neden olmuştur. Ozon uygulaması buğday unlarının kül, protein, glüten, glüten indeksi, düşme sayısı, fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerlerinde önemli ( $p < 0.05$ ) bir farklılığa neden olmamıştır. Unlarda düşme sayısı 21 günlük dinlendirme ile 305.25 saniyeden 330.25 saniyeye yükselerek amilolitik aktivitede azalma gerçekleşmiştir. Ozonlama ile unlarda fitik asit miktarı 365.35 mg/100 g'dan 302.48'e düşerken, 21 gün dinlendirme süresi sonunda da unların fitik asit miktarında önemli ( $p > 0.05$ ) azalma gerçekleşmiştir. Genel olarak, 21 günlük dinlendirme ve ozon uygulaması farinograf ve ekstensografda hamur reolojik özellikleri üzerinde olumlu etkide bulunmuştur. Tahmin edildiği gibi Bezostaya-1 buğday unları, Gerek-79 buğday unlarından daha üstün ekmek özellikleri vermiştir. Ozonlama ekmek simetrisi ve gözenek yapısını düzeltmiş, ekmek içi sertliğini önemli düzeyde düşürmüştür. Öğütme sonrası ozon gazı uygulanan unların, 21 gün dinlendirilmiş unlara yakın kalitede un, hamur ve ekmek özellikleri verdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ozon, Un kalitesi, Hamur reolojisi, Ekmek kalitesi, Buğday çeşidi

### Effect of Ozone Gas Treatment of Wheat Flours on Flour and Bread Quality

#### ABSTRACT

In this study, ozone gas was applied on the flours of different wheat varieties, and the effects of ozone on flour, dough and bread properties were investigated. For this purpose, ozone gas was applied just after milling at the flow rate of 0,4 g/h on flours of two different wheat varieties (Bezostaya-1 and Gerek-79). In flour samples, physical, chemical, technological, rheological and microbiological analysis with breadmaking experiments were conducted on the day of ozonation and after 21 days of resting time. Ozone application reduced the yellowness value of flour samples from 9.17 to 8.37. The 21-day resting time with ozone application showed synergistic effect on lightness and yellowness values of the flour samples. Ozone application did not cause significant ( $p > 0.05$ ) difference on ash, protein, gluten, gluten index, falling number, phenolic content and antioxidant activity values of wheat flour. During 21-day resting time, falling number values of the flour increased from 305.25 to 330.25 second, and amyolytic activity decreased. The amount of phytic acid in flour decreased from 365.35 mg / 100 g to 302.48 mg / 100 g by ozone application. 21-day resting time was also significantly ( $p < 0.05$ ) reduced the phytic acid content of the flour. In general, 21 days resting time and ozone application had a positive effect on the rheological properties of dough at farinograph and extensograph. As expected, Bezostaya-1 wheat flours gave superior bread properties than Gerek-79 flours.

Ozonation improved bread symmetry and pore structure, and decreased crumb firmness significantly. Flours ozonated just after milling procedure gave similar flour, dough and bread quality properties to flours rested 21 days.

**Keywords:** Ozone, Flour quality, Dough rheology, Bread quality, Wheat cultivars

## GİRİŞ

Ekmeklik unların teknolojik kalite takdirinde, aynı protein miktar ve kalitesine sahip unlarda rengin beyazlığı, ekmeğin daha iyi iç ve dış özelliklerine sahip olacağına işaret sayılır. Un renginin beyazlığı, un randımanının düşüklüğünden, granülasyonunun inceliğinden ve öğütme sonrasında en az üç hafta olgunlaşma süreci geçirmiş olmasından kaynaklanır. Dolayısıyla unun beyazlığı, kalitatif değerlendirilmesinde ve fiyat oluşturmada oldukça önemlidir. Genellikle kuvvetli buğday çeşitleri kırmızı renk gurubunda yer alır. Oldukça sınırlı olan beyaz ve kuvvetli buğday çeşitlerinin geliştirilmesi son yılların başlıca ıslah konuları arasına girmiştir. Un için en doğal olgunlaşma ajanı dinlendirme sırasında aktivitesini gösteren hava oksijendir. Diğer taraftan da bazı kimyasal bazlı oksidatif ajanlar kullanılarak katkılama işlemlerine başvurulabilmektedir. Ülkemizde ise, Avrupa gıda kodeksi kaynaklı sağlık sakıncaları ve haksız rekabet dikkate alınarak bu tür un ağartma ve kuvvetlendirme işlemleri yasaklanmıştır. Diğer doğal bir ağartıcı katkı olarak kabul edebileceğimiz aktif soya unu, ransit gelişmeyi tetiklemesinden dolayı öğütme aşamasında kullanılamamaktadır [1]. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA, United States Environmental Protection Agency) 1997 yılında gıda endüstrisinde ozon kullanımının GRAS statüsünde zararsız olduğunu belirtmiştir [2, 3]. Bu karar Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA, Food and Drug Administration) ve Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agriculture) tarafından onaylanmış ve gıda ile temas eden maddeler tebliğinde organik olarak sertifikalandırılmıştır [4]. Ülkemiz dahil Avrupa'nın bir çok ülkesinde, İskandinav ülkelerinde ve Japonya başta olmak üzere diğer ülkelerde ozon gıda endüstrisinde kullanılmak üzere uluslararası mevzuatta yerini almıştır [5]. Gıda işleme dahil, endüstriyel uygulamalarda, son 30-40 yılda önemli reaktif oksijen kaynağı olarak ozon gazı önem kazanmış, dezenfektan olarak klor gazı yerine ve ağartıcı etkisiyle de oksidan katkı maddelerinin yerine; tıpta ozon tedavisi şeklinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Endüstriyel olarak ozon üretimi, elektron boşalımı yardımıyla atmosferik ortamdan veya saf oksijenden elde edilebilmektedir [6]. Sulu ortamlarda 20 dakikada, hava ortamında 2-3 saatte yarılanmaktadır. Açığa çıkan aktif oksijen ( $O^{\cdot-}$ ), moleküler oksijene ( $O_2$ ) göre çok daha reaktif olduğundan oksidasyon olaylarını önemli düzeyde hızlandırmaktadır. Ozon reaksiyonlarının çoğu, organik materyalde karbon-karbon ( $C=C$ ) çift bağının açılması esasına dayanır. Ozon gazının tekrar oksijene dönüşerek kalıntı bırakmama özelliği [7] gıda endüstrisi ile bitki ve hayvan yetiştiriciliği alanlarındaki kullanımını, yaygın kullanılan klor ve diğer dezenfektanlara göre avantajlı kılmaktadır [8-13]. Ozonun hidrojen peroksit

gibi farklı kimyasallar ya da UV gibi fiziksel yöntemlerle kombine edildiğinde antimikrobiyal etkisinin arttığı belirtilmektedir [14].

Gıda işlemede koku, renk, organik kirlilikler ve mikroflora gidermekle ilgili ozon jeneratörü kullanan başlıca sanayi kolları; meyve sebze depolama ve yıkama, su işleme ve arıtma, süt işleme, siyah çay, ilaç, balık işleme, alet sterilizasyonu, kauçuk, yağ, kağıt ve kimyasal madde fabrikalarıdır [2, 13-23]. Yüksek dozlarda uygulandığı zaman yağ, proteinler ve karotenoidler üzerinde olumsuz etkide bulunabilmektedir. Ozon gazının taneli ürünlerde kullanım alanları, özellikle koruma amaçlı olarak, ziraatından depolamaya kadar oldukça geniştir [13,24], Buğdayların depolanması [25], yıkanması [10] ve tavlansında [26] ozon gazı ya da ozonlu su kullanılmasının mikrobiyolojik kaliteyi yükselttiği belirlenmiştir. Un üzerine yapılan uygulamalarda, kek ve ekmeklik un kalitesi üzerinde olumlu etkisinin olduğuna dair literatür bulguları mevcuttur [27,28] Unun klorlanması yerine doğrudan ozon gazı ile muamelesi, özellikle kek unlarında çok olumlu sonuçlar vermiş, ilaveten UV radyasyonu ile kombine edilerek etkinliği daha da artırılmıştır [21,22 29-30]. Una ozonasyon uygulanmasının etkisini belirlemek için Demir ve ark. [31] tarafından yürütülen bir çalışmada, endüstriyel un örnekleri üzerine, laboratuvar şartlarında ozonlama işlemi uygulanmış ve un kalitesi ile ilgili olumlu sonuçlar tespit edilmiştir. Unculuk sektöründe kullanılan oksidan maddeler ağartma ve/veya olgunlaştırma ajanı olarak kullanılmakta olup, protein moleküllerinde bulunan sülfhidril ( $-SH$ ) gruplarını oksitleyerek, disülfid ( $S-S$ ) bağlarının oluşmasına, böylece gluten yapısının kuvvetlenmesine ve/veya karotenoid pigmentleri oksitleyip çift bağlarını açıp ağartarak un, hamur ve ekmek kalitesinin artırılmasında yardımcı olmaktadır [1, 32-34]. Atmosferik oksijen unun dinlendirilmesi sürecinde, un kalitesi açısından hem olgunlaştırıcı ve hem de ağartıcı etkide bulunmaktadır. Dolayısıyla ozonun parçalanmasıyla açığa çıkan atomik ve moleküler oksijen yapılarının da, buğday unu üzerine çok yönlü kaliteyi artırıcı etkisi söz konusu olmaktadır. Literatürde buğdaya ozon uygulaması üzerine yapılan çalışmalarda; genellikle depolama, yıkama, tavlama ve öğütme aşamalarında ozon kullanımının ürün özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada ise farklı sertlikteki buğdaylara öğütme aşamasını takiben uygulanan ozon gazının, 21 günlük doğal dinlendirme süresine eşdeğer ağartma ve olgunlaşma sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi, ayrıca ozonlama-dinlendirme uygulamalarının sinerjistik etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla farklı buğday çeşitlerinden elde edilen ekmeklik unlara ozon gazı uygulanarak, unlarda fiziksel-kimyasal değişimler ile, teknolojik ve hijyenik kalite ortaya konmuş ve 21 günlük doğal dinlendirmeye tabi tutulmuş unlarla karşılaştırılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Bu çalışmada, Konya piyasasından temin edilen ikişer adet Bezostaya-1 ve Gerek-79 buğday kültür çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Laboratuvar şartlarında temizlenip, tavlani, bir gün sonra öğütülerek elde edilen unlar, şahit ve ozon gazı uygulamalı test ve denemelerde kullanılmıştır. Ekmek denemelerinde kullanılan yaş maya ve sofr tuzu Konya piyasasından temin edilmiştir.

### Denemenin Kuruluşu ve İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada, sert-kuvvetli (Bezostaya-1) ve yumuşak-zayıf (Gerek-79) karakterli buğday çeşidine ait ikişer buğday örneği kullanılmış ve Bezostaya-1a, Bezostaya-1b, Gerek-79a ve Gerek-79b şeklinde

isimlendirilmişlerdir. Bu buğdayların öğütülmesiyle elde edilen un örneklerine, kontrole "0" karşı ozon gazı "O<sub>3</sub>" uygulanarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Deneme desenine göre hazırlanan örneklerde un, hamur ve ekmek kalite analizleri yapılmıştır. Ayrıca, ozonlama yapılan unlarda ve doğal haliyle (ozonlama uygulanmadan) 21 gün dinlendirilmiş un örneklerinde, deneme deseni çerçevesinde aynı kalite analizleri tekrarlanmıştır. Denemeler (2x4x2)x2 deneme desenine göre 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Deneme deseni Tablo 1'de verilmiştir. Elde edilen araştırma sonuçları TARİST (Versiyon 4.0, İzmir) programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, istatistiki olarak önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarının ortalamaları ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmış, analiz sonuçları tablolar halinde özetlenmiş, önemli ve anlamlı bulunan interaksyonlar şekiller üzerinde tartışılmıştır [35].

Tablo 1. Ozon uygulamasında kullanılan deneme deseni

Dinlendirme süresi (gün)	Buğday çeşidi	Ozonlama (0.4g/h/kg un)
0. gün	Bezostaya-1a	0
		O <sub>3</sub>
	Bezostaya-1b	0
		O <sub>3</sub>
	Gerek-79a	0
		O <sub>3</sub>
Gerek-79b	0	
	O <sub>3</sub>	
21. gün	Bezostaya-1a	0
		O <sub>3</sub>
	Bezostaya-1b	0
		O <sub>3</sub>
	Gerek-79a	0
		O <sub>3</sub>
Gerek-79b	0	
	O <sub>3</sub>	

### Analitik Metotlar

Fiziksel analizler tane halindeki buğday örneklerinde, kimyasal analizler ise öğütülmüş tane üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hammadde olarak kullanılan buğday çeşitlerinde fiziksel olarak; bin tane ağırlığı, hektolitreye ağırlığı, sertlik ve tanede irilik dağılışı tayinleri Elgün ve ark. [36]'na göre yürütülmüştür. Su miktarı 135°C'de 2.5 saat kurutma normu uygulanarak AACC 44-19 metoduna göre yapılmıştır. Kül miktarı ICC Standart No.104-1 metoduna göre, örneklerin 900°C'de kül fırınında (Wisd WiseTherm, Wertheim, Almanya) yakılmasıyla belirlenmiştir. Protein miktarı AACC 46-12 metoduna göre, Kjeldahl yöntemiyle yakma (Foss Digestion System, Hilleroed, Danimarka), destilasyon cihazları (Foss Kjeltex 8100, Hilleroed, Danimarka) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yaş gluten miktarı ile gluten indeks değerinin (AACC 38-12) tespitinde Glutomatic-2200 yıkama cihazı ve Centrifuge 2015 santrifüj sistemlerini içeren cihazlar (Pertin Instruments AB, Huddinge, İsveç) kullanılmıştır [37,38].

### Araştırma Metotları

Araştırmada Bezostaya-1, Gerek-79 buğday örnekleri, kontrol ve ozonlanacak grup olmak üzere ayrı ayrı öğütülmüş, sert buğdaylar için %17, yumuşak olanlar için %16 su esasına göre tav suyu verilip, 24 saat dinlendirilmiştir. Tavlani örnekler laboratuvar tipi valsli değirmende (Chopin Moulin CD1, Fransa) %70±1 randımanla öğütülmüştür [36]. Kırma ve redüksiyon sistemlerinden elde edilen un örnekleri tartılıp toplam un verimi (%) hesaplanmış ve randıman düzenlemesi yapılmıştır.

### Doğal Dinlendirme ve Ozon Uygulaması

*Doğal dinlendirme;* Her bir çeşit buğdaya ait un örneklerinden kontrol grubu iki kısma ayrılarak biri ilk gün analizlerine tabi tutulmuş, diğeri ise oda şartlarında 21 günlük doğal olgunlaşmaya terk edilmiştir.

*Ozon uygulaması (Ozonasyon);* Farklı buğday çeşitlerinden elde edilen unlarına; 1'er kg'lık partiler halinde, 0.4 g/h kapasiteli laboratuvar tipi ozon jeneratörü (Opal OG-400, Ankara, Türkiye) yardımıyla,



ağzı kapalı polikarbon özellikli bir şişe içerisine 5 dakika süreyle çalkalanarak ozon gazı uygulaması yapılmıştır. Ozonlama işlemine tabi tutulan un örnekleri de ilk gün ve 21. gün analizlerine tabi tutulmak üzere iki kısma ayrılmıştır.

### Un ve Hamur Analizleri

Un örneklerinde renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) ise Minolta CR 400 (Konica Minolta Inc., Osaka, Japonya) cihazı kullanılarak belirlenmiştir [39]. Unda su (AACC 44-19), kül (ICC No.104-1), protein (AACC 46-12) analizleri analitik metotlarda verilen metotlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir [37,38]. Guten ve gluten indeks tayini AACC 38-12'ye, düşme sayısı değeri AACC 56-81b'ye göre yapılmıştır [37]. Kontrol ve ozonlanmış un örneklerinde öğütme takibini ilk gün ve 21 gün dinlendirme süresinden sonra maya ve küf sayımı yapılmıştır [40]. Ozonasyon işleminin fonksiyonel ve antibesinsel bileşenler üzerinde sebep olabileceği kayıpları ortaya koyabilmek için fitik asit, toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Fitik asit analizi için un örnekleri hidroklorik asit çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve Demir III çözeltisi ile çöktürülerek serum kısmında kalan demir miktarı spektrofotometrik yolla belirlenmiştir [41]. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir. Örnek (200 mg), asitlendirilmiş metanol (HCl/metanol/su, 1:80:10, h/h) içerisinde (4 ml), 2 saat süre ile bir çalkalamalı su banyosunda ( $24\pm 1^\circ\text{C}$ ) çalkalanarak ekstrakte edilmiştir. Daha sonra bu karışım, 3000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edilmiş ve sonrasında elde edilen süpernatant kullanılarak toplam fenolik madde içeriği tespit edilmiştir. Analizde 0.1 ml süpernatant örnek, 0.5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (%10'luk, h/h, suda) ve 1.5 ml sodyum karbonat çözeltisi (%20'lik, a/h, suda) deney tüpünde karıştırılarak, 2 saat oda sıcaklığında ( $24\pm 1^\circ\text{C}$ ) inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda da çözeltilerin absorpsiyon değerleri 760 nm'de spektrofotometrede okunmuş ve toplam fenolik madde miktarı gram ekstrede mg gallik asite (mg GAE/g) eşdeğer olacak şekilde hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite tayininde, fenolik madde analizinde belirtildiği gibi ekstrakte edilen örneklerde, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali metodu üzerinden tayin edilmiş olup, % olarak belirlenmiştir [42-45]. Un örneklerinden elde edilen hamurların, farinogram özellikleri ICC Standart Metot No: 115/1'e göre Farinograf (Brabender Farinograph-E, Duisburg, Almanya) cihazı, ekstensogram özellikleri ise ICC Standart Metot No: 114/1'e göre Ekstensograf cihazı (Brabender Extensograph-E, Duisburg, Almanya) cihazı ile tespit edilmiştir [38].

### Ekmek Pişirme Denemeleri

Ekmek denemeleri direkt ekmek pişirme metodu Türk usulü ekmeklere göre modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. 100 g un esasına göre 1.5 g sofa tuzu, 3.0 g yaş maya ve su ilave edilerek olgun hamur elde edilene kadar yoğrulmuştur. Hamurlar, %80-90 nispi nemde ve  $30^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 2 defa 30 dakikalık kitle fermantasyonuna bırakılmış ve bu süreler sonunda

katlanıp havalandırılmıştır. Daha sonra da ekmek hamuruna son şekli verilip,  $30^\circ\text{C}$ 'de 60 dakika süreyle son fermentasyona tabi tutulmuştur. Kabaran hamurlar  $250^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika süre ile fırında (Arçelik ARMD-580, Türkiye) pişirilmiştir. Ekmekler pişirildikten sonra ağırlık ve hacimleri ölçülmüş ve spesifik hacim değerleri hesaplanmıştır. Ekmekler polietilen torbalara konularak ağızları kapatılmıştır. 24 saat sonra, simetri ve ekmek içi gözenek yapısı puanlanarak (1-5) değerlendirilmiştir [36]. Sertlik ölçümü için ekmek örnekleri 24/72 saat sonra polietilen torbadan çıkartılıp, özel yapılmış kalıbın içerisine oturtularak, testere ağızlı elektrikli bıçak ile 20 mm kalınlığında 5 dilime kesilmiştir. Orta dilimi ekmek içi renk tayininde kullanılmış, iki yanında kalan dilimlerin içe bakan yüzeylerinde sertlik ölçümü yapılmıştır. Ekmek kabuk ve iç renkleri Minolta CR-400 cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Hammaddelerin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Teknolojik Özellikleri

Tablo 2'de, araştırmada kullanılan buğday örneklerine ait bazı fiziksel, kimyasal ve teknolojik tane özelliklerinin analiz sonuçları özetlenmiş olup, Bezostaya-1 örneklerinin daha yüksek bin tane ve hektolitreye ağırlıkları, iri tane yapısı ve tane sertliği ile değirmencilik ve ekmeçlilik değerleri açısından kuvvetli; Gerek-79 örneklerinin ise zayıf ve yumuşak tane özelliğinde oldukları belirlenmiştir. Bezostaya-1 buğdaylarının, Gerek-79 buğdaylarından daha yüksek kül ve gluten indeks değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Buğday standardı bakımından Bezostaya-1 kuvvetli özellikte sert-kırmızı; Gerek-79 ise zayıf özellikli yumuşak-beyaz kültür çeşitleri içinde yer almaktadır [36, 46].

#### Ozon Uygulamasının Un Kalitesine Etkisi

Farklı buğday örneklerinin unlarına ozon uygulaması sonrasında, onların renk değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 3'te özetlenmiştir. Unların 21 gün dinlendirilmesi tahmin edildiği gibi  $L^*$  değerini yükseltmiş,  $b^*$  değerini düşürmüştür. Buğday çeşitleri arasında Gerek-79 örnekleri, Bezostaya-1 örneklerinden daha parlak un rengi vermiş, sarılık değerleri ise düşük bulunmuştur. Ozon uygulaması un örneklerinin parlaklığını artırmış ve ozon uygulanmamış örneklerde ortalama 95.62 olan  $L^*$  değeri, ozon gazı uygulananlarda 95.86'ya yükselmiştir. Ozon gazı uygulaması örneklerin  $b^*$  değerini 9.17'den 8.37'e düşürürken,  $a^*$  değerini ise -0.93'ten -0.85'e yükseltmiştir. Ozon gazı diğer oksidanlar gibi undaki karotenoid pigmentleri okside ederek ağartıcı etkide bulunmaktadır [29]. Sui ve ark. [28], ozon uygulamasının buğday ununun parlaklığını artırdığını bildirmişlerdir. Mendez ve ark. [25] buğdaya uygulanan ozon gazının, yumuşak buğdaylarda  $L^*$  renk değerini 83.50'den 85.00'e, sert buğday unlarında ise 76.00'dan 78.50'ye yükselttiğini belirlemişlerdir. İbanoğlu [26] tavlama kullandığı ozonun, yumuşak ve sert buğdaylardan elde edilen unların parlaklığını ancak deskriptif olarak artırdığını bulmuştur. Unun parlaklığı üzerine etkili "dinlendirme süresi x ozon uygulaması"

interaksiyonunun ( $p<0.05$ ) gidişi Şekil 1'de verilmiştir. Görüldüğü gibi ozonlama ile ilk günde elde edilen parlaklık, ozon uygulanmamış şahit örnekte ancak 21. günde elde edilebilmiştir. Dinlendirme aşamasında doğal oksidasyon sonucu karotenoid pigmentlerin yapısında bulunan çift karbon bağları doyularak unun ağarması sağlanmakta [1,47], ozonlama işlemi ise dinlendirme süresi ile sinerjistik etkide bulunarak, unun parlaklık derecesini daha yüksek seviyeye ulaştırmaktadır (Şekil 1). Ele alınan faktörler arasında, özellikle unun ağartılması açısından önemli olan sarı renk intensitesinde,  $p<0.05$  düzeyinde önemli bulunan üçlü interakasyonun gidişi Şekil 1'de verilmiştir. Görüldüğü gibi, yumuşak taneli çeşit (Gerek-79), 21 günlük dinlendirme süresi ve ozonasyon işlemlerinin sarı renk intensitesinde sağladığı düşüş açıkça izlenmektedir. Oksidan maddeler, özellikle de hava oksijeni undaki karotenoid pigmentleri okside ederek, ağartıcı etkide bulunmaktadır. Laszlo ve ark. [21] da UV

radyasyonu ile birlikte uyguladığı ozonasyon işlemi ile daha açık ve benzer sonuçlar elde etmiştir. Daha ince granülasyon veren yumuşak buğday unlarında [48] ozonasyon işlemi, daha etkili olmuştur. Ozonasyon işlemi, hava oksijenine göre daha reaktif bir oksijen atomunu aktif duruma getirerek ağarmayı hızlandırmış, un inceliği ve dinlendirme süresi etkinliği daha da yükseltmiştir. Bu sebeple yumuşak ve ince granülasyonlu kek unlarının ağartılmasında ozonasyon işlemi yaygın şekilde kullanılmaktadır [30].

Farklı buğday örneklerinin unlarına ozon uygulaması sonrasında unların bazı kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 3'te özetlenmiştir. 21 gün dinlendirme ya da ozon gazı uygulaması faktörleri un örneklerinin kül, protein, yaş gluten ve gluten indeks miktarı üzerinde önemli bir değişime sebep olmamıştır.

Tablo 2. Buğday örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal ve teknolojik tane özellikleri<sup>1</sup>

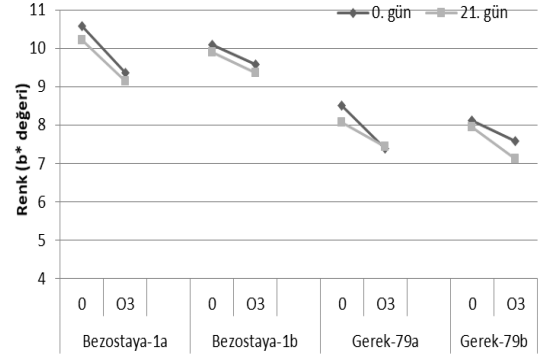
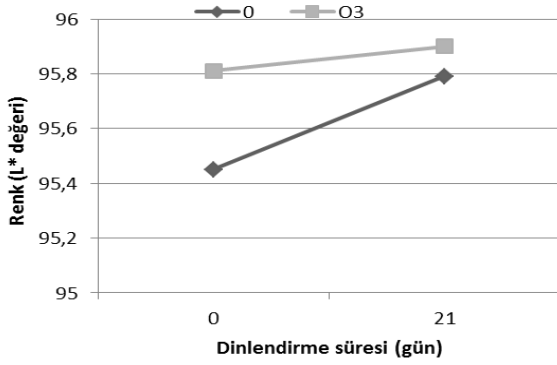
Tane Özellikleri	Bezostaya-1a	Bezostaya-1b	Gerek-79a	Gerek-79b
Bin tane (g) <sup>2</sup>	45.1±0.14 <sup>a</sup>	42.3±0.14 <sup>b</sup>	35.4±0.14 <sup>c</sup>	35.1±0.14 <sup>c</sup>
Hektolitre (kg/hL)	81.7±0.28 <sup>a</sup>	80.5±0.28 <sup>b</sup>	79.8±0.14 <sup>b</sup>	76.5±0.14 <sup>c</sup>
Sertlik (%)	83.0±1.41 <sup>a</sup>	75.8±0.71 <sup>b</sup>	37.0±0.71 <sup>c</sup>	27.5±1.41 <sup>d</sup>
İrilik dağılışı <sup>3</sup>				
>2.8 (mm)	1.92±0.08 <sup>a</sup>	0.38±0.10 <sup>b</sup>	0.24±0.08 <sup>b</sup>	0.29±0.08 <sup>b</sup>
2.8-2.5 (mm)	36.8±0.13 <sup>a</sup>	17.6±0.13 <sup>b</sup>	4.3±0.14 <sup>c</sup>	0.8±0.10 <sup>d</sup>
2.5-2.2 (mm)	61.1±0.14 <sup>d</sup>	81.6±0.16 <sup>c</sup>	95.4±0.10 <sup>b</sup>	98.6±0.13 <sup>a</sup>
2.2> (mm)	0.19±0.13 <sup>a</sup>	0.43±0.13 <sup>a</sup>	0.09±0.11 <sup>a</sup>	0.23±0.11 <sup>a</sup>
Su (%)	11.5±0.14 <sup>a</sup>	10.8±0.28 <sup>b</sup>	11.1±0.14 <sup>ab</sup>	10.7±0.14 <sup>b</sup>
Kül (%) <sup>2</sup>	1.56±0.03 <sup>a</sup>	1.59±0.01 <sup>a</sup>	1.28±0.03 <sup>b</sup>	1.24±0.04 <sup>b</sup>
Protein (%) <sup>2,4</sup>	12.1±0.14 <sup>a</sup>	11.6±0.14 <sup>ab</sup>	11.2±0.28 <sup>b</sup>	12.0±0.28 <sup>a</sup>
Yaş gluten (%)	29.0±0.71 <sup>a</sup>	28.0±0.71 <sup>ab</sup>	27.0±0.00 <sup>b</sup>	29.0±0.71 <sup>a</sup>
Gluten indeks (%)	87.0±0.71 <sup>a</sup>	88.0±0.71 <sup>a</sup>	72.0±0.71 <sup>b</sup>	73.0±1.41 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ( $p<0.05$ ). <sup>2</sup> Kuru madde üzerinden verilmiştir. <sup>3</sup> Elek üstü. <sup>4</sup> Nx5.7

Tablo 3. Un örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları<sup>1</sup>

Faktör	n	Un rengi <sup>2</sup>			Su (%)	Kül <sup>2</sup> (%)	Protein <sup>2,3</sup> (%)	Yaş gluten miktar (%)	Yaş gluten indeks (%)	Düşme sayısı (sn)
		L*	a*	b*						
<i>Dinlendirme süresi (gün)</i>										
0	16	95.63±0.73 <sup>b</sup>	-0.91±0.12 <sup>b</sup>	8.90±1.17 <sup>a</sup>	12.83±0.66 <sup>a</sup>	0.56±0.02 <sup>a</sup>	10.98±0.33 <sup>a</sup>	27.55±0.79 <sup>a</sup>	82.25±8.09 <sup>a</sup>	305.25±31.45 <sup>b</sup>
21	16	95.84±0.66 <sup>a</sup>	-0.87±0.12 <sup>a</sup>	8.65±1.16 <sup>b</sup>	12.31±0.69 <sup>b</sup>	0.55±0.02 <sup>a</sup>	11.07±0.29 <sup>a</sup>	27.98±0.99 <sup>a</sup>	82.75±7.80 <sup>a</sup>	330.25±30.27 <sup>a</sup>
<i>Buğday çeşidi</i>										
Bezostaya-1a	8	95.22±0.17 <sup>b</sup>	-0.93±0.08 <sup>b</sup>	9.82±0.68 <sup>a</sup>	13.20±0.23 <sup>a</sup>	0.54±0.01 <sup>b</sup>	11.38±0.05 <sup>a</sup>	28.24±0.14 <sup>ab</sup>	89.18±0.66 <sup>b</sup>	348.00±16.63 <sup>a</sup>
Bezostaya-1b	8	94.99±0.26 <sup>c</sup>	-0.72±0.04 <sup>a</sup>	9.73±0.32 <sup>b</sup>	13.18±0.32 <sup>a</sup>	0.57±0.01 <sup>a</sup>	10.90±0.08 <sup>ab</sup>	26.94±0.42 <sup>c</sup>	90.68±0.46 <sup>a</sup>	343.75±13.18 <sup>a</sup>
Gerek-79a	8	96.31±0.21 <sup>a</sup>	-0.99±0.06 <sup>c</sup>	7.85±0.53 <sup>c</sup>	12.08±0.38 <sup>b</sup>	0.54±0.01 <sup>b</sup>	10.63±0.10 <sup>b</sup>	27.41±0.73 <sup>bc</sup>	74.78±0.72 <sup>d</sup>	286.50±13.53 <sup>b</sup>
Gerek-79b	8	96.43±0.18 <sup>a</sup>	-0.92±0.05 <sup>b</sup>	7.69±0.44 <sup>d</sup>	11.83±0.26 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>a</sup>	11.20±0.08 <sup>a</sup>	28.46±0.54 <sup>a</sup>	75.45±0.82 <sup>c</sup>	292.75±19.74 <sup>b</sup>
<i>Ozon uygulaması</i>										
0	16	95.62±0.71 <sup>b</sup>	-0.93±0.12 <sup>b</sup>	9.17±1.11 <sup>a</sup>	12.56±0.71 <sup>a</sup>	0.56±0.02 <sup>a</sup>	11.03±0.35 <sup>a</sup>	27.68±0.94 <sup>a</sup>	82.25±8.11 <sup>a</sup>	318.50±33.26 <sup>a</sup>
O <sub>3</sub>	16	95.86±0.68 <sup>a</sup>	-0.85±0.11 <sup>a</sup>	8.37±1.07 <sup>b</sup>	12.56±0.74 <sup>a</sup>	0.55±0.02 <sup>a</sup>	11.03±0.28 <sup>a</sup>	27.85±0.85 <sup>a</sup>	82.75±7.79 <sup>a</sup>	317.00±33.99 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir ( $p<0.05$ ). <sup>2</sup> Kuru madde esası. <sup>3</sup> Nx5.7



Şekil 1. Unun parlaklık (L\*) değeri üzerine etkili “dinlendirme süresi x ozon uygulaması” interaksyonu ile sarı renk (b\*) değeri üzerine etkili “dinlendirme süresi x ozon uygulaması x buğday çeşidi” interaksyonu

Buğdayı yıkama ve tavlama kullanılan ozonun, unların protein miktarını şahide göre istatistiki düzeyde değiştirmedikleri literatürde yer almaktadır [10, 26, 31]. Ticari unlar üzerinde yürütülen bir çalışmada ise ozonasyon işleminin, yaş öz miktarını ancak deskriptif ölçüde artırdığını bildirilmektedir [31]. 21 günlük depolama sonunda un örneklerinin düşme sayısı değeri yükselmiştir. Ozon uygulamasının düşme sayısı üzerinde istatistiksel olarak önemli etkide bulunmadığı belirlenmiştir. Literatürde depolama süresine bağlı olarak enzimatik aktivitenin düştüğüne dair çalışmalar mevcut olup [26, 29, 49], tahıl ve ürünlerinin ozonlanması ile oluşan, bir oksidatif enzim inhibasyonunun varlığından bahsedilmektedir.

Un örneklerinde ozon uygulamasının mikrobiyal yük üzerine etkilerinin ortaya koymak üzere yapılan küf-maya sayımı sonuçlarını Tablo 4’te verilmiştir. Bazı örneklerde sayım yapılamayacak kadar aşırı yük mevcudiyeti sebebiyle, istatistik analizlere girilememiş, sonuçlar deskriptif karşılaştırmaya tabi tutulmuştur. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği’nde tahıl unları için gıda güvenilirliği kriterlerinde küf sayısı  $10^4$ - $10^5$  kob/g limit değer olarak belirtilmiştir. Yumuşak yapılı buğday daha fazla küf-maya yükü göstermiş, ozonasyon işlemi 3 hafta sonra daha belirgin olmak üzere küf-maya yükünde düşümlere sebep olmuştur. Bulgular çeşitli literatür bilgilerini doğrulamaktadır [9-13, 21, 50]. Bu sonuçlar unda ozonasyon işleminin, öğütme ürünlerinin sanitasyonu ve raf ömrü açısından önemli bir avantaja sahip olabileceğini göstermektedir.

Ozonasyonun fonksiyonel ve antibesinsel bileşikler üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla fitik asit, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarları incelenmiş ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları Tablo 5’te özetlenmiştir. Öğütme ve dinlendirme gibi işlemler öğütme ürünlerinde fenolik bileşikler ve antioksidan aktiviteyi farklı yönlerde değiştirebilmektedir [45]. Fitik asidin, antioksidan özelliği ile sağlık ve

beslenme üzerinde olumlu; mineral maddeleri bağlayıcı özelliği ile de olumsuz etkisi söz konusudur [51]. 21 günlük depolama süresinin sonunda un örneklerindeki fitik asit miktarı önemli seviyede ( $p < 0.05$ ) düşüş göstermiştir.

Yumuşak karakterli Gerek-79 buğday çeşidi, sert karakterli Bezostaya-1 buğdayından daha düşük fitik asit miktarı sergilemiştir. Ozonlama uygulaması, undaki fitik asit miktarını 365.35 mg/100g’dan 302.48 mg/100g değerine düşürmüştür (Tablo 5). Desvignes ve ark. [22], buğdaya tane halinde iken ozon gazı uygulamasının buğday öğütme ürünlerinden kepek ve redüksiyon ununda fitik asit miktarını istatistiki olarak değiştirmedikni, kırma unlarında artırdığını belirlemiştir. Ozonasyon ile fitik asit miktarının düşüş trendi göstermesi, mineral biyoyararlılığı bakımından dikkate alınması gereken önemli bir fonksiyon olarak tanımlanabilir. Dubois ve ark. [29], ozonasyon işleminin, öğütme ürünlerinin besinsel faktörleri ve bileşenleri üzerine kayda değer bir değişiklik oluşturmadığını belirtmiştir. 21 gün dinlendirme süresi unların antioksidan aktivitesinde değişikliğe neden olmamıştır. Bezostaya-1a örneği diğerlerine göre daha düşük antioksidan aktivite değeri sergilemiştir. Unda uygulanan ozonasyon işlemi, deskriptif bir artışa sebep olsa da, antioksidan aktivite üzerine yeterince etkili olmamıştır (Tablo 5). Fenolik maddelere olan ilgi onların antioksidan aktivitesinden kaynaklanmaktadır [45, 52]. Un örneklerinde ortalama fenolik madde miktarı 0.078 ile 0.155 mg GAE/g arasında bulunmuştur. Yu ve ark. [53], un örneklerinin fenolik madde miktarını 0.177 ile 0.257 mg GAE/g arasında belirlemiştir. Bezostaya-1a ve Gerek-79a buğdaylarının fenolik madde miktarı diğer buğday örneklerinden düşük bulunmuştur. Beta ve ark. [45] ise yumuşak ve sert buğday çeşitlerinin fenolik madde ve antioksidan aktivite içeriklerinin birbirinden farksız olduğunu, çevresel faktörlerin fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerinde çok etkili olan faktörler olduğunu rapor etmiştir.

Tablo 4. Un örneklerinde küf-maya sayımı (log kob/g) sonuçları<sup>1</sup>

Dinlendirme süresi (gün)	Buğday çeşidi	Ozonlama (0.4 g/h/kg un)	Küf-Maya (log kob/g)
0. gün	Bezostaya-1a	0	2.69±0.09
		O <sub>3</sub>	2.33±0.04
	Bezostaya-1b	0	2.10±0.07
		O <sub>3</sub>	2.02±0.03
	Gerek-79a	0	3.08±0.14
		O <sub>3</sub>	2.88±0.11
	Gerek-79b	0	2.98±0.11
		O <sub>3</sub>	2.58±0.04
21. gün	Bezostaya-1a	0	5.89±0.13
		O <sub>3</sub>	2.76±0.09
	Bezostaya-1b	0	5.48±0.17
		O <sub>3</sub>	2.83±0.09
	Gerek-79a	0	5.29±0.06
		O <sub>3</sub>	3.02±0.14
	Gerek-79b	0	SKÇ <sup>2</sup>
		O <sub>3</sub>	4.08±0.07

<sup>1</sup>Sonuçlar iki tekerrürün ortalamasıdır. <sup>2</sup>SKÇ: Sayılmayacak kadar çok.

Tablo 5. Un örneklerinin fitik asit, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarlarına ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları<sup>1</sup>

Faktör	n	Fitik asit (mg/100 g)	Antioksidan aktivite (%)	Toplam fenolik madde <sup>2</sup> (mg GAE/g)
<i>Dinlendirme süresi (gün)</i>				
0	16	362.89±100.82 <sup>a</sup>	3.27±0.52 <sup>a</sup>	0.078±0.01 <sup>b</sup>
21	16	304.94±116.85 <sup>b</sup>	3.51±0.62 <sup>a</sup>	0.155±0.01 <sup>a</sup>
<i>Buğday çeşidi</i>				
Bezostaya-1a	8	455.25±82.39 <sup>a</sup>	2.78±0.93 <sup>b</sup>	0.113±0.04 <sup>b</sup>
Bezostaya-1b	8	385.55±51.06 <sup>b</sup>	3.60±0.17 <sup>a</sup>	0.123±0.04 <sup>a</sup>
Gerek-79a	8	284.60±45.31 <sup>c</sup>	3.60±0.17 <sup>a</sup>	0.110±0.05 <sup>b</sup>
Gerek-79b	8	210.25±42.24 <sup>d</sup>	3.56±0.17 <sup>a</sup>	0.133±0.05 <sup>a</sup>
<i>Ozon uygulaması</i>				
0	16	365.35±125.43 <sup>a</sup>	3.20±0.76 <sup>a</sup>	0.116±0.04 <sup>a</sup>
O <sub>3</sub>	16	302.48±88.00 <sup>b</sup>	3.58±0.16 <sup>a</sup>	0.118±0.04 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklı değildir (p<0.05). <sup>2</sup>GAE: Gallik asit eşdeğeri.

### Ozon Uygulamasının Hamur Reolojisine Etkisi

Ozon uygulamasının hamur reolojisi açısından etkinliği farinograf ve ekstensograf testleri ile belirlenmiştir (Tablo 6). Burada ozonasyon işleminin, farklı varyasyon kaynakları bazında, atmosferik oksijene benzer şekilde [54] hamur oksidasyonuna etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. 21. gün dinlendirme ile tahmin edildiği gibi stabilite, gelişme süresi artarken yumuşama derecesi değeri düşmüştür. Kuvvetli-sert karakterde buğday çeşidi olan Bezostaya-1 buğday örnekleri, zayıf-yumuşak karakterli Gerek-79 buğdaylarından daha üstün farinogram özellikleri sergilemiştir. Ozon uygulaması, tüm farinogram değerlerini etkileyerek, su absorpsiyonunu ve yumuşama derecesini düşürürken, hamurun gelişme süresi ve stabilite sürelerini uzatmış, net bir şekilde unu ve hamuru kuvvetlendirici etkisini ortaya koymuştur. Ozonasyon uygulaması ile sülfhidril-disülfid değişimi sebebiyle intermoleküler bağlantılar sonucu hamur mukavemetinin arttığı, yoğurma süresinin uzadığı sonucuna varılmaktadır [1, 32, 48, 55].

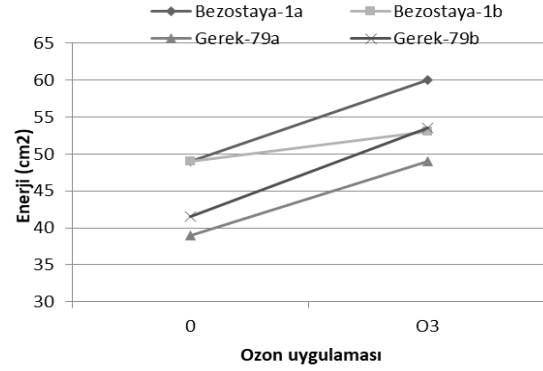
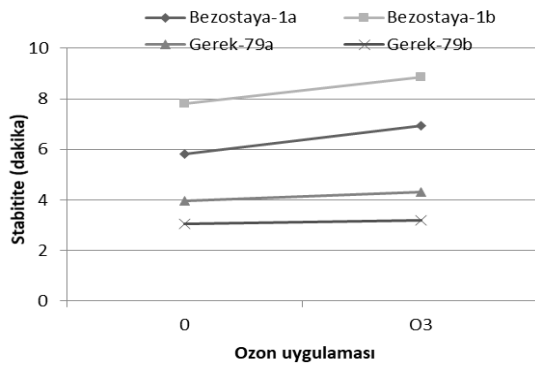
Buğdayların depolanması [25], yıkanması [10] ve tavlınmasında [26] ozon gazı ya da ozonlu su kullanılmasının bu buğdaylardan elde edilen unların farinograf özelliklerini kontrole göre değiştirmede, ancak mikrobiyolojik kalitede olumlu sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir.

Stabilite üzerinde önemli (p<0.01) bulunan “buğday çeşidi x ozon uygulaması” interaksyonu da Şekil 2’de verilmiştir. Kuvvetli buğday çeşitlerine ait unlar ozonasyonla sağlanan oksidasyona karşı daha iyi performans göstererek, önemli stabilite artışı göstermişlerdir.

Tablo 6. Un örneklerinin farinogram ve ekstensogram değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları<sup>1</sup>

Faktör	n	Farinogram				Ekstensogram				
		Su absorpsiyonu (%)	Stabilite (dakika)	Gelişme süresi (dakika)	Yumuşama derecesi (BU)	Enerji (cm <sup>2</sup> )	Direnç (BU)	Uzama kabiliyeti (mm)	Maksimum direnç (BU)	Oran sayısı
<i>Dinlendirme süresi (gün)</i>										
0	16	53.89±2.34 <sup>a</sup>	5.01±2.19 <sup>b</sup>	3.53±1.52 <sup>b</sup>	70.00±32.59 <sup>a</sup>	41.38±6.99 <sup>b</sup>	149.88±36.03 <sup>b</sup>	177.13±16.83 <sup>a</sup>	161.63±44.72 <sup>b</sup>	0.89±0.32 <sup>b</sup>
21	16	53.79±2.54 <sup>a</sup>	5.96±2.22 <sup>a</sup>	4.18±1.29 <sup>a</sup>	63.25±30.43 <sup>b</sup>	57.13±6.81 <sup>a</sup>	205.50±30.90 <sup>a</sup>	165.19±17.76 <sup>b</sup>	228.88±42.44 <sup>a</sup>	1.18±0.23 <sup>a</sup>
<i>Buğday çeşidi</i>										
Bezostaya-1a	8	56.60±0.47 <sup>a</sup>	6.38±0.74 <sup>b</sup>	4.45±0.25 <sup>b</sup>	40.00±6.00 <sup>a</sup>	54.50±11.21 <sup>a</sup>	202.75±33.32 <sup>a</sup>	155.50±10.66 <sup>d</sup>	238.25±49.47 <sup>a</sup>	1.30±0.18 <sup>a</sup>
Bezostaya-1b	8	55.20±0.24 <sup>b</sup>	8.33±0.95 <sup>a</sup>	5.70±0.36 <sup>a</sup>	36.50±7.33 <sup>a</sup>	51.00±6.78 <sup>a</sup>	192.50±28.21 <sup>b</sup>	160.38±7.04 <sup>c</sup>	212.00±33.30 <sup>b</sup>	1.18±0.21 <sup>a</sup>
Gerek-79a	8	50.68±0.59 <sup>d</sup>	4.13±0.54 <sup>c</sup>	2.60±0.41 <sup>c</sup>	87.00±6.38 <sup>b</sup>	44.00±11.40 <sup>c</sup>	163.00±55.96 <sup>c</sup>	176.25±9.83 <sup>b</sup>	170.50±61.01 <sup>c</sup>	0.88±0.25 <sup>b</sup>
Gerek-79b	8	52.88±0.17 <sup>c</sup>	3.13±0.67 <sup>d</sup>	2.65±0.64 <sup>c</sup>	103.00±9.83 <sup>a</sup>	47.50±13.03 <sup>b</sup>	152.50±45.61 <sup>d</sup>	192.50±13.80 <sup>a</sup>	160.25±48.30 <sup>d</sup>	0.78±0.31 <sup>b</sup>
<i>Ozon uygulaması</i>										
0	16	54.13±2.40 <sup>a</sup>	5.15±2.00 <sup>b</sup>	3.75±1.41 <sup>b</sup>	70.88±30.76 <sup>a</sup>	44.63±9.50 <sup>b</sup>	157.50±35.28 <sup>b</sup>	177.38±19.35 <sup>a</sup>	172.00±46.40 <sup>b</sup>	0.90±0.26 <sup>b</sup>
O <sub>3</sub>	16	53.55±2.45 <sup>a</sup>	5.83±2.44 <sup>a</sup>	3.95±1.49 <sup>a</sup>	62.38±32.04 <sup>b</sup>	53.88±9.89 <sup>a</sup>	197.88±42.95 <sup>a</sup>	164.94±14.74 <sup>b</sup>	218.50±54.75 <sup>a</sup>	1.16±0.31 <sup>a</sup>

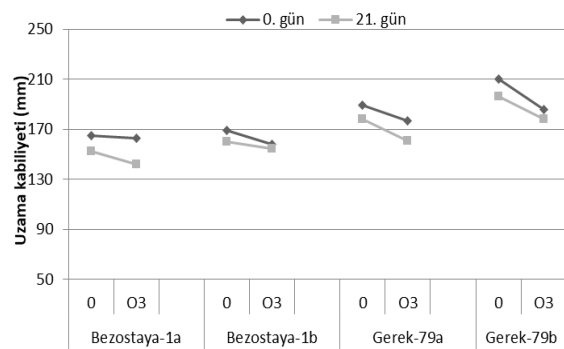
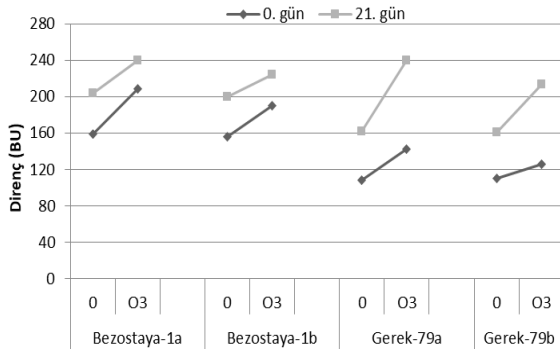
<sup>1</sup>Aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklı değildir (p<0.05).



Şekil 2. Farinogram stabilite değeri ile ekstensogram enerji değeri üzerine etkili "buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonu

Ekstensograf denemelerinde elde edilen verilere ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarından da anlaşılacağı gibi (Tablo 6), onların 21 günlük doğal dinlendirme süreci, hamurun enerji, direnç, maksimum direnç ve oran sayısını yükseltmiştir. Kuvvetli-sert karakterdeki Bezostaya-1 buğdaylarından elde edilen unlar daha üstün ekstensogram özellikleri göstermiştir. Ozon gazı uygulaması; enerji, direnç, maksimum direnç ve oran sayısı değerlerini artırırken uzama kabiliyetini düşürmüştür. Tablo 6 incelendiğinde, bu olumlu gelişmeler 21 günlük doğal olgunlaşmaya bağlı gelişmeler ile büyük benzerlik taşımaktadır. Şekil 2'de yer alan enerji değeri üzerine etkili bulunan "buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonundan, ozon uygulamasının enerji değerini artırıcı etkisi açık bir

şekilde görülmektedir. Şekil 3'te gösterilen ekstensografda direnç parametresi üzerinde etkili olan "dinlendirme süresi x buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonuna (p<0.01), göre dirençteki artışın, uzamada görülen düşüşlere göre çok abartılı olması, hamur enerjisi artışına önemli düzeyde yansımıştır. Maksimum direnç değerleri, uzamaya karşı direnç değerlerine paralel gidış göstermiştir. Ozonasyon ve dinlendirme işlemleri birlikte sinerjistik etkide bulunur. Demir ve ark. [31] da benzer şekilde, una ozon gazı uygulamanın hamurda direnci artırırken, uzama kabiliyetini ise istatistik bakımından önemsiz düzeyde düşürdüğünü; bu sebeple enerji değerinde önemli düzeyde (p<0.05) artış olduğunu tespit etmişlerdir.

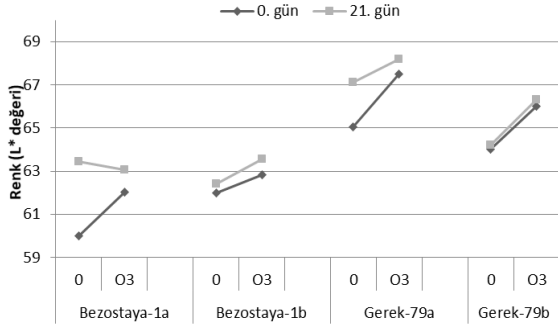


Şekil 3. Ekstensogram özellikleri üzerine etkili "dinlendirme süresi x buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonu



oluşumunda, özellikle Maillard ve karamelizasyon olaylarının etkili olduğu bilinir [1, 32]. Burada beklenenin aksine Maillard ve karamelizasyon olaylarına bağlı

kabuk rengi değişimi sekonder etken durumuna gelmiş veya oksidatif faktörler tarafından inhibe edilmiş olabilir.



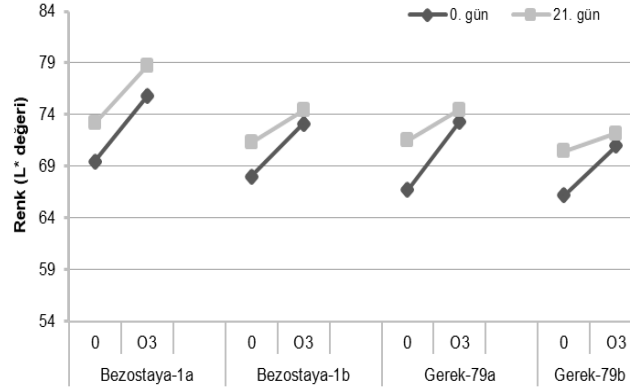
Şekil 4. Ekmek kabuk parlaklığı (L\*) ve kırmızılığı (a\*) üzerine etkili "dinlendirme süresi x buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonu

Ekmeklerin iç özellikleri kapsamında, gözenek yapısı, ekmek içi sertliği ve iç rengi kalite ölçüsü olarak incelenmiş ve sonuçlar Tablo 7'de özetlenmiştir. Ekmek içinde ipeksi tekstür, ince cidarlı ve küçük gözenek yapısı tercih edilen bir kalite özelliğidir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, 21 gün dinlendirilmiş ve ozonasyona tabi tutulan unlar ile, kuvvetli buğday unu (Bezostaya-1) daha yüksek gözenek yapısı puanları toplamıştır. Kotancılar ve ark. [56], farklı sürelerde dinlendirdiği unların ekmeklerinde gözenek yapılarının 1. haftadan itibaren düzeldiğini ve 3 haftalık depolama süresi sonunda en yüksek gözenek puanının elde edildiğini rapor etmiştir. Bayrakçı ve ark. [46], sert Bezostaya-1 buğday unundan üretilen ekmeklerin, yumuşak Gerek-79 buğday unundan üretilen ekmeklere göre daha iyi gözenek yapısına sahip olduklarını belirlemiştir. Ozon uygulaması ekmek içi gözenek yapısını geliştirici etkide bulunmuştur. Burada ozonun un ve hamur kalitesi ile ekmek hacmini artırıcı özelliği, ekmek içi gözenek yapısının gelişmesinde de etkili olmuştur.

Ekmek bayatlamasının takibi açısından ekmek içi sertliğinin belirlenmesi önemli bir tahmin parametresidir. Ekmek üretimini takiben 24 ve 72. saatlerde ölçülen ekmek içi sertlik değerlerine ait Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçları, unların 21 gün dinlendirilmesi ile şahit ekmeklere göre daha düşük iç sertliği oluştuğunu, yani daha yumuşak tekstürlü veya geç bayatlayacak ekmek elde edildiğini göstermektedir (Tablo 7). Sert karakterli Bezostaya-1 buğdaylarından elde edilen unlardan hazırlanan ekmekler yumuşak karakterli Gerek-79 buğdaylarının unlarından hazırlananlara göre daha düşük ekmek içi sertlik değerleri vermiştir. Una ozon uygulaması 24 ve 72. saat ekmek içi sertlik değerlerinin düşmesine neden

olmuştur. Bu tespitler, ozonasyona bağlı oksidatif hamur gelişmesinin ekmeğin diğer kalitatif özellikleri yanında, ekmek içi tekstürü ve bayatlamayı geciktirmede de olumlu gelişmelere sebep olacağını göstermektedir. Chittrakorn ve ark. [57], kek üretiminde kullanılan buğday ununa uygulanan ozonlama işleminin süresinin artması ile kek örneklerinin sertliğinin azaldığını bildirmişlerdir.

Ekmek iç renginin parlaklığı veya beyazlığı, gözenek, yani ekmek içi tekstürünün inceliği ve pişme kalitesinin yüksekliğine ölçü sayılır. Ekmek içi L\* ve b\* değerleri üzerinde dinlendirme süresi, buğday çeşidi ve ozon uygulaması önemli etkide bulunmuştur. Unlara 21 gün dinlendirme uygulaması, sert buğday unu kullanımı ve ozon uygulaması ekmek içi parlaklığını artırırken, sarılığının da düşmesine neden olmuştur. Kotancılar ve ark. [56] da, aynı yönlü benzer sonuçlara ulaşmıştır. Ozon uygulaması, un renginde olduğu gibi, ekmek içi renginde de L\* değerinin yükselmesine neden olmuştur. Demir ve ark. [31] una ozon uygulaması ile ekmek içi parlaklığının kontrole göre yükseldiğini, sarılığının ise düştüğünü belirlemiştir. Ekmek içi parlaklık değeri üzerinde p<0.01 seviyesinde önemli çıkan "dinlendirme süresi x buğday çeşidi x ozon uygulaması" interaksyonuna ozonasyonun etkisi açısından bakıldığında, öğütmeyi takiben yapılan ozon uygulamasının 21 gün dinlendirilmiş unlara oldukça yakın beyazlık gösterdiği, 21 günlük dinlendirme ile bunun sinerjistik bir etkiye dönüştüğü görülmektedir (Şekil 5). Ozon gazının hava ortamında ancak 3 günde yarılanabildiği düşünüldüğünde [8], üç haftalık depolama sürecinde de ağarmanın devam ettiği ve bunun ekmek içi beyazlık derecesine yansıtıldığı, daha uzun sürelerde etkinliğin artacağı söylenebilir.



Şekil 5. Ekmek içi parlaklığı (L\*) üzerine etkili “dinlendirme süresi x buğday çeşidi x ozon uygulaması” interaksiyonu

## SONUÇLAR

Bu araştırmada, una ozon gazı uygulamasının farklı buğday çeşidi ve dinlendirme süresi açısından etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla laboratuvar tipi bir ozon jeneratörü kullanılarak, renk ve sertlik açısından farklı iki buğday çeşidinin unlarına ozon gazı uygulanmış, daha sonra bu unların ve bu unlara ait hamur ve ekmeklerin bazı kalitatif özellikleri incelenmiştir. Sonuç olarak, unda ozonasyon işleminin öğütmeyi takiben uygulanmasıyla, 3 haftalık dinlendirme süresine eşdeğer ya da yakın un ve hamur özellikleri sağlanabileceği anlaşılmıştır. Kısa süreli ozonasyon işlemi, unun mikrobiyal yükünde düşüşe sebep olmuş, sanitasyon ve raf ömrü açısından önemli bir avantaja sahip olabileceği görülmüştür. Ozonasyon işlemi, unların fitik asit miktarını düşürürken, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitede kayda edilebilir bir değişim olmamıştır. Unda ozonasyon işlemi; un, hamur ve ekmek özelliklerini iyileştirmede, dinlendirme süresi ile birlikte sinerjistik etkide bulunmuştur. Ozonasyona bağlı oksidatif hamur gelişmesinin ekmeğin genel kalitatif özellikleri yanında, uygun ekmek içi tekstürü ile bayatlamayı geciktirmede de olumlu gelişmelere sebep olmuştur. Ozonasyon işleminin endüstriyel ortamda kullanılması ile özellikle lüks unlu mamul ve kek unu üretiminde de faydalı olabileceği tahmin edilmektedir.

## KAYNAKLAR




- [1] Elgün, A., Ertugay, Z. (1995). Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:718, Erzurum.
- [2] Kim, J.G., Yousef, A.E., Dave, S. (1999). Application of fer enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *Journal of Food Protection*, 62(9), 1071-1087.
- [3] Moore, G., Griffith, C., Peters, A. (2000). Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. *Journal of Food Protect*, 63(8), 1100-1106.
- [4] Anonim. (2018). <http://www.ozonuygulamaları.com/> (Erişim: 09.09.2018).
- [5] Kuşçu, A., Pazır, F. (2004). Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları. *Gıda Teknolojisi*, 29(2), 123-129.
- [6] Anık, A. (2007). İklimlendirme sistemlerinde ozon kullanımının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- [7] Sandhu, H.P., Manthey, F.A., Simsek, S., Ohm, J.B. (2011). Comparison between potassium bromate and ozone as flour oxidants in breadmaking. *Cereal Chemistry*, 88(1), 103-108.
- [8] Xu, L. (1999). Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food Technology*, 53(10), 58-63.
- [9] Khadre, M.A., Yousef, A.E. (2001). Sporocidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 131-138.
- [10] İbanoğlu, Ş. (2002). Wheat washing with ozonated water: Effects on selected flour properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(5), 579-584.
- [11] Polat, H. (2009). Dezenfeksiyon amaçlı ozon kullanımı. *Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yunus Araştırma Bülteni*, 9(2), 14-17.
- [12] Çatal, H., İbanoğlu, Ş. (2010). Gıdaların ozonlanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(3), 47-55.
- [13] Tiwari, B.K., Brennan, C.S., Curran, T., Gallagher, E., Cullen, P.J., O'Donnell, C.P. (2010). Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science*, 51, 248-255.
- [14] Kim, J.G., Yousef, A.E., Khadre, M. A. (2003). Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research*, 45, 167-218.
- [15] Varga, L., Szigeti, J. (2016). Use of ozone in the dairy industry: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 69, 157-168.
- [16] Tzortzakakis, N., Chrysargyris, A. (2017). Postharvest ozone application for the preservation of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, 33, 270-315.
- [17] Hampson, B.C., Montevalco, J., Williams, D.W. (1996). Regulation of ozone as a food sanitising agent: Application of ozonation in sanitising vegetable process wash-waters. *IFT Annual*



- Meeting, *Book of Abstracts*, p. 140, Institute of Food Technologist, USA.
- [18] Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Kitamura, C., Yano, J., Terashita, M., Nishihara, T. (2004). Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiology Immunology*, 19, 240-246.
- [19] Güzel-Seydim, Z., Grene, A.K., Seydim, A.C. (2004). Use of ozone in the food industry. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37, 453-460.
- [20] Cemeroğlu, B., Yemencioğlu, A., Özkan, M. (2001). Meyve ve Sebzelerin Bileşimi Soğukta Depolanmaları. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:494, Ankara.
- [21] László, Z., Hovorka-Horváth, Z., Beszédes, S., Kertész, S., Gyimes, E., Hodúr, C. (2008). Comparison of the effects of ozone, UV and combined ozone/UV treatment on the color and microbial counts of wheat flour. *Ozone: Science & Engineering*, 30(6), 413-417.
- [22] Desvignes, C., Chaurand, M., Dubois, M., Sadoudi, A., Abecassisve, J., Lullien-Pellerin, V. (2008). Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. *Journal of Cereal Science*, 47, 245-251.
- [23] VonGunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37, 1443-1467.
- [24] Obadi, M., Zhu, K.X., Peng, W., Zhou, H.M., Sulieman, A.A., Mohammed, K., Zhou, H.M. (2018). Shelf life characteristics of bread produced from ozonated wheat flour. *Journal of Texture Studies*, 49(5), 492-502.
- [25] Mendez, F., Maier, D.E., Mason, L.J., Woloshuk, C.P. (2003). Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. *Journal of Stored Products Research*, 39, 33-44.
- [26] İbanoğlu, Ş. (2001). Influence of tempering with ozonated water on the selected properties of wheat flour. *Journal of Food Engineering*, 48, 354-350.
- [27] Sandhu, H.P., Manthey, F.A., Simsek, S. (2011). Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1576-1584.
- [28] Sui, Z., Yao, T., Zhong, J., Li, Y., Kong, X., Ai, L. (2016). Ozonation treatment improves properties of wheat flour and the baking quality of cake. *Philippine Agricultural Scientist*, 99, 50-57.
- [29] Dubois, M., Coste, C., Despres, A.G., Efstathiou, T., Nio, C., Dumont, E., Parent-Massin, D. (2006). Food Additives & Contaminants: Part A- Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment. Taylor & Francis Limited, 23, 1.
- [30] Gwartz, J. (2009). Ozone use in flour milling: Researchers aggressively testing the chemical compound as a replacement for chlorine gas in controlling microbial contamination. *World Grain*, 75-79.
- [31] Demir, M.K., Elgün, A., Elgün, M.S. (2011). Farklı tip unlara ozon uygulamasının un, hamur ve ekmek kalitesi üzerine etkisi. *Gıda*, 36(4), 209-216.
- [32] Pylar, E.J. (1988). Baking Science and Technology. 3<sup>th</sup> Edition, Two volume sets, Sosland Pub. Co.
- [33] Piemontese, L., Messia, M. C., Marconi, E., Falasca, L., Zivoli, R., Gambacorta, L., Perrone, G., Solfrizzo, M. (2018). Effect of gaseous ozone treatments on DON, microbial contaminants and technological parameters of wheat and semolina. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(4), 760-771.
- [34] Obadi, M., Zhu, K.X., Peng, W., Ammar, A.F., Zhou, H.M. (2016). Effect of ozone gas processing on physical and chemical properties of wheat proteins. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(10), 2147-2154.
- [35] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistiksel Metodlar-II), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1021, Ankara.
- [36] Elgün, A., Türker, S., Bilgiçli, N. (2001). Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü. Konya Ticaret Borsası Yayınları, No: 2, Konya.
- [37] AACC. (1990). American Association of Cereal Chemists, Approved Methods of the AACC: 8<sup>th</sup> edition, The Association: St. Paul, MN, USA.
- [38] ICC. (2002). International Association for Cereal Science and Technology, ICC- Vienna, Austria
- [39] Francis, F.J. (1998). Colour analysis, In: *Food Analysis*, Nielsen S.S. (Ed), An Aspen Publishers, Maryland, Gaithersburg, USA, 599-612.
- [40] Anonim (2005), Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, A.K. Halkman (ed), Başak Matbaacılık Limited Şirketi, Ankara, 358.
- [41] Haug, W., Lantzsck, 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.
- [42] Slinkard, K., Singelton, V.L. (1977). Total phenolic analysis, automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- [43] Gamez-Meza, N., Noriega-Rodriguez, J.A., Medina-Juarez, L.A., Ortega Garcia, J., Cazarez-Casanova, R., Angulo-Guerrero, O. (1999). Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. *Journal of the American Oil Chemists Society (JAOCS)*, 76, 1445-1447.
- [44] Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y. (1999). Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacology*, 32(6), 661-667.
- [45] Beta, T., Nam, S., Dexter, J.E., Sapirstein, H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82, 390-393.
- [46] Bayrakçı, H., Türker, S., Elgün, A., Ertas, N., Bilgiçli, N. (2010). Buğdayın tavlanmasında mikrodalga uygulamasının öğütme ve ekmekçilik kalitesine etkisi. *Akademik Gıda*, 8(6), 6-12.
- [47] Marston, K., Khouryieh, H., Aramouni, F. (2015). Evaluation of sorghum flour functionality and quality characteristics of gluten-free bread and cake as influenced by ozone treatment. *Food*

- Science and Technology International*, 21, 631-640.
- [48] Pomeranz, Y. (1988). *Wheat Chemistry and Technology*. AACC, St. Paul, MN, USA.
- [49] Türker, S., Elgün, A. (1998). Süne ve kımıl zararlı buğdayların farklı sıcaklıklarda kısa süreli depolanmasının un özelliklerine etkisi. *Unlu Mamüller Dergisi*, 5(6), 50-58.
- [50] Li, M., Peng, J., Zhu, K.X., Guo, X.N., Zhang, M., Peng, W., Zhou, H.M. (2013). Delineating the microbial and physical-chemical changes during storage of ozone treated wheat flour. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 223-229.
- [51] Bilgiçli, N. (2002). Fitik asitin beslenme açısından önemi ve fitik asit miktarı düşürülmüş gıda üretim metotları. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(30), 79-83.
- [52] Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S., Hansen, A. (2000). Content of phenolic acids and ferulic acid dehydromers in 17 rye (*Secale cereale L.*) varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2837-2842.
- [53] Yu, L., Haley, S., Perret, J., Haris, M. (2004). Comparison of wheat flours grown at different locations for their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 86, 11-16.
- [54] Miller, K.A., Hosney, R.C. (1999). Effect of oxidation on the dynamic rheological properties of wheat flour-water doughs. *Cereal Chemistry*, 76(1), 100-104.
- [55] Li, M.M., Guan, E.Q., Bian, K. (2015). Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and quality evaluation of ozonised wheat. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 32, 544-553.
- [56] Kotancılar, H.G., Çelik, İ., Ertugay, Z., Elgün, A. (1996). Farklı ambalajlarda depolanan katkı ve katkısız unlarda meydana gelen reolojik ve ekmek özelliklerindeki değişimlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 31-49.
- [57] Chittrakorn, S., Earls, D., MacRitchie, F. (2014). Ozonation as an alternative chlorination for soft wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 60, 217-221.
- 
-

## Taze ve Kurutulmuş Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus*) Meyve ve Yaprak Ekstraktlarının Probiyotik ve Patojen Bakteriler Üzerine Etkileri

Ali Değirmencioğlu<sup>1</sup> , Nurcan Değirmencioğlu<sup>2</sup>  

<sup>1</sup>Balıkesir Üniversitesi, Susurluk Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Balıkesir

<sup>2</sup>Bandırma Onyedli Eylül Üniversitesi, Bandırma Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Balıkesir

Geliş Tarihi (Received): 07.09.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 24.10.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [nurcan.degirmencioğlu@gmail.com](mailto:nurcan.degirmencioğlu@gmail.com) (N. Değirmencioğlu)

☎ 0 266 714 93 02 📠 0 266 714 93 04

### ÖZ

Üzümsü meyveler arasında önemli bir yere sahip olan yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*), antioksidan, antimikrobiyal, antidiyabetik, antienflamatuar, antiseptik vb. özellikleri bilinen pek çok fenolik bileşik açısından zengin bir kaynaktır. Son yıllarda patojen bakterilere karşı antimikrobiyal etkiye sahip bitkisel kaynaklar üzerindeki araştırmalar hız kazanmış olup, bu çalışmada Türkiye'nin Erdek ve Kapıdağ yörelerinden 3 farklı lokasyonda doğal olarak yetişen taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktlar ile fenolik standartların bazı bakteri türlerine karşı etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ekstraktların ve standart fenolik bileşiklerin; gıda sanayiinde önem taşıyan *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* spp. *aureus* (ATCC 29213), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Listeria monocytogenes* serotype 1/2b, *Salmonella* Typhimurium, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NRRL B 548, *Lactobacillus casei* NRRL B 1922 ve *Lactobacillus acidophilus* NRRL B 4495 karşı etkileri, disk difüzyon yöntemiyle test edilmiştir. Taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktları doza ve fenolik bileşen içeriğine bağlı olarak patojen ve probiyotik bakteriler üzerinde farklı etkiler göstermiştir. Bakterilere karşı (*L. acidophilus* NRRL B 4495 hariç), kurutulmuş yaprak ekstraktları pozitif kontrol (24-26 mm) ile karşılaştırıldığında en etkili ekstrakt (20-25 mm), şiringik asit (16-26 mm), *trans* ferulik asit (14-26 mm) ve naringin (14-26 mm) en etkili; kafeik asit (16-18), resveratrol (16-19 mm) ve (+)-kateşin (16-18 mm) en az etkili fenolik bileşik olmuştur. Standart fenolik bileşiklere en dayanıklı patojenler sırasıyla *S. Enteritidis* (ATCC 13076), *L. monocytogenes* serotype 1/2b ve *S. Typhimurium*'dur. Şiringik asit, hesperidin, 3-hidroksi-4-metoksi sinnamik asit ve rutin hidratin ise probiyotikler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, yaban mersini ekstraktlarının patojenlere ve LAB'ne (*L. acidophilus* hariç) karşı etkili olabileceği ve doğal koruyucu olarak geliştirilme potansiyelinin bulunduğu, fenolik bileşiklerin ise farklı etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibakteriyel aktivite, Disk difüzyon, Yaban mersini, Ekstrakt, Fenolik bileşik

### Effect of Fresh and Dried Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) Fruit and Leaf Extracts on Probiotics and Pathogens

#### ABSTRACT

Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) has a significant place among berry fruits, and is a rich source of phenolic compounds with antioxidant, antimicrobial, anti-diabetic and anti-inflammatory properties. Recently, studies on plant-derived antimicrobial agents against pathogens have increased. In this study, the antibacterial activity of fresh and dried blueberry fruit and leaf extracts grown in three different locations of Erdek and Kapıdağ, Turkey and phenolic standards were determined. The extracts and phenolic standards were tested against *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* spp. *aureus* (ATCC 29213), *Enterobacter aerogenes*

(ATCC 13048), *Listeria monocytogenes* serotype 1/2b, *Salmonella* Typhimurium, *Lactobacillus delbrueckii* NRRL B 548, *Lactobacillus casei* NRRL B 1922, and *Lactobacillus acidophilus* NRRL B 4495 by the disc diffusion method. Fresh and dried blueberry fruit and leaf extracts exhibited phenolic composition with a dose-dependent inhibitory effect against the growth of pathogens and probiotics. The dried leaf extracts were the most effective (20-25 mm) against all bacteria (except *L. acidophilus* NRRL B 4495) in comparison to positive control (24-26 mm) while syringic acid (16-26 mm), *trans* ferulic acid (14-26 mm), and naringin (14-26 mm) were the most effective and caffeic acid (16-18 mm), resveratrol (16-19 mm) and (+)-catechin (16-18 mm) were the least effective phenolics on all pathogens. *S. Enteritidis* (ATCC 13076) was the most resistant to phenolics, followed by *L. monocytogenes* serotype 1/2b and *S. Typhimurium*. Syringic acid, hesperidin, 3-hydroxyl-4-methoxy-cinnamic acid, and rutin hydrate were the effective phenolics on LAB. Results indicated that blueberry extracts are effective against pathogens and LABs (except *L. acidophilus*), and they may have an important potential as a natural preservative while phenolic standards may exhibit variations in their effects.

**Keywords:** Antibacterial activity, Disc diffusion, Blueberry, Extract, Phenolics

## GİRİŞ

Bitki, hayvan ve bakteri hücreleri tarafından sentezlenen doğal antimikrobiyal bileşikler, izole edildikleri kaynaklara göre 6 grupta sınıflandırılmaktadır. Fito-antimikrobiyaller grubuna dahil olan fenolik bileşikler de bitkisel kaynaklı gıdalarda geniş dağılım göstermektedir [1]. İnsan sağlığı üzerinde pek çok olumlu etkisi (antioksidan, antihipertansif, antidiyabetik, antiobesite, antienflamatuar, antiseptik, antimikrobiyal vb.) bulunan fenolik bileşiklerin absorpsiyonu ve biyoyararlılığı ince bağırsaklardaki metabolik reaksiyonlara bağlı olarak değişmekte, mide ve ince bağırsaklarda absorbe edilmeyen bu bileşikler kolon mikrobiyotası tarafından parçalanabilmektedir [2-11].

Dünya genelinde doğal ve kültüre alınmış biçimde yetişen ve yetiştiriciliği yapılan, *Ericaceae* familyasının *Vaccinium* cinsine dahil *Vac.myrtillus* (*yaban mersini*) meyve ve yapraklarının yüksek düzeyde fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunu belirtir pek çok çalışma bulunmaktadır [1-3, 12-20]. *Yaban mersini* meyve ve yaprakları, fenolik bileşen, (özellikle fenolik asitler, antosiyaninler), içerikleriyle huzursuz barsak sendromu, idrar yolu enfeksiyonları, kardiyovasküler hastalıklar, Alzheimer ve kanser gibi pek çok hastalıkta olumlu etki göstermektedir. Fenolik asitler, flavonoidler, özellikle de antosiyanin ve proantosiyanidinlerin, patojenlerin barsak epitelyum dokularının yüzeyine tutunmalarını engelleyecek antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bildirilmektedir [20-24].

Gıda kaynaklı enfeksiyonlarda, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes*, enterohemorajik *E. coli* O157:H7 gibi patojenler ilk sıralarda yer almakta ve dünya genelinde ölümcül sonuçlara sebep olabilmektedir. Buna karşın, fermente gıdaların üretiminde kullanılan probiyotikler, özellikle de laktik asit bakterileri (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* vb.) sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin yanısıra, barsak sağlığını iyileştirici (akut ishal, yangısal barsak hastalıklarında) ve antibiyotik uygulamalarına alternatif olmaları sebebiyle dikkat çekmektedirler [23, 25].

*Vaccinium* cinsine dahil bitkilerdeki fenolik bileşiklerin patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri; bitkinin çeşidine, yetiştirildiği bölge, toprak koşulları ve mevsime, olgunluk derecesine, hasat

sonrası depolama koşullarına, mikroorganizmanın türüne, fenolik bileşiklerin yapısına, ekstraksiyonda kullanılan çözücü, çözücünün polaritesi ve ekstraksiyon yöntemine, uygulanan doza bağlı olarak değişiklik göstermekte, aynı bileşikler laktik asit bakterileri üzerinde ise stimüle edici rol oynamaktadırlar [3, 13-14, 17, 22, 26-28].

Bu çalışmada, taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yapraklarından elde edilen fenolik bileşen ekstraktlarının ve standart fenolik bileşiklerin patojen (*S. Enteritidis* (ATCC 13076), *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 29213), *E. aerogenes* (ATCC 13048), *L. monocytogenes* serotype 1/2b, *S. Typhimurium*) ve probiyotik (*L. delbrueckii* NRRL B 548, *L. casei* NRRL B 1922 ve *L. acidophilus* NRRL B 4495) bakteriler üzerine antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Marmara Bölgesi'nin Kapıdağ (470 m yükseklik) ve Erdek (deniz seviyesi) yörelerinden 3 farklı bölgeden toplanan *yaban mersini* meyve ve yaprakları, hasarlı kısımlarından ve yabancı maddelerinden temizlendikten sonra 2 kısma ayrılmıştır. İlk kısım 50°C'de 2 saat süreyle sıcak hava üfleyen bir kurutma dolabında kurularak vakum ambalajlama ile poliamid-polietilen poşet film ( $PO_2 = 15 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$  at 23°C and 75% relative humidity; Flexopack S.A. Plastics Industry, Koropi, Yunanistan) kullanılarak paketlenmiş (VC 999/K12NA packing machine, Verpackungs systeme AG, Herisau, İsviçre), 2.kısım meyve ve yaprak örnekleri ise taze olarak aynı ambalaj malzemesiyle pakettikten sonra, her iki grup analiz edilinceye kadar - 20±2°C'de muhafaza edilmiştir.

Meyve ve yaprak fenolik ekstraktlarının hazırlanmasında, Ehlenfeldt ve Prior [2] tarafından önerilen yöntem, içeriğinde değişiklik yapılarak uygulanmıştır. Taze ve kurutulmuş *yaban mersini* meyve ve yaprak örneklerinde (2 g); meyve fenolik ekstraktları için metanol (Merck 10609, 20 mL, 2 kez), yaprak fenolik ekstraktları için ise, yağ içeriklerinden dolayı sırasıyla aseton (≥%99.9, Merck 100012, 20 mL, 2 kez) ve metanol (≥%99.9, Merck 10609, 20 mL, 2 kez) kullanılmış, ekstraksiyon 20°C'de 15 dakika süreyle 90 W ve 53 kHz'lik ultrasonik banyo (Kudos SK2200 HP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar,

4°C'de 1372xg kuvvetinde 10 dakika santrifüjlendikten sonra (Sigma 3K30, İngiltere), sıvı kısımlar ayrılarak vakum altında döner buharlaştırıcıda (40°C, Heidolph Laborota 4001, Almanya) çözücülerini uzaklaştırılarak 5 mL'ye konsantre edilmiştir. Ekstrakt hacmi 10 mL olacak şekilde metanol ile seyreltilen ekstraktlar, 0.2 µm (Minisart 16534, Sartorius Biotech GmbH 37070 Goettingen, Almanya) filtreden geçirilerek kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Antibakteriyel etkinin belirlenmesinde kullanılacak fenolik bileşikler 100 mg/mL konsantrasyonda (stok çözelti) hazırlanmış, 0.2 µm filtreden geçirilerek sterilize edilmiş, 50 ve 10 mg/mL düzeyindeki konsantrasyonlar ise, stok çözeltiden seyreltilerek elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan fenolik bileşikler analitik saflıkta olup Fluka (St. Louis, MO, ABD; (gallik asit (91215), resveratrol (34092), (+)-kateşin (43412), (-)-epikateşin (68097)), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD; kuersetin (Q4951)), Sigma (St. Louis, MO, ABD; kafeik asit (C0625), şiringik asit (S6881), *p*-kumarik asit (C9008), naringin (N1376), hesperidin (H5254), rutin hidrat (R5143)), Aldrich (St. Louis, MO, ABD; vanillik asit (H36001), *trans* ferulik asit (128708), 3-hidroksi-4-metoksisinamik asit (10312)), ve HWI Analytik GmbH (Ruelzheim, Almanya) (klorojenik asit (0050-05-09)) firmalarından temin edilmiştir.

Ekstraktların ve fenolik standartların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi [29] uygulanmış, çalışmada kullanılan mikroorganizmalara ait bilgiler ve gelişme koşulları Tablo 1'de belirtilmiştir.

Patojenlere ve laktik asit bakterilerine ait 18-24 saatlik ( $10^7$ - $10^8$  kob/mL) kültürlerinden 100 µL alınarak sırasıyla TS ve MRS agar besiyerine yüzey sürme yöntemiyle ekim yapılmış ve 4°C'de 2 saat süreyle bekletilerek kültürlerin besiyerine difüzyonu sağlanmıştır. Süre sonunda 6 mm çapındaki kağıt diskler (Oxoid CT0998B) besiyeri yüzeyine yerleştirilerek meyve ve yaprak ekstraktları ile standart fenolik bileşikler 20 µL olacak şekilde kağıt disklerle emdirilmiştir. Pozitif kontrol olarak 20 µL kloramfenikol (0.1 g/L, Oxoid SR0078E), 20 µL metanol ise kağıt disklerle emdirilmiş ve buharlaştırıldıktan sonra negatif kontrol olarak kullanılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrilerdeki zon çapları ölçülerek (-: *inhibe edici etki yok*) test edilen mikroorganizmalar üzerine taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının antibakteriyel etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada yapılan analizler üç kez tekrarlanmış ve sonuçlar bu üç değerlerin ortalaması olarak verilmiştir.

### İstatistik Analiz

Analizler sonucunda elde edilen veriler iki yönlü varyans analizi (ANOVA) testiyle SPSS paket programı kullanılarak (SPSS 16.0, Chicago, IL, ABD) değerlendirilmiştir. Elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistikî farklılıkların belirlenmesinde  $p < 0.05$  olasılık düzeyinde LSD (Least Significant Difference) testi kullanılmıştır.

Tablo 1. Antimikrobiyal aktivite belirlenmesinde kullanılan mikroorganizmalar ve gelişme koşulları

Mikroorganizma adı	Kısaltma	Temin edildiği yer	Kullanılan besiyeri ve Gelişme koşulları
<i>S. Enteritidis</i> (ATCC 13076)	SE	Uludağ Üniversitesi Tıp	Tryptic Soy Broth (TSB)/ Tryptic Soy Agar (TSA), (Oxoid CM0129)/ (Oxoid CM0131) 37°C'de 24 saat
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	EC	Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim	
<i>S. aureus</i> (ATCC 29213)	SA	Dalı	
<i>E. aerogenes</i> (ATCC 13048)	EA		
<i>L. monocytogenes</i> serotype1/2b	LSM	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji	de Man Rogosa Sharp Broth/ De man Rogosa Sharp Agar (Merck 1.10661)/(Merck 1.10660) 37°C' de 2 gün
<i>S. Typhimurium</i>	SET	Anabilim Dalı	
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> NRRL B 548	LD	Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı'nın Tarımsal Araştırma Servisi Kültür Koleksiyonu (USDA's	
<i>L. casei</i> NRRL B 1922	LC	Agricultural Research Services Culture Collection)	
<i>L. acidophilus</i> NRRL B 4495	LA		

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının antibakteriyel etkilerine dair inhibisyon sonuçları Tablo 2'de bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre, Erdek yöresinden toplanan taze ve kurutulmuş meyve ekstraktlarına en dirençli mikroorganizmaların *Salmonella* cinsine ait olduğu, meyvelerin taze ya da kurutulmuş olmasının ve lokasyon farklılığının mikroorganizmalar üzerinde farklı inhibisyon etkisi yaratmadığı ( $p > 0.05$ ) belirlenmiştir. Antibakteriyel etkisi en fazla olan ekstraktın, lokasyon etkisi olmaksızın kurutulmuş yaban mersini yapraklarından elde edildiği ve Gram (+) ve Gram (-) patojen bakteriler üzerinde inhibisyon sağladığı, meyve ve yaprak ekstraktlarına en

duyarlı patojen bakterilerin ise, *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes* olduğu tespit edilmiştir. Kurutma işleminin, taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yaprakların antibakteriyel etkisi üzerinde istatistikî olarak farklılığa yol açmadığı ( $p > 0.05$ ), örneklerin toplandığı bölgelerin farklı lokalizasyonda yer almalarının da sonucu etkilemediği saptanmıştır. Literatürde, üzüm meyvelerinden farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların fenolik içeriklerinin *Salmonella* hücreleri üzerinde inhibe edici etkilerinin olduğunu gösteren sonuçlara [3, 13] rastlanılmış olup; Shen ve ark. [30] tarafından yapılan bir çalışmada, Elliott (*Vac. elliotii*), Darrow (*Vac. darrowii*), Duke (*Vac. duke*) ve Bluecrop (*Vac. bluecrop*) çeşitlerinin meyvelerinden elde edilen etanol ekstraktlarının *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis*

üzerinde doza bağlı olarak inhibitör etkiye sahip olduğu, *L.monocytogenes*'in ekstraktlara karşı daha fazla hassasiyet gösterdiği, ekstraktlardaki klorojenik asit, kuersetin, elajik asit ve kuersetin-3-galaktosidin aktif antimikrobiyal etkili bileşikler olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada, yaban mersininden elde edilen %100 etanol ekstraktının *L. monocytogenes* ve *S. Enteritidis* üzerindeki etkili dozunun 24 ppm olduğu [6], %100 yaban mersini suyunun ise *S. Typhimurium* ve *L.*

*monocytogenes* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir [14]. Bögürtlen, ahududu ve çilek meyveler üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise sıvı ve katı besiyerine ilave edilen 1 mg/mL dozdaki meyve sularının 24 saatte *S. Typhimurium* üzerinde inhibe edici etki gösterdiği [3], tam yağlı ve yağsız süte ilave edilen bögürtlen suyunun (%10, v/v) ise *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* seviyelerinde 2-4 log kob/mL düzeylerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir [25].

Tablo 2. Disk difüzyon testinde taze ve kurutulmuş meyve ve yaprak ekstraktlarının patojenler ve probiyotikler üzerinde oluşturduğu inhibisyon etkisi

Ekstrakt	Gram (-)				Gram (+)		Laktik asit bakterileri		
	SE	SET	EC	EA	LSM	SA	LD	LC	LA
ETM (mm)	-	-	22±0.25 <sup>Aak</sup>	23±0.40 <sup>Aabk</sup>	22±0.29 <sup>Ab1</sup>	22±0.12 <sup>Aak</sup>	19±0.14 <sup>Aak</sup>	18±0.44 <sup>Abk</sup>	-
EKM (mm)	20±0.23 <sup>Aak</sup>	-	22±0.12 <sup>Aam</sup>	22±0.20 <sup>Ab1</sup>	23±0.14 <sup>Abm</sup>	23±0.27 <sup>Aak</sup>	-	-	-
KTM (mm)	-	-	-	24±0.17 <sup>Kak</sup>	25±0.48 <sup>Kak</sup>	-	18±0.15 <sup>Kbk</sup>	19±0.18 <sup>Kak</sup>	-
KKM (mm)	-	19±0.446 <sup>Aak</sup>	-	23±0.38 <sup>Kabl</sup>	24±0.52 <sup>Kam</sup>	-	18±0.27 <sup>Kbm</sup>	-	-
ETY (mm)	22±0.34 <sup>Ebk</sup>	24±0.13 <sup>Aak</sup>	-	23±0.44 <sup>Ack</sup>	2418±0.16 <sup>Abk</sup>	24±0.23 <sup>Abk</sup>	-	18±0.54 <sup>Abk</sup>	-
EKY (mm)	24±0.61 <sup>Aam</sup>	24±0.29 <sup>Aam</sup>	23±0.63 <sup>Abn</sup>	24±0.17 <sup>Abm</sup>	23±0.50 <sup>Acn</sup>	24±0.32 <sup>Abn</sup>	20±0.44 <sup>Aam</sup>	-	-
KTY (mm)	23±0.39 <sup>Kbk</sup>	23±0.27 <sup>Kbk</sup>	-	24±0.14 <sup>Kbk</sup>	25±0.46 <sup>Kak</sup>	-	-	19±0.23 <sup>Kak</sup>	-
KKY (mm)	24±0.18 <sup>Kam</sup>	24±0.19 <sup>Kam</sup>	25±0.42 <sup>Kam</sup>	25±0.21 <sup>Kam</sup>	25±0.30 <sup>Kam</sup>	25±0.15 <sup>Kam</sup>	20±0.23 <sup>Kam</sup>	20±0.12 <sup>Kam</sup>	-
Pozitif kontrol (mm) <sup>1</sup>	25±0.23	26±0.61	26±0.23	26±0.18	26±0.34	26±0.32	24±0.23	24±0.19	25±0.50
Negatif kontrol (mm) <sup>2</sup>	12±0.49	12±0.63	13±0.41	13±0.55	12±0.55	12±0.26	12±0.29	12±0.35	14±0.52

E: Erdek, K: Kapıdağ, T: Taze, K: Kurutulmuş, M: Meyve, Y: Yaprak, <sup>1</sup> Kloramfenikol, <sup>2</sup> Metanol, -: *inhibe edici etki yok*; SE: *S. Enteritidis* (ATCC 13076); SET: *S. Typhimurium*; EC: *E. coli* (ATCC 25922); EA: *E. aerogenes* (ATCC 13048); LSM: *L. monocytogenes* serotype1/2b; SA: *S. aureus* (ATCC 29213); LD: *L. delbrueckii* NRRL B 548; LC: *L. casei* NRRL B 1922; LA: *L. acidophilus* NRRL B 4495, Değerler; ortalama ± standart sapma (tabloda verilen zon çapları kağıt disk çapını içermektedir), A-B, K-L: Aynı sütundaki farklı büyük harfler taze veya kurutulmuş olmasına göre meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05), a-c: Aynı sütundaki farklı harfler meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05), k-l, m-n: Aynı sütundaki farklı harfler lokalizasyon farklılığına göre meyve ve yaprak ekstraktları arasındaki farklılıkları (p<0.05) ifade etmektedir.

Gr (-) bakteriler, fenolik bileşiklerin toksik etkisinden kendilerini koruyabilmek için efflux pompa sistemine sahip iken, Gr (+) bakteriler kalın peptidoglikan hücre duvarları sayesinde kendilerini çevre koşullarına karşı koruyabilmektedir [31]. Ayrıca Gr (-) bakterilerin hücre duvarının dış katmanlarındaki lipopolisakaritler immunomodilatör bileşikler olup, yağ asidi profilinde görülün değişikliklerin bakteri metabolizmasında bozulmalara neden olabileceği ve *L. monocytogenes*'in fenolik bileşiklere karşı olan hassasiyetini arttırabileceği ifade edilmektedir [32]. Nohynek ve ark. [13] yaptıkları çalışmalarında, farklı üzümü meyvelere ait aseton:su (70:30, v/v) ekstraktlarının patojenler üzerindeki antibakteriyel etkilerini incelemişler ve ekstraktların gallik asit içeriklerine bağlı olarak *Salmonella* türleri üzerinde hücre zarı geçirgenliğinde artışa sebep olduklarını ve antibakteriyel etki gösterdiklerini, 12 ay depolama sonrası ekstraktlardaki antibakteriyel etkinin azaldığını belirlemişlerdir. *Vac. macrocarpon* üzerinde yapılan çalışmalarda *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 gibi patojenler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği [33, 34]; *Vac. oxycoccus* L. meyvelerine ait metanol ekstraktlarının *S. aureus* üzerinde orta düzeyde, *E. coli* üzerinde ise belirgin düzeyde inhibe edici etkiye sahip olduğu [35]; aynı bitkinin Avrupa'da yetişen türlerine ait etanol ekstraktlarının ise *E. coli*, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* üzerinde benzer etki gösterdiği belirlenmiştir [36]. Kylii ve ark. [37] ise polimerik proantosiyanidin fraksiyonuna sahip *Vac. vitis-idaea* ve *Vac. microcarpon*'un *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken, *S. Typhimurium*, *L. rhamnosus* ve *E. coli* üzerinde etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir. *Vac. arctostaphylos* yaprak ve meyvelerinin su ekstraktlarının *S. Typhimurium* üzerinde metanol ekstraktlarına göre daha yüksek antimikrobiyal

etki gösterdiği belirlenmiştir [38]. Kryvtsova ve ark. [39] ise *Vac. vitis-idaea* türünün meyve ve yapraklarına ait etanol ve metanol ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* ATCC 25922 üzerindeki antimikrobiyal etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, meyve etanol ekstraktları ile yaprak metanol ekstraktlarının yüksek antimikrobiyal etki (*S. aureus*) gösterdiği, fırsatçı mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösteren probiyotik türler (*L. plantarum*) üzerinde aynı etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir. *Vac. myrtilus* L.'e ait yaprak ve meyve metanol ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* ATCC 9863 üzerindeki antimikrobiyal etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada ise *S. aureus*'un en hassas mikroorganizma olduğu belirlenmiştir [6]. Üzümü meyvelerden elde edilen fenolik ekstraktların; molekül yapılarının küçük olmasından dolayı hücre zarından kolaylıkla geçip hücre içinde çözünerek antimikrobiyal etki gösterdikleri, bu etkinin mikroorganizmaların Gr (+) veya Gr (-) olmalarına bağlı olarak farklı sonuçlar gösterdiği, ekstraktın bitkinin hangi kısmından elde edildiğine, bitkinin yetiştirilme koşulları, toplanma zamanı ve lokasyonu, kurutma koşulları, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün çeşidi, polaritesi, konsantrasyon, ekstraksiyon koşullarıyla bitkinin fenolik madde miktarına bağlı olduğu ifade edilmektedir [3-4, 30-41].

Laktik asit bakterileri arasında ise, taze ve kurutulmuş yaban mersini meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktlara en dirençli mikroorganizmanın *L. acidophilus* NRRL B 4495 olduğu belirlenmiştir. Yaban mersini yaprak ekstraktlarının gösterdiği antioksidan ve antibakteriyel etkilerin yüksek fenolik içerikleriyle ilişkili olduğu, bitkinin asidik ve yetersiz besin elementi içeren toprak şartlarında UV ışınlarından,

parazitlerden ve serbest radikallerden kendisini koruyabilmek için fenolik bileşikler sentezlediği, bu bileşiklerin patojenleri gelişimini engellerken probiyotik türler (*L. rhamnosus*) üzerinde de koruyucu etki gösterebildiği ifade edilmektedir [22]. Değirmencioğlu ve ark [42] tarafından yapılan bir çalışmada, taze ve kurutulmuş yaban mersini yaprak ekstraktlarının, meyvelerden elde edilenlerle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda toplam fenol içeriğine sahip olduğu belirlenmiş, bu sonuç farklı üzümü meyve ve yaprakları üzerinde yapılan diğer çalışmaların sonuçlarıyla da doğrulanmıştır [2, 10, 43-44]. Bu çalışmada test edilen *L. casei* NRRL B 1922 ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* NRRL B 548 bakterilerinin, bitkinin meyve ve yaprak kısımlarının kurutulması sırasında ve toplandığı lokasyona bağlı olarak fenolik bileşen kompozisyonunda ortaya çıkan değişimlere göre, farklı direnç ve hassasiyet gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca, meyve ekstraktlarının daha yüksek oranda antosiyanin bileşikler içermesi, yaprakların ise fenolik asitler ve kateşinler açısından zengin olması [42] ve fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etki mekanizmalarındaki farklılıklar, okside olmuş bileşiklerle enzimlerin inhibisyonu, sülfidril gruplarıyla reaksiyonlar, proteinlerle gerçekleştirdikleri spesifik olmayan interaksyonlar ve ortam pH'sındaki değişimler, elde edilen sonuçları anlamlı kılmaktadır [20, 45].

Bakteri hücrelerinde yağ asitlerini barındıran sitoplazmik membran, inhibisyon etkisinin görüldüğü ilk etkileşim noktasıdır. Gr (-) bakterilerin dış membranları yağ asidi bariyeri olarak davranırken, Gr (+) bakterilerde dış membran, iç membrana doğru yağ asitlerinin geçişine izin vermektedir [46, 47]. Bakteri hücre zarının seçici geçirgen özellikte ve hasar görmemiş olması, mikroorganizmaları antibakteriyel etkiden korumaktadır. Flavonollar, sitoplazmik membran fonksiyonlarını veya enerji metabolizmasını inhibe ederek etkili olurken [48], kateşinler ise, yüzey proteinleriyle etkileşime girerek ve/veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturarak bakteri hücrelerine oksidatif strese sokmakta [49], antosiyaninler ise, hücre zarına zarar verdiğinden protein ve nükleik asit kaybına neden olmakta, adenosin trifosfataz (ATPaz), süper oksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerin daha düşük aktivite göstermesine neden olarak patojenlerin gelişmesini engellemektedir [23, 25, 28, 50].

Yapılan çalışmada, yaban mersini meyve ve yapraklarından elde edilen ekstraktların ve standart fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ve pozitif kontrol olarak da *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli* gibi mikroorganizmalar üzerinde etki gösteren geniş spektrumlu antibiyotik, kloramfenikol kullanılmıştır. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Birliği (EUROCAST) tarafından yayınlanan disk difüzyon yöntemi kılavuzunda 30 µg'lık dozlarda önerilen kloramfenikol, *E. coli* (ATCC 25922) ve *S. aureus* ssp. *aureus*'a (ATCC 29213) karşı 24 mm'lik hedef zon çapı oluşturmaktadır [51]. Araştırmada pozitif kontrol dozu (20 µL, 0.1 g/L) uygulanmış, patojenler 18-20 mm zon çapı ile hassasiyet göstermiştir. Fenolik bileşiklerin antibakteriyel etkilerinin belirlenmesine yönelik bu çalışmada; tüm patojenlerin *kafeik asit*,

*resveratrol* ve (+)-*kateşine* karşı direnç gösterdiği (Tablo 3); *şiringik asit*, *trans ferulik asit* ve *naringin*'in ise tüm patojenler üzerinde inhibe edici etkiye (100 mg/mL) sahip olduğu belirlenmiştir. Patojen mikroorganizmalar arasında, fenolik bileşiklere en yüksek direnci gösteren patojenin *S. Enteritidis*, en hassas patojenin ise *E. aerogenes* olduğu tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri arasında ise, en hassas mikroorganizmaların; *L. casei* ve *L. acidophilus* (10 ve 50 mg/mL), tüm laktik asit bakterileri için en düşük dozda (10 mg/mL) inhibe edici etki gösteren fenolik bileşiklerin ise *şiringik asit*, *3-hidroksi-4-metoksisinamik asit*, *hesperidin* ve *rutin hidrat*, tüm dozlarda etkili olan fenolik bileşiklerin ise, *şiringik asit*, *hesperidin* ve *rutin hidrat* olduğu saptanmıştır. Fenolik toksiteye sahip hidroksil grupları içeren fenolik bileşikler, bu grupları sayesinde mikroorganizma hücrelerinde enzimatik aktiviteyi inhibe etmekte, özellikle gallik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler *L. monocytogenes*'in metabolik prolin inhibitörü olarak rol oynamaktadır [30]. Ancak bu çalışmada, saf fenolik bileşiklerin gösteremediği etkiyi, meyve ve yaprak ekstraktlarının hazırlanmasında çözücü olarak kullanılan metanol, suda sınırlı ölçüde çözünmesinin de verdiği etkiyle Gr (-) bakterilerin hidrofilik dış membranlarında hasara yol açıp hücre fonksiyonlarını bozarak, hücre bileşenlerinde kayba neden olup hücreyi öldürerek [52] göstermiştir.

Fenolik bileşikler, hücrenin dinamik dengesini etkileyen ve K<sup>+</sup> kanalları aracılığıyla özellikle K<sup>+</sup> iyonlarının hücre dışına difüzyonunu arttıran hiperpolarizasyona neden olmakta, hücre zarındaki taşıyıcı moleküllerin (Na/H) değişimini gerçekleştirerek bakterilerin düşük ozmotik basınca toleranslarını azaltmakta, lipofilik karakterde ve fenolik hidroksil gruplarına sahip *şiringik asit* gibi fenolik bileşikler, hücrenin membran yapısı, geçirgenliği ve fonksiyonlarına zarar vererek hücre bileşenlerinin (protein, nükleik asit, potasyum veya fosfat gibi inorganik iyonlar) sitoplazmik membran yoluyla difüzyonuna neden olmakta, mikroorganizmaların barsak epitel dokularına tutunmasını engellemekte, protein yapısındaki intraselüler moleküllerin kaybına sebep olarak hücre geçirgenliğini değiştirmekte, mikrobiyal enzimleri inhibe edebilmektedirler. Hidroksil grupları içeren fenolik bileşiklerin (düşük pH'da) hidrojen bağları ve yarattıkları hidrofobik etki ile bazı membran özelliklerinde (hücre içi- ve hücre dışı geçirgenliği, yük vb.) geri dönüşümsüz değişiklikler oluşturması, negatif yüzey yükünde azalmaya, hücre membranlarında por oluşumuna veya lokal kopmalara sebep olarak antimikrobiyal etkiyi güçlendirmektedir [3, 6, 13-14, 22, 31, 52-57].

*Vaccinium* bitkilerinin laktik asit bakterileri üzerindeki etkisini belirlemeye yönelik yapılan çalışmaların sonuçlarında; fenolik bileşiklerin probiyotik bakteriler üzerinde inhibe veya stimüle edici etki gösterdiği ve bu etkinin sitoplazma membranının ve hücre duvarının yapısından, ayrıca hafif asidik şartlarda probiyotiklerin fenolik bileşikleri besin maddesi olarak değerlendirmesinden de kaynaklandığı ifade edilmiştir [3, 14, 22, 25, 28, 58, 59]. Bizim çalışmamızda ise, meyve ve yaprak ekstraktlarıyla fenolik bileşiklerin laktik asit bakterileri üzerinde gösterdikleri etkide, istatistiki

olarak farklılık ( $p < 0.05$ ) tespit edilmiş, etkinin fenolik bileşiklerin bireysel ve bütüncül etkilerinden, gallik asit, *p*-kumarik asit, serbest antosiyaninler gibi pek çok fenolik bileşiğin fermente edilebilir bir enerji kaynağı, hidrojen alıcısı veya büyüme faktörü gibi rol oynayarak bazı laktik asit bakterileri üzerinde (*L.acidophilus*) sitümüle edici etki gösterdiği düşünülmektedir.

*Vac.myrtillus* meyve ve yapraklarının fenolik bileşen kompozisyonunun belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, yeşil kahve çekirdeklerinde 5-O-kafeoil kuinik asit (5-CQA) olarak refere edilen *klorojenik asit*, en baskın fenolik asit olarak bildirilirken [16],

Değirmencioğlu ve ark. [42] tarafından yapılan çalışmada meyve ekstraktlarında en yüksek oranda bulunan fenolik asidin *şiringik asit*, yaprak ekstraktlarında ise bu asidin yanı sıra, *p-kumarik*, *gallik* ve *vanillik asitler* tespit edilmiştir. *Şiringik asit* gibi *p-kumarik asit*, *trans ferulik asit*, *gallik asit*, *klorojenik asit* ve *naringin*'in özellikle Gr (-) ve (+) patojenlere karşı (Tablo 3) demir bağlama kapasitelerinin yüksek olmasından dolayı *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde güçlü antibakteriyel etki göstermesi ve biyofilm oluşumunu engelleme yeteneklerinin bulunması da dikkate değerdir [3, 22, 30-31, 53-60].

Tablo 3. Disk difüzyon testinde fenolik standartların (100 mg/mL/disk) patojenler ve probiyotikler (10, 50 ve 100 mg/mL/disk) üzerinde oluşturduğu inhibisyon etkisi

Fenolik standartlar	Gram (-)				Gram (+)		Laktik asit bakterileri								
	SE	SET	EC	EA	LSM	SA	LD	LC	LA	LD	LC	LA	LD	LC	LA
	100 mg/mL						10 mg/mL			50 mg/mL			100 mg/mL		
Gallik asit	-	-	25±0.12 <sup>Ab</sup>	25±0.31 <sup>Ab</sup>	-	25±0.17 <sup>Ab</sup>	-	16±0.42 <sup>Cb</sup>	16±0.44 <sup>Cb</sup>	17±0.21 <sup>Bab</sup>	17±0.11 <sup>Bab</sup>	17±0.23 <sup>Bb</sup>	18±0.52 <sup>Aa</sup>	19±0.17 <sup>Aa</sup>	19±0.41 <sup>Aa</sup>
Vanillik asit	-	-	-	24±0.19 <sup>Ab</sup>	-	23±0.11 <sup>Ac</sup>	-	-	-	-	-	-	16±0.26 <sup>Ab</sup>	16±0.19 <sup>Ac</sup>	16±0.22 <sup>Ac</sup>
Kafeik asit	-	-	-	-	-	-	16±0.14 <sup>Ab</sup>	-	-	17±0.54 <sup>Ab</sup>	-	-	18±0.19 <sup>Aa</sup>	16±0.21 <sup>Bc</sup>	16±0.10 <sup>Bc</sup>
Klorojenik asit	-	-	24±0.41 <sup>Cc</sup>	24±0.14 <sup>Bb</sup>	-	26±0.26 <sup>Aa</sup>	14±0.17 <sup>Bb</sup>	14±0.18 <sup>Bc</sup>	-	14±0.32 <sup>Bc</sup>	15±0.28 <sup>Ab</sup>	15±0.15 <sup>Ab</sup>	16±0.23 <sup>Ab</sup>	16±0.45 <sup>Ac</sup>	16±0.16 <sup>Ac</sup>
Şiringik asit	26±0.54 <sup>Ab</sup>	26±0.45 <sup>Ab</sup>	26±0.26 <sup>Aa</sup>	26±0.14 <sup>Aa</sup>	25±0.43 <sup>Ab</sup>	26±0.33 <sup>Aa</sup>	16±0.24 <sup>Ca</sup>	18±0.19 <sup>Ba</sup>	18±0.21 <sup>Ba</sup>	18±0.15 <sup>Ba</sup>	18±0.23 <sup>Ba</sup>	18±0.47 <sup>Aa</sup>	18±0.16 <sup>Ba</sup>	19±0.13 <sup>Aa</sup>	19±0.19 <sup>Aa</sup>
<i>p</i> -kumarik asit	25±0.12 <sup>Bb</sup>	26±0.16 <sup>Ab</sup>	27±0.14 <sup>Aa</sup>	26±0.62 <sup>Ab</sup>	-	25±0.27 <sup>Bb</sup>	-	-	-	17±0.19 <sup>Ab</sup>	16±0.12 <sup>Bb</sup>	17±0.21 <sup>Ab</sup>	18±0.38 <sup>Aa</sup>	17±0.35 <sup>Ab</sup>	18±0.17 <sup>Ab</sup>
Trans ferulik asit	26±0.24 <sup>Aa</sup>	26±0.17 <sup>Aa</sup>	26±0.17 <sup>Aa</sup>	26±0.18 <sup>Aa</sup>	24±0.34 <sup>Bb</sup>	26±0.30 <sup>Aa</sup>	14±0.26 <sup>Cb</sup>	-	14±0.22 <sup>Cc</sup>	16±0.27 <sup>Bb</sup>	16±0.19 <sup>Bb</sup>	16±0.29 <sup>Bc</sup>	17±0.44 <sup>Ab</sup>	17±0.12 <sup>Ab</sup>	18±0.30 <sup>Ab</sup>
3-hidroksi-4-metoksi-sinamik asit	-	-	24±0.34 <sup>Ac</sup>	24±0.12 <sup>Ab</sup>	-	-	14±0.11 <sup>Ab</sup>	14±0.21 <sup>Ac</sup>	14±0.16 <sup>Ac</sup>	14±0.32 <sup>Ac</sup>	14±0.22 <sup>Ac</sup>	14±0.16 <sup>Ac</sup>	16±0.24 <sup>Ac</sup>	15±0.19 <sup>Ad</sup>	14±0.29 <sup>Ad</sup>
Naringin	22±0.19 <sup>Cc</sup>	24±0.14 <sup>Bc</sup>	24±0.48 <sup>Bc</sup>	24±0.28 <sup>Bb</sup>	26±0.26 <sup>Aa</sup>	26±0.29 <sup>Aa</sup>	-	-	14±0.12 <sup>Bc</sup>	-	14±0.21 <sup>Bc</sup>	16±0.23 <sup>Ab</sup>	16±0.17 <sup>Ab</sup>	16±0.20 <sup>Ac</sup>	16±0.28 <sup>Ac</sup>
Hesperidin	-	24±0.31 <sup>Bc</sup>	26±0.29 <sup>Ab</sup>	25±0.25 <sup>Ab</sup>	26±0.14 <sup>Aa</sup>	26±0.35 <sup>Aa</sup>	14±0.31 <sup>Bb</sup>	14±0.20 <sup>Bc</sup>	14±0.11 <sup>Bc</sup>	16±0.44 <sup>Ab</sup>	14±0.23 <sup>Bc</sup>	16±0.25 <sup>Bd</sup>	17±0.18 <sup>Ab</sup>	16±0.21 <sup>Ac</sup>	16±0.14 <sup>Ac</sup>
Kuersetin	-	-	25±0.14 <sup>Ab</sup>	24±0.18 <sup>Bb</sup>	26±0.31 <sup>Aa</sup>	26±0.32 <sup>Aa</sup>	-	14±0.14 <sup>Bc</sup>	14±0.23 <sup>Bc</sup>	14±0.21 <sup>Bc</sup>	16±0.42 <sup>Ab</sup>	16±0.12 <sup>Ab</sup>	16±0.26 <sup>Ab</sup>	18±0.31 <sup>Ab</sup>	17±0.09 <sup>Ab</sup>
Rutin hidrat	-	24±0.23 <sup>Bc</sup>	25±0.12 <sup>Ab</sup>	26±0.47 <sup>Aa</sup>	26±0.22 <sup>Aa</sup>	26±0.18 <sup>Aa</sup>	14±0.12 <sup>Bb</sup>	14±0.39 <sup>Bc</sup>	14±0.31 <sup>Bc</sup>	16±0.14 <sup>Ab</sup>	16±0.12 <sup>Ab</sup>	16±0.11 <sup>Ab</sup>	17±0.11 <sup>Ab</sup>	16±0.32 <sup>Ac</sup>	16±0.14 <sup>Ac</sup>
Resveratrol	-	-	-	-	-	-	16±0.15 <sup>Ba</sup>	16±0.24 <sup>Bb</sup>	-	18±0.16 <sup>Aa</sup>	18±0.17 <sup>Aa</sup>	16±0.16 <sup>Bc</sup>	18±0.28 <sup>Aa</sup>	19±0.11 <sup>Aa</sup>	18±0.47 <sup>Ab</sup>
(+)-kateşin	-	-	-	-	-	-	16±0.24 <sup>Ba</sup>	-	16±0.19 <sup>Bb</sup>	17±0.21 <sup>Ab</sup>	16±0.18 <sup>Bb</sup>	18±0.25 <sup>Aa</sup>	18±0.14 <sup>Ab</sup>	17±0.44 <sup>Ab</sup>	18±0.33 <sup>Ab</sup>
(-)-epikateşin	-	24±0.41 <sup>Ac</sup>	-	22±0.15 <sup>Bc</sup>	-	22±0.24 <sup>Bc</sup>	14±0.13 <sup>Cb</sup>	-	14±0.24 <sup>Cc</sup>	16±0.29 <sup>Bb</sup>	-	16±0.14 <sup>Bc</sup>	17±0.63 <sup>Ab</sup>	14±0.25 <sup>Cd</sup>	17±0.52 <sup>Ab</sup>
Pozitif kontrol <sup>1</sup>	25±0.23	26±0.61	26±0.23	26±0.18	26±0.34	26±0.32	24±0.23	24±0.19	25±0.50	24±0.23	24±0.19	25±0.50	24±0.23	24±0.19	25±0.50
Negatif kontrol <sup>2</sup>	12±0.49	12±0.63	13±0.41	13±0.55	12±0.55	12±0.26	12±0.29	12±0.35	14±0.52	12±0.29	12±0.35	14±0.52	12±0.29	12±0.35	14±0.52

<sup>1</sup> Kloramfenikol, <sup>2</sup> Metanol, '-': *inhibe edici etki yok*; SE: *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076); SET: *S. Enteritidis* (ATCC 13076); SET: *S. Typhimurium*; EC: *E. coli* (ATCC 25922); EA: *E. aerogenes* (ATCC 13048); LSM: *L. monocytogenes* serotype 1/2b; SA: *S. aureus* (ATCC 29213); LD: *L. delbrueckii* NRRL B 548; LC: *L. casei* NRRL B 1922; LA: *L. acidophilus* NRRL B 4495, Değerler; ortalama ± standart sapma, (tabloda verilen zon çapları kağıt disk çapını içermektedir), A,B: Aynı satırdaki farklı harfler mikroorganizmalar arasındaki farklılıkları ( $p < 0.05$ ), a-d: Aynı sütundaki farklı harfler fenolik standartlar arasındaki farklılıklar ( $p < 0.05$ ) ifade etmektedir.

## SONUÇ

Araştırma sonuçlarına göre; *şiringik asit* patojenler üzerinde pozitif kontrol (25-26 mm) ile karşılaştırıldığında en etkili (25-26 mm) fenolik bileşik olarak ön plana çıkarken, *vanillik asit* ise en zayıf etkili fenolik bileşik, en hassas mikroorganizmalar ise *E. aerogenes* ve *L. monocytogenes* serotype 1/2b belirlenmiştir. Hem taze hem de kurutulmuş yaban mersini yapraklarından elde edilen ekstraktların; *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerinde zayıf da olsa antibakteriyel etkiye sahip olduğu, LAB arasında ise sadece *L.acidophilus*'un ekstraktlara direnç gösterdiği tespit edilmiştir. *L.rhamnosus*, *L.acidophilus*, *L. casei*, *L.plantarum*, *Bifidobacterium lactis* gibi probiyotik bakterilerle karşılaştırıldığında, *L. monocytogenes*, *S.typhimurium* gibi patojenler yaban mersininde bulunan fitokimyasallara karşı 2 ila 4 kat daha fazla hassasiyet göstermekte, pek çok gıda proseslerinde LAB çeşitli asitler, etanol ve polifenoller gibi antimikrobiallerin varlığında gelişme gösterebilmektedir. Özellikle barsak epitellerinin geçirgenliğinin gastrointestinal hastalıklarda önemli olduğu düşünülecek olursa [61], barsak kökenli bakteriler ve toksinlerinin barsak epitellerinden geçişini

azaltan fenolik bileşiklerce zengin meyvelerin tüketimi ve bu meyvelerin probiyotik katkılı gıda üretimlerinde prebiyotik amaçlı kullanımı önem arz etmektedir. Yaban mersini meyve ve yaprak ekstraktlarının sağlık, kozmetik ve gıda endüstrisinde patojen mikroorganizmalara karşı doza bağlı olarak etkili olabileceği, ekstrakt eldesinde kullanılan çözücünün antimikrobiyal etkide öneminin olduğu, probiyotik bakteri içeren gıda formülasyonlarında ise hem stimüle edici etkilerinden hem de fonksiyonel özelliklerinden dolayı rahatlıkla kullanılabilirliği, ayrıca fenolik bileşenlerin ve gösterdikleri antioksidan, antimikrobiyal vb.etkilerin korunabilmesi amacıyla farklı kurutma yöntemlerinin de denenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAP-18-BMYO-1009-082 nolu projeye desteklenmiştir.





## KAYNAKLAR

- [1] Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2432-2438.
- [2] Ehlenfeldt, M.K., Prior, R.L. (2001). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2222-2227.
- [3] Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., Oksman-Caldentey, K.M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90(4), 494-507.
- [4] Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D., Zhong, Y., Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*, 38, 184-191.
- [5] Silva, S., Costa, E.M., Pereira, M.F., Costa, M.R., Pintado, M.E. (2013). Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control*, 34(2), 645-650.
- [6] Park, Y.J., Biswas, R., Phillips, R.D., Chen, J. (2011). Antibacterial activities of blueberry and muscadine phenolic extracts. *Journal of Food Science*, 76(2), 161-165.
- [7] Kelebek, H., Jourdes, M., Selli, S., Teissedre, P.L. (2013). Comparative evaluation of the phenolic content and antioxidant capacity of sun-dried raisins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(12), 2963-2972.
- [8] Ieri, F., Martini, S., Innocenti, M., Mulinacci, N. (2013). Phenolic distribution in liquid preparations of *Vaccinium myrtillus* L. and *Vaccinium vitis idaea* L. *Phytochemical Analysis*, 24(5), 467-475.
- [9] Burdulis, D., Sarkinas, A., Jasutienė, E., Nikolajevs, L., Janulis, V. (2009). Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66(4), 399-408.
- [10] Li, C., Feng, J., Huang, W.Y., An, X.T. (2013). Composition of polyphenols and antioxidant activity of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) in Nanjing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(3), 523-531.
- [11] Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073-2085.
- [12] Atacan, K., Yanık, D.K. (2017). Yaban mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) suyu konsantresinin püskürtmeli kurutulmada kurutulması: Tepki yüzey yöntemiyle optimizasyon. *Akademik Gıda*, 15(2), 139-148.
- [13] Nohynek, L.J., Alakomi, H.L., Kähkönen, M.P., Heinonen, M., Helander, I.M., Oksman-Caldentey, K.M., Puupponen-Pimiä, R.H. (2006). Berry phenolics: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer*, 54(1), 18-32.
- [14] Biswas, D., Wideman, N.E., O'Bryan, C.A., Muthaiyan, A., Lingbeck, J.M., Crandall, P.G., Ricke, S.C. (2012). Pasteurized blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice growth of bacterial pathogens in milk but allows survival of probiotic bacteria. *Journal of Food Safety*, 32(2), 204-209.
- [15] Bunea, A., Rugina, D.A., Pintea, A.M., Sconta, Z., Bunea, C.I., Socaciu, C. (2011). Comparative polyphenolic content and antioxidant activities of some wild and cultivated blueberries from Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 70-76.
- [16] Kim, S.M., Shanga, Y.F., Um, B.H. (2010). Preparative separation of chlorogenic acid by centrifugal partition chromatography from highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Phytochemical Analysis*, 21(5), 457-462.
- [17] Routray, W., Orsat, V. (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 58, 36-45.
- [18] Pervin, M., Hasnat, M.A., Lim, B.O. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of *Vaccinium corymbosum* L. leaf extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(6), 444-453.
- [19] Norberto, S., Silva, S., Meireles, M., Faria, A., Pintado, M., Calhau, C. (2013). Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1518-1528.
- [20] Caillet, S., Côté, J., Sylvain, J.F., Lacroix, M. (2012). Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. *Food Control*, 23, 419-428.
- [21] Neto, C.C. (2007). Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(6), 652-664.
- [22] Lacombe, A., Wu, W.C.H., White, J., Tadepalli, S., Andre, E.E. (2012). The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 30(1), 124-131.
- [23] Sun, X.H., Zhou, T.T., Wei, C.H., Lan, W.Q., Zhao, Y., Pan, Y.J., Wu, V.C.H. (2018). Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. *Food Control*, 94, 155-161.
- [24] Wu, V.C.H., Qiu, X.J., Bushway, A., Harper, L. (2008). Antibacterial effects of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 41(10), 1834-1841.
- [25] Yang, H., Hewes, D., Salaheen, S., Federman, C., Biswas, D. (2014). Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth promotion of *Lactobacillus*. *Food Control*, 37, 15-20.

- [26] Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S., Finn, C.E., Hancock, J.K. (2002a). Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic contents, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of American Society Horticultural Sciences*, 127(1), 89-97.
- [27] Connor, A.M., Luby, J.J., Tong, C.B.S. (2002b). Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *Journal of American Society Horticultural Sciences*, 127(2), 238-244.
- [28] Yang, G., Yue, J., Gong, X., Qian, B., Wang, H., Deng, Y., Zhao, Y. (2014). Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 46-53.
- [29] Kim, C.H., Jil, G., Ahn, C. (2000). Purification and molecular characterization of a bacteriocin from *Pediococcus* sp. KCA1303-10 isolated from fermented flatfish. *Food Science and Biotechnology*, 9(4), 270-276.
- [30] Shen, X., Sun, X., Xie, Q.L.H., Zhao, Y., Pan, Y., Hwang, C.A., Wu, V.C.H. (2014). Antimicrobial effect of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) extracts against the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis. *Food Control*, 35, 159-165.
- [31] Yow, C.M.N., Tang, H.M., Chu, E.S., Huang, Z. (2012). Hypericin-mediated photodynamic antimicrobial effect on clinically isolated pathogens. *Photochemistry and Photobiology*, 88(3), 626-632.
- [32] Kleerebezem, M., Hols, P., Bernard, E., Rolain, T., Zhou, M. M., Siezen, R.J. (2010). The extracellular biology of the lactobacilli. *FEMS Microbiology Reviews*, 34, 199-230
- [33] Lian, P.Y., Maseko, T., Rhee, M., Ng, K. (2012). The antimicrobial effects of cranberry against *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology International*, 18, 179-186.
- [34] Lacombe, A., McGivney, C., Tadepalli, S., Sun, X., Wu, V.C.H. (2013). The effect of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) constituents on the growth inhibition, membrane integrity, and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in comparison to *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology*, 34, 352-359.
- [35] Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 3-12.
- [36] Česonienė, L., Jasutienė, I., Šarkinas, A. (2009). Phenolics and anthocyanins in berries of European cranberry and their antimicrobial activity. *Medicina (Kaunas)*, 45(12), 992-999.
- [37] Kylli, P., Nohynek, L., Puupponen-Pimiä, R., Westerlund-Wikström, B., Leppänen, T., Welling, J., Moilanen, E., Heinonen, M. (2011). Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) and European cranberry (*Vaccinium microcarpon*) proanthocyanidins: Isolation, identification, and bioactivities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3373-3384.
- [38] Mahboubi, M., Kazempour, N., Taghizadeh, M. (2013) In vitro antimicrobial and antioxidant activity of *Vaccinium arctostaphylos* L. Extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4), 241-247.
- [39] Kryvtsova, M.V., Trush, K., Eftimova, J., Koščová, J., Spivak, M.J. (2019). Antimicrobial, antioxidant and some biochemical properties of *Vaccinium vitis-idaea* L. *Мікробіол. Журн*, 81(3), 40-52.
- [40] Miljković, V.M., Nikolić, G.S., Zvezdanović, J., Mihajlov-Krstev, T., Arsić, B.B., Miljković, M.N. (2018). Phenolic profile, mineral content and antibacterial activity of the methanol extract of *Vaccinium myrtillus* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(1), 122-127.
- [41] Xiaoyong, S., Luming, C. (2014). Phenolic constituents, antimicrobial and antioxidant properties of blueberry leaves (V5). *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(12), 973-979.
- [42] Değirmencioğlu, N., Gürbüz, O., Karatepe, G.E., Irkin, R. (2017). Influence of hot air drying on phenolic compounds and antioxidant capacity of blueberry (*Vaccinium myrtillus*) fruit and leaf. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 90, 115-125.
- [43] Skupień, K., Oszmiański, J., Kostrzewa-Nowak, D., Tarasiuk, J. (2006). In vitro antileukemic activity of extracts from berry plant leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells. *Cancer Letters*, 236(2), 282-291.
- [44] Oszmiański, J., Wojdyło, A., Gorzelany, J., Kapusta, I. (2011). Identification and characterization of low molecular weight polyphenols in berry leaf extracts by HPLC-DAD and LC-ESI/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 12830-12835.
- [45] Cisowska, A., Wojnics, D., Hendrich, A.B. (2011). Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications*, 6(1), 149-156.
- [46] Cueva, C., Moreno-Arribas, V., Martí'n-A'lvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodr'iguez, J.M., Bartolome', B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 161(5), 372-382.
- [47] Celiz, G., Daz, M., Audisio, M.C. (2011). Antibacterial activity of naringin derivatives against pathogenic strains. *Journal of Applied in Microbiology*, 111, 731-738.
- [48] Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- [49] Nikoo, M., Regenstein, J.M., Gavlighi, H.A. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and its potential to preserve the quality and safety of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(9), 732-752.
- [50] Yoon, B.I., Bae, W.J., Choi, Y.S., Kim, S.J., Ha, U.S., Hong, S.H., Sohn, D.W., Kim, S.W. (2018). Anti-inflammatory and antimicrobial effects of anthocyanin extracted from black soybean on

- chronic bacterial prostatitis rat model. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 24(8), 621-626.
- [51] EUCAST, (2018). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 20p (<https://www.ipna.csic.es/sites/default/files/users/user282/EUCAST%202018.pdf>).
- [52] Kang, C.G., Hah, D.S., Kim, C.H., Kim, Y.H., Kim, E., Kim, Y.S. (2011). Evaluation of antimicrobial activity of the methanol extracts from 8 traditional medicinal plants. *Toxicological Research*, 27(1), 31-36.
- [53] Pastene, E., Speisky, H., García, A., Moreno, J., Troncoso, M., Figueroa, G. (2010). In vitro and in vivo effects of apple peel polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7172-7179.
- [54] Hu, Y., Jia, J., Qiao, J., Ge, C., Cao, Z. (2010). Antimicrobial activity of pu-erh tea extracts *in vitro* and its effects on the preservation of cooled mutton. *Journal of Food Safety*, 30(1), 177-195.
- [55] Duh, P.D., Yen, G.C., Yen, W.J., Wang, B.S., Chang, L.W. (2004). Effects of pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8169-8176.
- [56] Shi, C., Sun, Y., Zheng, Z., Zhang, X., Song, K., Jia, Z., Chen, Y., Yang, M., Liu, X., Dong, R., Xia, X. (2016). Antimicrobial activity of syringic acid against *Cronobacter sakazakii* and its effect on cell membrane. *Food Chemistry*, 197, 100-106.
- [57] Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J., Simões, M. (2013). Antibacterial activity and more of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256-265.
- [58] Vivas, N., Lonvaud-Funel, A., Glories, Y. (1997). Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. *Food Microbiology*, 14, 291-300.
- [59] Czyżowska, A., Kucharska, A.Z., Nowak, A., Sokół-Łętowska, A., Motyl, I., Piórecki, N. (2017). Suitability of the probiotic lactic acid bacteria strains as the starter cultures in unripe cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 54(9), 2936-2946.
- [60] Kot, B., Wicha, J., Piechota, M., Wolska, K., Gruzewska, A. (2015). Antibiofilm activity of trans-cinnamaldehyde, *p*-coumaric, and ferulic acids on uropathogenic *Escherichia coli*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45, 919-924.
- [61] Lacombe, A., Wu, V.C.H. (2017). The potential of berries to serve as selective inhibitors of pathogens and promoters of beneficial microorganisms. *Food Quality and Safety*, 1, 3-12.
- 
-

## Acı Biber Salçası Atıklarından Ultrason Destekli Ekstraksiyon İşlemiyle Karotenoid Ekstraksiyonu

Merve Civan , Seher Kumcuoğlu  ✉, Şebnem Tavman 

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

Geliş Tarihi (Received): 22.12.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 15.09.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [seher.kumcuoglu@ege.edu.tr](mailto:seher.kumcuoglu@ege.edu.tr) (S. Kumcuoğlu)

☎ 0 232 311 30 23 📠 0 232 311 48 31

### ÖZ

Bu çalışmada, acı biber salçasının atığı olan posadan karotenoid eldesi için yeşil ekstraksiyon tasarımı kullanılarak düşük enerji ile yüksek verimli ekstraksiyon gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Biber salçasının üretiminde Jalapeno (*Capsicum annuum L.*) cinsi biber kullanılmıştır. Posa çekirdekleri ayrılmış bir şekilde kurutulup öğütülerek toz haline getirilmiştir. Katı:çözgen oranınının 0.4 (g/mL) olarak belirlendiği ekstraksiyon işleminde, çözücü olarak rafine zeytinyağı kullanılmış ve 80W ultrason gücünde ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Farklı sıcaklıklarda (30, 40, 50 ve 60°C) ve işlem sürelerinde (5, 10, 15 ve 20 dk.) gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen ekstraktlarda β-karoten, kapsaisin, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı analizleri gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın ve işlem süresinin ekstraksiyon üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek β-karoten miktarına 50 ve 60°C'de 10 dk.'da, kapsaisin miktarına 40°C'de 15 dk.'da toplam fenolik madde miktarına 50°C'de 20 dk.'da, antioksidan aktiveye ise 60°C'de 20 dk.'da uygulanan ekstraksiyon işlemleriyle ulaşılmıştır. Yapılan bu çalışma, gıda atığı olan posanın biyolojik olarak değerli ürüne çevrilmesi, literatürdeki diğer geleneksel ekstraksiyon çalışmalarına göre düşük enerji ile kısa sürede yüksek kalitede ekstrakt sağlanması, az miktarda çözücünün kullanılması ve kullanılan çözücünün toksik madde içermemesi açısından yeşil teknolojinin tanımlanan prensiplerini yansıtmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Acı biber, β-karoten, Kapsaisin, Ultrason, Yeşil ekstraksiyon

### Ultrasound Assisted Extraction of Carotenoids from Hot Pepper Paste Wastes

#### ABSTRACT

In this study, it is aimed to perform high efficiency extraction with low energy by using green extraction design for carotenoid extraction from waste of hot pepper paste. Jalapeno (*Capsicum annuum L.*) pepper was used in the production of pepper paste. The pulp was separated from seeds, then dried and ground into powder. Solid:solvent ratio was 0.4 (g/mL), and olive oil was used as solvent. Ultrasound assisted extraction was applied with an ultrasonic power of 80 W. Ultrasonic extractions were carried out at 4 different temperatures( 30, 40, 50 and 60°C) and 4 different processing times (5, 10, 15 and 20 min). The β-carotene, capsaicin and total phenolic contents of extracts as besides their antioxidant activity were determined. In terms of the effect of temperature and duration on extraction, maximum levels were achieved by extracting for 20 min at 50 and 60°C for β-carotene, 10 min at 40°C for capsaicin, 20 min at 50°C for total phenolic substance and 20 min at 60°C for antioxidant activity. This study reflected the principles defined in green technology in terms of conversion of food waste into biologically valuable product, ensuring high quality extract with low energy in a short time according to conventional extraction studies in the literature, use of solvent in small quantity and solvent used toxic substance.

**Key Words:** Hot pepper, β-carotene, Capsaicin, Ultrasound, Green extraction

## GİRİŞ

Yeşil ekstraksiyon; enerji tüketimini azaltan, alternatif çözücü ve yenilebilir doğal ürünlerin kullanımına izin veren, güvenli ve yüksek kaliteli ekstrakt/ürün sağlayan ekstraksiyon prosesi tasarımı olarak tanımlanmıştır [12]. Geleneksel yöntemlerin yüksek miktarda çözücü ve uzun işlem süresi gerektirmesi, karmaşık bir matris molekülünden sürdürülebilir bir şekilde moleküllerin ekstraksiyonunda sorunlara yol açması, ekstrakte edilen molekülün ısı ve hidrolizin etkisiyle bazı bileşenlerinin bozulması ve uçucuların kısmi kayıplara neden olması nedeniyle yeşil ekstraksiyon teknikleri bu yöntemlere alternatif olmaktadır [32].

Bitkisel kaynakların değerlendirilmesi ve endüstri atıklarının ürün/yan ürün olarak değerlendirilmesi, toksik olmayan alternatif çözücü kullanımı, yeni teknolojiler kullanılmasıyla enerji tüketimini ve işlem süresinin düşürülmesi, işlem basamaklarının azaltılması, biyolojik olarak parçalanabilir olan ekstraktlar elde etmek yeşil ekstraksiyonun prensipleri olarak belirlenmiştir [12].

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan birçok çözücü; pahalı, çevreye zararı olan ve toksik kimyasal içerene maddelerdir [39]. Yeşil ekstraksiyon prensipleri kapsamında toksik olmayan alternatif çözücüler tanımlanmıştır. Bunlar; su, karbondioksit ve diğer gazlar, bitkisel yağlar, terpenler, iyonik sıvılar gibi çözücülerdir [12]. Son yıllarda ekstraksiyon işleminde çözücü olarak zeytinyağı, susam yağı, hardal yağı, mısır yağı, üzüm çekirdeği yağı, Hindistan cevizi yağı ve soya yağı gibi birçok bitkisel yağ çeşitleriyle yapılan çalışmalar literatürde yer almıştır [30, 32, 47]. Yapılan bir çalışmada, havuçtan  $\beta$ -karoten ekstraksiyonunda çözücü olarak hegzan ve ayçiçek yağı kullanılmış ve bu çözücülerin ekstraksiyon verimi üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Hegzan ile gerçekleştirilen 1 saatlik ultrasonik ekstraksiyondan elde edilen sonuçlar (321 mg  $\beta$ -karoten/L), ayçiçek yağı ile gerçekleştirilen 20 dakikalık ekstraksiyondan elde edilen sonuçlara (334.75 mg  $\beta$ -karoten/L) yakın çıkmıştır [32].

Turbo ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan, ani dekompresyon, ekstrüzyon–indüksiyon yöntemleri yeşil ekstraksiyon olarak kabul edilen sistemlerdir [12]. Bu teknolojilerin kullanılmasıyla, işlem basamaklarında azalma, işlem süresinde kısımla, enerji tüketiminde ve çözücü miktarında azalma sağlanmaktadır [12]. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi kullanılarak gerçekleştirilen çaydan polifenol ve kafein ekstraksiyonu işleminden 4 dakika işlem süresiyle elde edilen ekstraksiyon verimi ile 45 dakikalık Soxhlet yönteminden elde edilen ekstraksiyon verimi yakın çıkmıştır [40]. Yapılan diğer bir çalışmada ise üzüm kabuğundan antosiyanin ekstraksiyonunda, geleneksel ekstraksiyon, darbeli elektrik alan ekstraksiyonu (3 kV cm), yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyonu (600 MPa), ultrason destekli ekstraksiyon (35 kHz) yöntemlerini 70°C'de 1 saat uygulayarak bu yöntemleri birbiriyle karşılaştırmışlardır. Ultrasonikasyon, yüksek hidrostatik basınç ve darbeli elektrik alan ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen

ekstraktların antosiyanin içerikleri arasında fark görülmemiş ve elde edilen antosiyanin miktarının geleneksel ekstraksiyon işleminden elde edilen antosiyanin miktarından yaklaşık iki kat fazla olduğu bulunmuştur [15]. Üzümde aminoasit ekstraksiyonu işleminde, 70°C'de 6 dakika ultrason uygulaması maserasyon yöntemiyle karşılaştırılmış ve ultrasonik ekstraksiyonun daha yüksek verim sağladığı görülmüştür [11]. Ayrıca; yeşil ekstraksiyon yöntemleri olarak kabul edilen bu teknolojilerin birlikte kullanılmasının ekstraksiyon işleminde verim artışına neden olduğu belirtilmiştir [7, 45].

Meyve ve sebze işleminin yan ürünleri; fitokimyasal (karotenoidler, fenolikler, ve flavonoidler), antioksidanlar, antimikrobikler, vitaminler, olumlu teknolojik faaliyetler veya besin özelliklerine sahip diyet yağlar gibi değerli maddeler içermektedir [52]. Çevresel faktörler ve ekonomik nedenlerden dolayı bu atıkların değerlendirilmesi yeşil ekstraksiyonun prensipleri arasındadır [12, 31]. Karides atığından karotenoid [47], kahve atığından kafein ve polifenoller [20], kavun kabuğundan pektin [42], Hindistan cevizi atığından yağ [55], mısır koçanından selüloz [60], tavuk kemiğinden kalsiyum [53], peynir altı suyundan laktos ve protein [33], balık kılıcı ve derisinden jelatin [37] eldesi gibi çalışmalar gıda endüstrisinin yan ürünlerinin besin değeri yüksek maddeler içerdiğini göstermiştir.

Salça üretimi domates ve biberleri daha kolay tüketilir hale getirmeyi ve tüketim zamanına kadar da onları uzun süre bozulmadan saklamayı amaçlamaktadır. Gıda sanayi içinde salça üretim işletmeleri dünyada ve Türkiye'de artan ihtiyacı karşılamak amacıyla her geçen zaman sürecinde daha fazla üretim yapılmakta ve dolayısıyla salça atığında da zamana bağlı olarak artış sağlanmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarafından Türkiye düzeyine göre hazırlanan raporda; salça üretimi için kullanılan kopya biberinin üretim miktarı, 2004 yılında 615.000 ton iken her yıl sürekli artış göstererek 2016 yılında ise 957.030 tona ulaştığı belirtilmektedir [58]. Salça atığı olan posa, genellikle hayvan yemi olarak kullanılsa da, domates ve biberin özellikle kabuk ve çekirdek kısımlarının besin değeri yüksektir [29]. Bu nedenle salça atığı, balık fileto kaplamasına, tarhana ve kraker gibi gıdaların üretimine ilave edilmiştir ve protein, yağ, toplam diyet lifi, mineral, toplam fenolik madde ve toplam antioksidan aktivite değerlerinde artışı sağladığı görülmüştür [2, 29]. Bunların yanı sıra salçada kullanılan olgun kırmızıbiber, karotenoid ve kapsaisinoid içeriğinden dolayı gıda sanayisinde ve ilaç endüstrisinde önemli bir hammaddedir [57]. Kırmızıbiber karotenoid kaynağıdır başta  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -kriptoksantin, zeaksantin, lutein, kapsantin, kapsorubin ve kriptokapsin olmak üzere yaklaşık 25 farklı karotenoidin olduğu tespit edilmiştir [14]. Kırmızı fraksiyon *Capsicum*'a özgü kapsanthin, kapsanthin -5, 6-epoksit ve kapsorubin pigmentleri içerir. Bu tür biber yıllarca doğal renk maddesi olarak kullanılmıştır [19]. Kapsaisinoid, acı biberdeki acı tadı oluşturan alkaloid gruplarıdır ve bu birleşimler, bazı otçullar ve mantarlara karşı caydırıcı olarak, biberler tarafından ikincil bir metabolit olarak üretilir [41]. 12 çeşit kapsaisinoid olduğu keşfedilmiştir. Ancak acı biberdeki toplam kapsaisinoid miktarının %80-

90'ını oluşturan iki önemli kapsaisinoid vardır: kapsaisin (trans-8-metil, N-vanilil-6-nonenamid) ve dihidrokapsaisin (8-metil-N-vanillylnonanamid DHC) [25, 61]. Yapılan çalışmalar bu bileşenlerin antioksidan özelliklerinin dışında kapsaisinin çeşitli farmasötik formlarda nöropati ağrılarının hafifletilmesinde, kas ve eklem ağrılarının semptomatik tedavisinde, Herpes zoster gibi nörojenik ağrılarının tedavisinde, obezite ve ülser tedavisinde de etkili olduğunu göstermiştir [13].

Bu çalışmada, acı biber salçası atığı olan acı biber posasından zeytinyağı içerisinde ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile karotenoid ekstraksiyonu gerçekleştirilerek elde edilen ekstraktların  $\beta$ -karoten, toplam fenolik madde, kapsaisin içerikleri ve antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir. Kavitasyonun şiddetine bağlı olarak istenmeyen tepkimeler sonucu ekstrakt kalitesinde düşüşleri önlemek amacıyla ekstraksiyon parametrelerinden katı:çözgen oranı, sıcaklık ve süre üzerinde çalışılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Acı biber posası, geleneksel yöntemle yapılan salçadan elde edilmiştir. Biber çeşidi olarak acı biber soslarının yapımında sıklıkla kullanılan kırmızı Jalapeno biberi (*Capsicum annuum L.*) seçilmiştir. Renk bozukluğuna sahip biberler elle ayıklanmış ve tam olarak kızarmış biberler salça üretiminde kullanılmıştır. Yıkama işleminden sonra biberler ortadan ikiye kesilerek çekirdekleri çıkartılmıştır. Diğer kısımlar yumuşaması için 30 dakika su ile haşlama işlemine tabi tutulmuştur (100-105°C). Isıtma işleminden sonra 3 mm çaplı elek yardımıyla salçalık kısım süzülümüş ve üste kalan kısım posa olarak ayrılmıştır. Nem miktarı,  $86.63 \pm 0.23$  olan acı biber posası,  $5.56 \pm 0.21$  nem içeriğine kadar 70°C'lik fırında (Vestel, model no: Pyro BO67, Türkiye) kurutulmuştur. Kurutulan posa öğütülerek (Bosch, model no: MKM 6000, Almanya) toz haline getirilmiştir ve elde edilen toz ürün diğer analizlere kadar -18°C'de depolanmıştır.

Ekstraksiyon işleminde kullanılan rafine zeytinyağı Verde Yağ Besin Mad. San. ve Tic. A.Ş tarafından temin edilmiştir. Çalışmada analitik saflıkta  $\beta$ -karoten standardı ( $\geq 97.0\%$ ), ABTS ve Trolox®, HPLC saflıkta trifloroasetik asit, kapsaisin (%99.0) standardı (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, ABD); sodyum karbonat, Folin-Ciocalteu reaktifi, aseton, gallik asit standardı, potasyum persülfat, HPLC saflıkta metanol, isopropanol, asetonitril (Merck, Darmstadt, Almanya) kullanılmıştır.

### Metot

#### Hammadde Analizleri

Yaş ve kuru posanın nem miktarı klasik etüv yöntemiyle belirlenmiştir [3]. Kurutulmuş posanın su aktivitesi Testo 400 cihazı (Almanya) kullanılarak, renk özellikleri ise L\* (açıklık), a\*(yeşil-kırmızı), b\*(mavi-sarı) olmak üzere 3

renk özelliği HunterLab Colorflex (VA CFLX 45-2 Hunterlab, Reston) renk ölçüm cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

#### Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Bu çalışmanın yeşil ekstraksiyon uygulamasına uygun olabilmesi için; materyal olarak acı biber salçası atığı, yöntem olarak ultrasonik ekstraksiyon ve çözücü olarak toksik olmayan bir alternatif çözücü olan rafine zeytinyağı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 400 W ve 24 kHz'lik yüksek yoğunluklu ultrasonik ekstraksiyon cihazında (Hielscher UP400S, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Ultrason kabineye sabit bir şekilde yerleştirilmiş 105 W/cm<sup>2</sup> akustik güç yoğunluğuna sahip 14 mm çaplı H14/Tip prob kullanılmıştır. Prob, ucu örneğin sıvı yüksekliğinin yarısına gelecek şekilde beherin içine daldırılmış ve beher duvarına ortalanarak merkeze yerleştirilmiştir. Voltcraft Energy Check 3000 (İrlanda) cihazı ile enerji kontrolü yapılarak ultrasonik güç 80 W olacak şekilde ayarlanmıştır ve işlem boyunca bu cihazla güç kontrolü sağlanmıştır. Sabit ultrason gücü ve sabit katı:çözgen oranında 4 farklı sıcaklık (30-60°C) ve 4 farklı süre (5-20 dk.) olmak üzere 2 faktör ile çalışılmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon işleminde prob kullanımının dezavantajı: ultrason işlemi doğrudan örneğin içerisinde gerçekleştiğinden sıcaklığın kontrol altına alınması zordur ve işlem sırasında kısa sürede yüksek sıcaklıklara ulaşılabilir. Bunun önlenmesi için ekstraksiyonun bir buz banyosu içerisinde gerçekleştirilmesi, çift ceketli beher kullanılması veya cihazın darbeli modda çalıştırılması izlenen stratejilerdendir [50]. Bu nedenle ekstraksiyon sırasında sıcaklığı sabit tutmak için, ekstraksiyonun içerisinde gerçekleştiği 250 mL'lik ceketli beher, 4°C'de su banyosuna bağlanmış ve ekstraksiyon işlemi darbeli mod kullanılarak 0.4 darbe sayısı ile gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminde kullanılan sistem Şekil 1'de gösterilmiştir.

#### Katı:çözgen Oranının Belirlenmesi

Ekstraksiyon sırasında difüzyonun etkin bir şekilde gerçekleşmesinin sağlanması amacıyla ekstraktların absorbans değerlerinin sabitlendiği noktayı belirten toz numune:zeytinyağı oranı ekstraksiyon işleminde kullanılacak katı:çözgen oranı olarak belirlenecektir. Bu oranı belirlemek için 50 mL rafine zeytinyağına; 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 g toz numune eklenerek 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 0.5, 0.6, 0.7 g/mL katı çözgen oranları elde edilmiştir. Bu oranlarda 40°C, 0.4 darbe sayısı ve 80 W ultrason gücünde, 10 dakika ultrasonik ekstraksiyon işlemi uygulanmış ve işlem tamamlandıktan sonra karışım filtre kağıdından geçirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar zeytinyağı ile 100 kat seyreltilerek absorbansları zeytinyağı koruna karşı spektrofotometrede (Agilent Cary 60 UV-Vis, ABD) 460 nm'de okunmuştur. Absorbans-katı:çözgen oranı grafiğinden absorbansın değişiklik göstermediği nokta belirlenerek en uygun katı:çözgen oranı seçilmiştir.



Şekil 1. Ultrason destekli ekstraksiyon düzeneği

### Toplam Karotenoid Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktlardaki toplam karotenoid miktarı Sachindra ve ark. [47] tarafından kullanılan yöntemde uygun değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. 100 µL ekstrakt 10 mL yağ ile tamamlanmıştır. 100 kat seyreltilen ekstraktların absorbansları spektrofotometrede (Agilent Cary 60 UV-Vis, ABD) 460 nm'de yağ körüne karşı okunmuştur. Sonuçlar β-karoten standart eğrisi kullanılarak (Tablo 1), toplam karotenoid miktarı β-karoten cinsinden (µg/mL) hesaplanmıştır.

### Kapsaisin Miktarının Belirlenmesi

Farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen ekstraktların kapsaisin içerikleri Caporaso ve ark. [10]'de verilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde belirtildiği üzere 10 g ekstraktın üzerine 10 mL hegzan ve 10 mL metanol-su karışımı (60:40) eklenerek 10 dk 1048 g'de santrifüjlenmiştir. Alt kısma çöken metanol fazı toplanıp 50°C'de döner vakumlu evaporatörde buharlaştırılmıştır. Son olarak kalıntıya 2 mL metanol eklenip 0.45 µm gözenek çapına sahip şırınga filtrelerinden geçirilerek HPLC'ye verilmiştir.

Analiz için Agilent Technologies Infinity II (ABD) cihazının OpenLab CSE "A Agilent Chrometographic Software" yazılımı ve 4.6\*150 mm boyutlarındaki Poroshell 120 EC-C18 4 µm kolonu (ABD) kullanılmıştır. Mobil A fazı 97:3 hacim oranında su:TFA (trifloroasetik asit); mobil B fazı ise, metanol:isopropanol (25:63.4) %1.6 asetonitril ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Metot, %20 B fazı ile başlayıp 18 dakika sonunda B fazından %98 kullanılacak şekilde ayarlanmıştır. Akış hızı 0.7 mL/dakika, enjekte edilen örnek miktarı 20µL, kolon sıcaklığı oda koşullarında olacak şekilde ayarlanmıştır ve DAD detektöründe dalga boyu 280 nm'de okuma yapılmıştır.

Kapsaisin standardının (%99.0 saflıkta) metanolde çözündürülmesi ile hazırlanan 1-20 µg/mL derişimindeki standart çözeltilerin yukarıdaki yöntem takip edilerek

kapsaisin standart eğrisi çizdirilmiş (Tablo 1) ve bu standart eğri kullanılarak ekstraktların kapsaisin içeriği hesaplanmıştır.

### Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmede Gutfinger [24] tarafından önerilen yöntem temel alınmıştır. Yağ ekstraksiyonu için 3 mL ekstrakt, 5 mL hegzan ile çözündürülmüştür. Fenolik maddeleri ayırmak için 5 mL etanol/su (60:40 v/v) karışımı eklenerek 10 dakika vorteks'de (WiseMix, Kore) çalkalanmıştır. Hegzan ve etanolü su karışımını birbirinden ayırmak için 10 dakika 2054 g'de santrifüj işlemine maruz bırakılmıştır. Altta kalan etanolü kısımdan 3.5 mL, 10 mL'lik balon jöjeye alınarak üzerine 0.5 mL Folin Ciocalteu reaktifi ilave edilmiştir. 3 dakika bekleme sonrasında 1 mL sodyum-karbonat çözeltisi (%20 w/v) eklenmiş ve saf suyla 10 mL'ye tamamlanarak 1 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. 1 saat sonunda mavimsi renge dönen çözeltilerin absorbans değeri, aynı işlem basamaklarıyla hazırlanan kör çözeltilere karşı 760 nm dalga boyunda okunmuştur. Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, gallik asit kalibrasyon eğrisinden elde edilen denklem (Tablo 1) ile hesaplanarak gallik asit cinsinden (µg/mL) ifade edilmiştir.

### Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidan aktiviteyi belirlemek için "Trolox® Eşdeğer Antioksidan Kapasite (TEAC)" yöntemi kullanılmıştır. ABTS radikal çözeltisi hazırlarken Re ve ark. [43]'ün yöntemi takip edilmiştir. 7 mM ABTS'nin distile sudaki çözeltisinden 50 mL ve 2.45 mM potasyum persülfat sudaki çözeltisinden 25 mL alınarak karıştırılmış ve karanlıkta 12-16 saat bekletilerek ABTS+ radikali oluşması sağlanmıştır. Kullanıma hazır hale gelen mavi yeşil renkli ABTS radikal çözeltisi, 734 nm'de absorpsiyon 0.70±0.02 olacak şekilde etil alkolle 1:80 oranında seyreltilmiştir. 200 µL ekstrakt 800 µL etanol ile karıştırılıp, bu karışımdan 10 µL alınarak 990 µL ABTS ile karıştırılarak 6. dakika sonunda absorbans

değeri spektrofotometrede (Agilent Cary 60 UV-Vis, ABD) 734 nm dalga boyunda okunmuştur [23]. Bulunan absorbans değerleri kullanılarak aşağıda verilen denklemden (1) %inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Örnek konsantrasyonu; belli derişim aralığındaki Trolox® standardı ile hazırlanan, Trolox® standart

eğrisine geçirilerek (Tablo 1) antioksidan aktivite değeri, µmol TEAC/g KM olarak belirlenmiştir.

$$\% \text{inhibisyon} = [(A_{\text{ABTS}^+} - A_{\text{örnek}})] * 100 \quad (1)$$

$A_{\text{ABTS}^+}$ : AABTS+ radikalinin absorbans değeri

$A_{\text{örnek}}$ : Örneğin 6. dakika sonunda okunan absorbans değeri

Tablo 1. Analizlerde kullanılan standart eğrilerinin regresyon eğrileri ve R<sup>2</sup>leri

Bileşen	Regresyon Eğrisi	R <sup>2</sup>
β-karoten	y=0.1331x+0.0298	0.9948
Kapsaisin	y=32.844x+48.963	0.9907
Gallik Asit	y=0.116x+0.2412	0.9963
Trolox®	y=3.2958+1	0.9968

## İstatistiksel Analizler

Yapılan analiz sonuçlarının ortalama farklılıkları, SPSS 16.0 Windows paket programı yardımıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven aralığında yorumlanmıştır.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

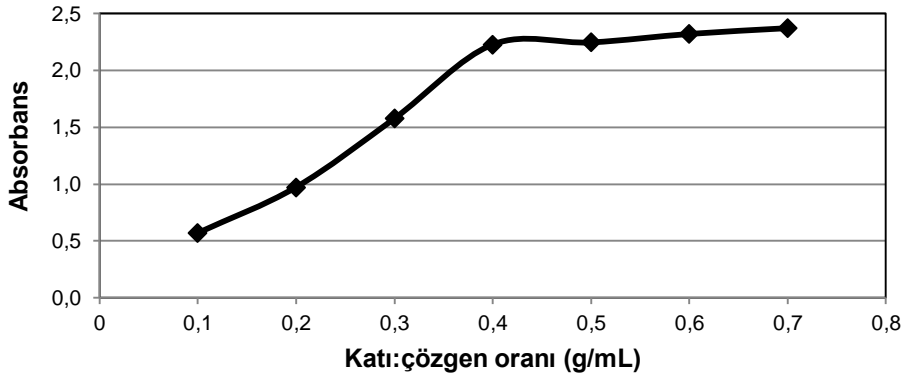
### Hammadde Analizleri

Acı biber posasının nem içeriği %86.63±0.23, kurutulup öğütüldükten sonra elde edilen toz örneğin nem içeriği ise % 5.56±0.21 olarak bulunmuştur. Kurutulmuş toz posanın su aktivitesi 0.415±0.002 olarak tespit edilmiştir. HunterLab Colorflex (Hunterlab, Reston, VA CFLX 45-2

Modeli kolorimetre) cihazıyla ölçülen posanın toz formunun L\* değeri 42.08±0.96, a\* değeri 37.37±1.04, b\* değeri 41.03±1.82 olarak bulunmuştur.

### Katı:Çözgen Oranı

Farklı katı/çözgen oranları kullanılarak elde edilen ekstraktların absorbans–katı:çözgen oranı grafiği Şekil 2’de verilmiştir. Şekil 2’de absorbans değerlerinin 0.4 (g/mL) katı:çözgen oranına kadar artış gösterdiği ve bu orandan sonar katı:çözgen oranının arttırılması absorbans değerinde belirgin bir artışa neden olmadığı görülmektedir. Bu nedenle ekstraksiyon işleminde kullanılacak katı:çözgen oranı 0.4 olarak seçilmiş ve böylece ekstraksiyonda kullanılacak toz numune miktarı, 50 mL zeytinyağı içerisinde 20 g olarak belirlenmiştir.



Şekil 2. Farklı katı:çözgen oranlarında elde edilen ekstraktların absorbans değerleri

### Toplam Karotenoid Miktarı

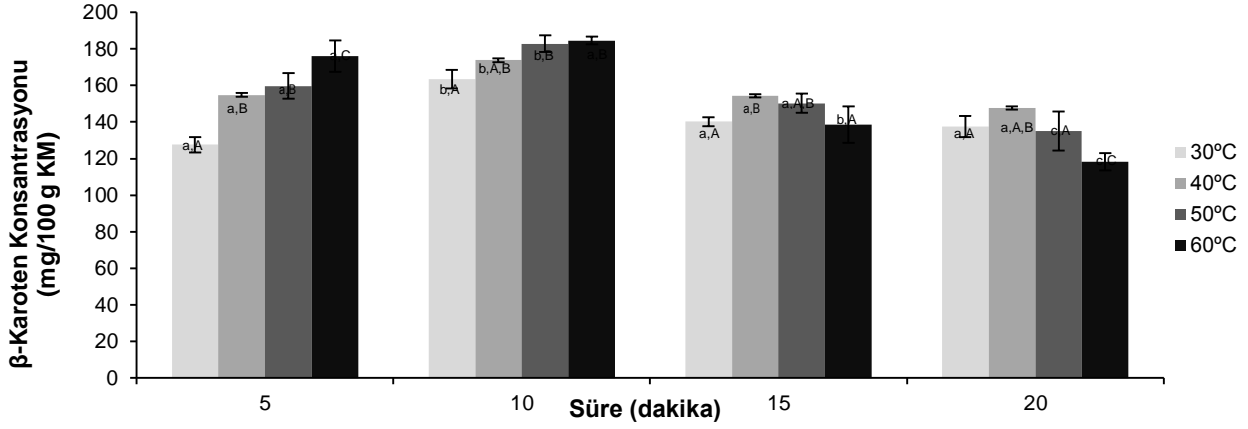
Elde edilen ekstraktların toplam karotenoid miktarları β-karoten cinsinden hesaplanarak Şekil 3’te verilmiştir. Şekil 3’teki sonuçlara bakıldığında; her sıcaklıkta, ekstraksiyon süresinin 5 dakikadan 10 dakikaya çıkarılması, β-karoten miktarını arttırmış ve 10 dakikadan sonra sürenin 15 ve 20 dakikaya çıkarılması sonuçları olumsuz etkileyerek ekstraktlardaki β-karoten içeriğinde düşüşe neden olmuştur. Böylece en yüksek β-karoten miktarı 10 dakika süreyle 50 ve 60°C sıcaklıklarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlardan sağlanmıştır (p<0.05) ve bu koşullarda elde edilen ekstraktların toplam β-karoten miktarları 182.90±4.6–184.6±2.1 mg β-karoten/100 g KM aralığında bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda; biberin cinsi, olgunluk seviyesi, yetiştirme koşulları biber içeriğini değiştirdiği belirtilmiştir. Taze kırmızı biberin β-karoten içeriği, 5 farklı çeşitte 100 g kuru madde başına 681.8–1320.8 mg aralığında kaydedilmiştir [27]. Doğal yollarla kurutulmuş kırmızı biberler, 862.9 mg β-karoten/100 g KM içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir [17]. *Capsicum annuum L.* cinsi kırmızı biberin 4 olgunluk döneminde içeriğindeki değişimin incelendiği bir çalışmada; kırmızı renge dönüşen olgun biberin β-karoten içeriği, ham dönemde yeşil biberdeki β-karoten içeriğinden yaklaşık olarak 4 kat fazla bulunmuştur [34]. Olgunlaşma evresi sırasında yeşilden kırmızıya dönen biberlerin her 100 g kuru ağırlığında β-karoten miktarı 1.9 mg’dan 112 mg’a yükseldiği de farklı bir çalışmada görülmüştür [35]. *Capsicum annuum L.* cinsi yeşil biberde β-karoten



miktarı, 100 g kuru ağırlıkta 50.88 mg iken, olgunlaşarak kırmızıya döndüğünde 910.8 mg, fazla olgunlaşması durumunda 1570 mg'a yükselirken bu biberin kurutulması  $\beta$ -karoten içeriğini 443.8 mg'a düşürmüştür

[21]. Ayrıca kurutma sıcaklığının 25°C'den 100°C'ye kadar yükseltilmesi,  $\beta$ -karoten içeriğini yarıya düşürmüştür [16].



Şekil 3. Ekstraksiyon sıcaklığının ve süresinin  $\beta$ -karoten miktarı üzerine etkisi. <sup>a-d</sup> Aynı sıcaklık değerlerindeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ). <sup>A-D</sup> Aynı sürelerdeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

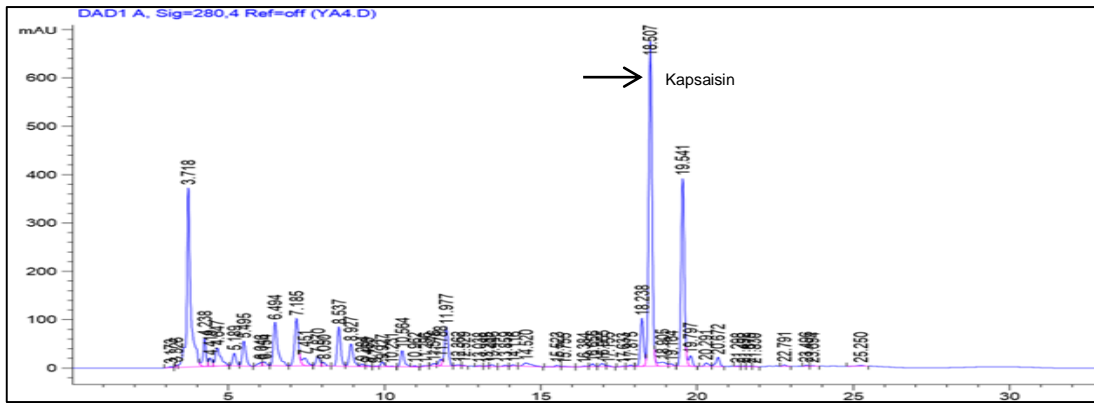
Jalapeno cinsi biberde, hegzan, aseton ve etil asetat ile 8 saat boyunca uygulanan Soxhlet ekstraksiyonu sonucunda çözgen çeşidine göre sırasıyla 27.30, 29.20 ve 0.32 mg  $\beta$ -karoten/100 g KM içeriği elde edilmiştir [6]. Çözücü olarak mısır, ayçiçek ve aspir yağı kullanılarak 60–80°C sıcaklıkta 5 ve 10 dakika yapılan geleneksel ekstraksiyonla sağlanan  $\beta$ -karoten miktarı 46.2 mg/100 g KM olarak bulunmuştur [23].

Yeşil ekstraksiyon teknolojisi olan süperkritik ekstraksiyonu ile kapy biberi tozundan karotenoid madde ekstraksiyonunda, geleneksel yöntem ile elde edilen karotenoid miktarı kg başına 1.2 g iken, CO<sub>2</sub> kullanılarak uygulanan süperkritik ekstraksiyonu sonucunda elde edilen karotenoid madde ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak kg başına 90–200 g bulunmuştur [5]. Yapılan bir diğer çalışmada ise yine yeşil ekstraksiyon yöntemi olan enzim ekstraksiyonu sonucunda kırmızıbiberdeki  $\beta$ -karoten içeriğinde %85 geri kazanım sağlanmıştır [49].

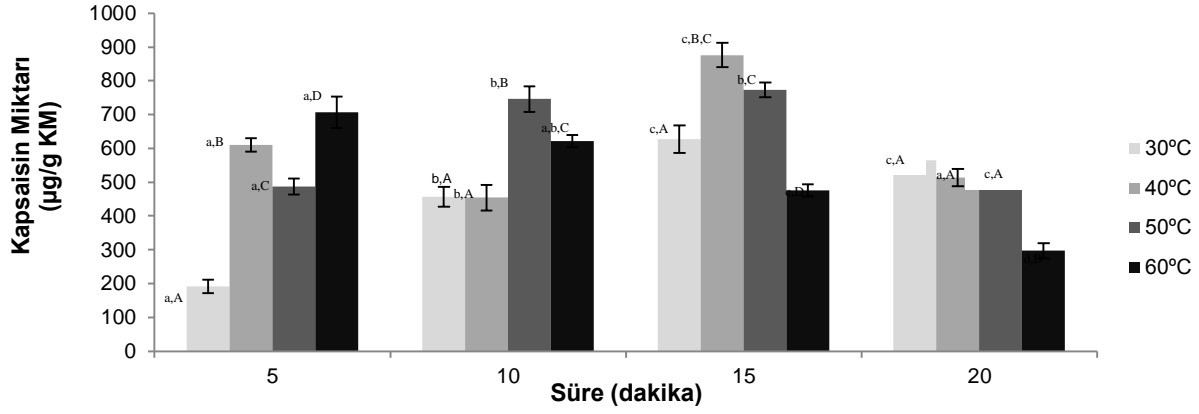
#### Kapsaisin Miktarı

280 nm'de DAD dedektörü ile tespit edilen kapsaisinin alıkonma zamanı, 18-20 s arasında bulunmuştur (Şekil 4).

Denemelerden elde edilen ekstratların kapsaisin miktarları Şekil 5'te görülmektedir. Kapsaisin miktarının tüm sıcaklıklarda 15. dakikada yüksek olduğu (60°C hariç) ve ekstraksiyon süresinin 20 dakikaya çıkarılmasının kapsaisin miktarında düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, 5 dakika hariç ekstraksiyon sıcaklığının 60°C'ye çıkarılması kapsaisin içeriği üzerinde olumsuz etki yaratmıştır. 5 dakikalık ekstraksiyonda 60°C'de; 10 dakikalık ekstraksiyonda 50°C'de; 15 dakikalık ekstraksiyonda 40°C'de ve 20 dakikalık 30°C'de yüksek kapsaisin içeriğine ulaşılmıştır. Bu ultrason gücünde ulaşılan en yüksek kapsaisin miktarı 875.78±35.7  $\mu$ g/g KM olup 40°C ekstraksiyon sıcaklığında 15 dakikalık ekstraksiyon ile sağlanmıştır.



Şekil 4. Ekstratların 280 nm dalga boyundaki UV kromatogramı



Şekil 5. Kapsaisin miktarının sıcaklık ve süre ile değişimi. <sup>a-d</sup> Aynı sıcaklık değerlerindeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ). <sup>A-D</sup> Aynı sürelerdeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p < 0.05$ ).

Sricharoen ve ark. [54] tarafından gerçekleştirilen çalışmada 14 farklı acı biber örneği kurutulmuş ekstrakte edilmiştir. 35 kHz frekansta, 360 W güce sahip ultrasonik banyo kullanılarak su:metanol içerisinde gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminden elde edilen ekstraktların içerdiği kapsaisin miktarı  $614 \pm 28 - 15003 \pm 151$  mg/kg KM olarak bulunmuştur. *Capsicum annuum* L. cinsi biberlerin farklı türleri kurutulmuş, etanol içerisinde  $80^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 8 saat su banyosunda ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktların kapsaisin içeriği g kuru madde başına; acı kırmızı biber türünde  $4249.0 \pm 190.3$  µg, yeşil acı biber türünde  $138.5 \pm 5.2$  µg, kırmızı biberde  $309.3 \pm 4.2$  µg olarak bulunmuştur [1].

Diğer bir acı biberden kapsaisin ekstraksiyonu çalışmasında ise, 11 farklı kuru biber örneği 50 mL etanol:su kullanılarak 130 W güce sahip prob tipi ultrasonik ekstraksiyon cihazında ekstrakte edilmiştir. Gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde farklı süre (5-25 dk), sıcaklık ( $25-50^\circ\text{C}$ ), örnek miktarı (0.25-0.5 g) ve genlik (%40-80) parametreleri kullanılmıştır. Kapsaisin için optimum koşullar; 25 dakika, 0.25 g örnek, %60 genlik,  $50^\circ\text{C}$  olarak bulunmuştur. Örneklerden ekstrakte edilen kapsaisin miktarı 101-6800 µg/g KM olarak bulunmuştur [41].

Kapsaisin ekstraksiyonu optimizasyonu konusunda yapılan iki farklı çalışmada 0.5 g örneğin 25 mL etanol içerisinde mikrodalga ve ultrasonik banyo kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Optimum koşullar mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi için 500 W'da  $125^\circ\text{C}$  sıcaklıkla 5 dakika işlem süresi olarak [9], ultrasonik banyoda 360 W güç,  $50^\circ\text{C}$  sıcaklık ve 10 dakika işlem süresi olarak bulunmuştur [8].

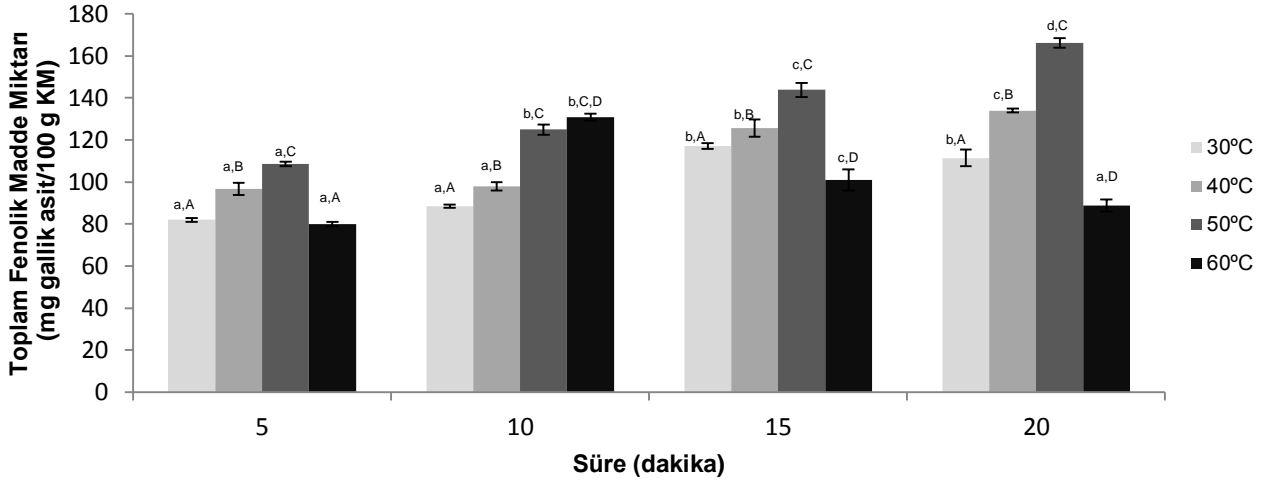
### Toplam Fenolik Madde Miktarı

Ekstraktların toplam fenolik madde miktarları sonuçları Şekil 6'da verilmiştir. Bu grafiğe göre  $30$  ve  $40^\circ\text{C}$ 'de 15 dakikada fenolik madde içeriğinde artış görülürken sıcaklığın  $50$ 'ye çıkarılmasıyla toplam fenolik madde miktarında belirgin artış 10 dakika ve üzeri sürelerde gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Ekstraksiyon sıcaklıkları birbiriyle

kiyaslandığında 5 dakikalık işlem süresi hariç tüm sürelerde  $50^\circ\text{C}$ 'de en yüksek fenolik madde içeriğine ulaşılmış ve bu sıcaklık değerinden  $60^\circ\text{C}$ 'ye çıktığında toplam fenolik madde miktarlarında düşüş görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Böylece elde edilen maksimum toplam fenolik madde miktarı,  $50^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilen 20 dakikalık ekstraksiyonla sağlanmıştır ve değeri  $166.22 \pm 0.67$  mg gallik asit/100 g KM olarak bulunmuştur.  $60^\circ\text{C}$ 'de ise; sonuçlarda 10 dakikaya kadar artış sağlanmış ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla toplam fenolik madde miktarında düşüş gözlenmiştir.

Taze ve işlenmiş Jalapeno biberlerinin yetiştirildikleri bölgeye göre toplam fenolik madde içeriğinin değişimi incelendiği bir çalışmadaki sonuçlar, 100 g kuru maddede 201–389 mg GAE aralığında bulunmuştur [4]. Olgun *Capsicum annuum* cinsi biberlerin toplam fenolik madde içeriği 0.70–426 mg GAE/100 g KM olarak belirlenmiştir [18, 38, 46, 59]. Tarhana üretiminde fenolik ve antioksidan özelliklerinin iyileştirilmesi için kullanılacak olan biber salçası atığının toplam fenolik madde içeriğine bakılmıştır. Biber posasından 168 mg GAE/100 g; biber çekirdeklerinden 186 mg GAE/100 g fenolik madde miktarı içeriğine ulaşılmıştır [28].

Ultrasonik ekstraksiyonda yapılan optimizasyon çalışmalarında, işlem süresi, sıcaklık ve katı:çözgen oranının artırılması, toplam fenolik madde miktarını artış sağlamıştır [44, 48]. Bazı çalışmalarda ise, yüksek sıcaklık ve uzun sürede gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon için düşük geri kazanımlar veya yüksek bozunma oranları kaydedilmiştir. Bunun sebebi, ultrason dalgalarının serbest radikal oluşumunu artırarak oksidasyon reaksiyonları oluşumuna neden olup fenolik maddelerin reaktif oksijen türleriyle birleşmesi olarak ifade edilmiştir [11, 44, 51]. Yine de klasik yöntemle kıyaslandığında, ultrason ile ekstraksiyon yöntemi 6 dakika gibi kısa sürede fenolik madde miktarı veriminde yüksek sonuç vermiştir [11].

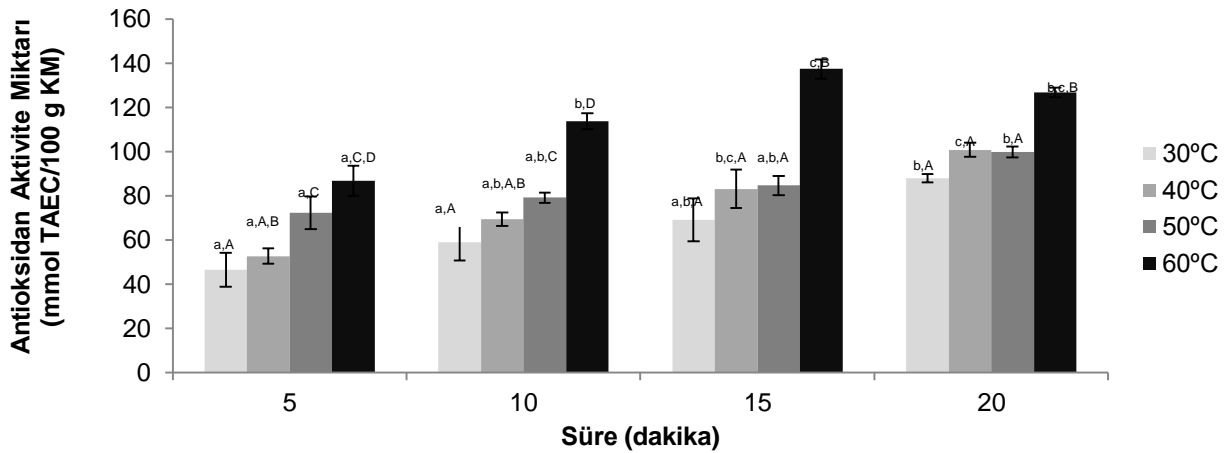


Şekil 6. Toplam fenolik madde miktarının sıcaklık ve süre ile değişimi. <sup>a-d</sup> Aynı sıcaklık değerlerindeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). <sup>A-D</sup> Aynı sürelerdeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ).

### Antioksidan Aktivite

Farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri Şekil 7'de görülmektedir. Ekstraksiyon sıcaklığının artması antioksidan aktivite değerlerinde artış sağlamıştır. İşlem süresinin 15 ve 20 dakika olduğu ekstraksiyonlarda, 30, 40 ve 50°C sıcaklıklarda gerçekleştirilen denemelerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinde fark görülmemiştir. Sıcaklığın 60°C'ye çıkarılması, antioksidan aktivite üzerinde belirgin bir artış sağlamıştır. Ekstraksiyon süresinin artmasıyla antioksidan aktivite değerlerinde yavaş bir şekilde artış görülmüştür. En yüksek antioksidan aktivite değerleri tüm sıcaklıklarda 20 dakikada gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde sağlanmıştır. Bu denemelerden elde edilen en yüksek antioksidan aktivite değeri  $126.62 \pm 1.57$   $\mu\text{mol TAEC/g KM}$  olup 60°C'de 20 dakikalık ekstraksiyon işleminden elde edilmiştir.

Acı *Capsicum annuum* cinsi biberlerin 4 türünde yapılan çalışmada, antioksidan aktiviteleri 26–80  $\mu\text{mol TAEC/g KM}$  aralığında bulunmuştur [26]. Literatürde mevcut diğer bir çalışmada ise, *Capsicum annuum* cinsi biberlerin antioksidan aktivitesi 3.4 mmol TAEC/g KM olarak belirlenmiştir [36]. Kuru acı biberin ekstraksiyonunda, yeşil teknolojilerden olan mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon kullanılarak maserasyon yöntemiyle gerçekleştirilen ekstraksiyonun sonuçları karşılaştırılmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyondan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri, ekstraksiyonun akustik olarak desteklendiği durumlarda yani sıcaklığa ve süreye göre artış göstermiştir [22, 56]. Ultrasonik ekstraksiyonun 20 dakika uygulanmasıyla ulaşılan antioksidan aktiviteye maserasyon yöntemiyle 7 günde, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ise 60 saniyede ulaşılmıştır [39].



Şekil 7. Antioksidan aktivitenin sıcaklık ve süre ile değişimi. <sup>a-d</sup> Aynı sıcaklık değerlerindeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ). <sup>A-D</sup> Aynı sürelerdeki farklı harfler sonuçlar arasında istatistiksel fark olduğunu göstermektedir ( $p<0.05$ ).

## SONUÇ

Tüm ekstraksiyon denemelerinden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; ekstraksiyon süresinin ekstraktlardaki  $\beta$ -karoten miktarını etkilediği görülmektedir. Tüm sıcaklık değerlerinde en yüksek  $\beta$ -karoten miktarı 10 dakikalık ekstraksiyon işleminden elde edilmiştir ve sürenin artması  $\beta$ -karoten miktarında düşüşe neden olmuştur. En yüksek  $\beta$ -karoten miktarı, 50 ve 60°C'de 10 dakikalık ekstraksiyonla sağlanmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığının 50°C'ye kadar artması ile ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarının arttığı, sıcaklığın 60°C'ye yükselmesi ile fenolik madde miktarlarının tüm ekstraksiyon sürelerinde düştüğü ve en yüksek değerin 50°C'de 20 dakika süre ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminden elde edildiği bulunmuştur. Fenolik yapıya sahip kapsaisin içeriğinde de 60°C sıcaklıkta düşüş görülmüş olup en yüksek kapsaisin miktarına 40°C'de 15 dakikalık ekstraksiyon işlemi ile ulaşılmıştır. Toplam antioksidan aktivite miktarında ise, hem sıcaklık hem de süre faktörü antioksidan aktivite sonuçlarını olumlu etkilemiş ve en yüksek antioksidan aktivite değeri 60°C sıcaklıkta 15 dakika uygulanan ekstraksiyon işleminden sağlanmıştır.

Atık olarak seçilen acı biber posasından karotenoidlerin ekstraksiyonu sağlanması, çözücünün toksik olmayan rafine zeytinyağı seçilmesi, ekstraksiyon işleminde problu ultrason yöntemi kullanılarak düşük enerji ile az miktarda çözücü kullanılması, kısa sürede yüksek verim elde edilmesi nedeniyle bu çalışma hem ekolojik hem de çevre dostu olan yeşil ekstraksiyon disipliniyi yansıtmaktadır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi (Proje No: 16MÜH046) tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Abdullah, Z., Othman, A., Badjah, Y., Ahmed, H., Habila, M.A. Ghafar, A.A. (2011). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in capsicum fruit samples using high performance liquid chromatography, *Molecules*, 16, 8919-8929.
- [2] Aldemir, Ö. (2013). Balık filetoalarının kaplanması salça üretim atıklarının kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- [3] Alibas, İ. Okursoy, R. (2012). Karalahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) ve ıspanak (*Spinacia oleracea* L.) yapraklarının bazı teknik özellikleri. *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 39-48.
- [4] Alvarez-Parrilla, E., De La Rosa, L.A., Amarowicz, R. Shahidi, F. (2012). Protective effect of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers against food lipid and human LDL cholesterol oxidation. *Food Chemistry*, 133(3), 827-834.
- [5] Ambrogi, A., Cardarelli, D.A., Eggers, R. (2002). Fractional extraction of paprika using supercritical carbon dioxide and on-line determination of carotenoids. *Journal of Food Science*, 67(9), 3236-3241.
- [6] Bae, H., Jayaprakasha, G.K., Jifon, J. Patil, B. S. (2012). Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper (*Capsicum* spp.) cultivars. *Food Chemistry*, 134(4), 1912-1918.
- [7] Bagherian, H., Zokaei Ashtiani, F., Fouladitajar, A. Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11), 1237-1243.
- [8] Barbero, G.F., Liazi, A., Palma, M. Barroso, C. G. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5), 1332-1337.
- [9] Barbero, G.F., Palma, M. Barroso, C.G. (2006). Determination of capsaicinoids in peppers by microwave-assisted extraction-high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 578(2), 227-233.
- [10] Caporaso, N., Paduano, A., Nicoletti, G., Sacchi, R. (2013). Capsaicinoids, antioxidant activity, and volatile compounds in olive oil flavored with dried chili pepper (*Capsicum annuum*), *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(12), 1434-1442.
- [11] Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., Barroso, C. G. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100-104.
- [12] Chemat, F., Rombaut, N., Pierson, J.T., Bily, A. (2015). Green extraction: from concepts to research, education, and economical opportunities. *Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr, 12, 69469, Weinheim, Germany, 1-30.
- [13] Cilt, D. (2010). Kapsaisin: Farmakokinetik, Toksikolojik ve Farmakolojik Özellikleri, 149-164.
- [14] Collera-Zúñiga, O., Jiménez, F.G., Gordillo, M. R. (2005). Comparative study of carotenoid composition in three Mexican varieties of *Capsicum annuum* L. *Food Chemistry*, 90(1-2), 109-114.
- [15] Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 85-91.
- [16] Daood, H.G., Kapitány, J., Biacs, P., Albrecht, K. (2006). Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2450-2457.
- [17] Daood, H.G., Palotás, G., Palotás, G., Somogyi, G., Pék, Z., Helyes, L. (2014). Carotenoid and antioxidant content of ground paprika from indoor-cultivated traditional varieties and new hybrids of

- spice red peppers. *Food Research International*, 65(PB), 231-237.
- [18] Dias, A.L.B., Arroio Sergio, C.S., Santos, P., Barbero, G.F., Rezende, C.A., Martínez, J. (2016). Effect of ultrasound on the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from dedo de moça pepper (*Capsicum baccatum* L. var. pendulum). *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 284-294.
- [19] Dong, X., Li, X., Ding, L., Cui, F., Tang, Z., Liu, Z. (2014). Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper (*Capsicum*) fruits with ethanol as solvent. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 396-402.
- [20] Esquivel, P., Jiménez, V.M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2): 488-495.
- [21] Gnayfeed, M.H., Daood, H.G., Biacs, P.A., Alcaraz, C.F. (2001). Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(15), 1580-1585.
- [22] González-Centeno, M.R., Comas-Serra, F., Femenia, A., Rosselló, C., Simal, S. (2015). Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 506-514.
- [23] Guadarrama-lezama, A.Y., Dorantes-alvarez, L., Jaramillo-flores, M.E., Pérez-alonso, C., Niranjan, K., Gutiérrez-lópez, G.F. Alamilla-beltrán, L. (2012). Preparation and characterization of non-aqueous extracts from chilli (*Capsicum annum* L.) and their microencapsulates obtained by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 112(1-2), 29-37.
- [24] Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 58(11), 966-968.
- [25] Henderson, D.E., Henderson, S.K. (1992). Thermal decomposition of capsaicin. 1. Interactions with oleic acid at high temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2263-2268.
- [26] Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S.G., Goni, I. (2010). Bioactive compounds of four hot pepper varieties (*Capsicum annum* L.), antioxidant capacity, and intestinal bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3399-3406.
- [27] Hornero-Méndez, D., Gómez-Ladrón De Guevara, R., Mínguez-Mosquera, M.I. (2000). Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 3857-3864.
- [28] Isik, F., Yapar, A. (2014). Fatty acid composition and sensory properties of tarhanas prepared by processed tomato and paprika waste materials. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(1), 607-614.
- [29] Isik, F., Yapar, A. (2017). Effect of tomato seed supplementation on chemical and nutritional properties of tarhana. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 667-674.
- [30] Krichnavaruk, S., Shotipruk, A., Goto, M., Pavasant, P. (2008). Supercritical carbon dioxide extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* with vegetable oils as co-solvent. *Bioresource Technology*, 225(2), 239-247.
- [31] Kumcuoğlu, S., Yılmaz, T., Tavman, Ş. (2011). Salça üretim atıklarından ultrason destekli ekstraksiyon işlemiyle likopen ekstraksiyonu. *Akademik Gıda*, 9(6), 23-28.
- [32] Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S., Tomao, V., Cravotto, G., Chemat, F. (2013). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 12-18.
- [33] Madureira, A.R., Amorim, M., Gomes, A.M., Pintado, M.E., Malcata, F.X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44(1), 465-470.
- [34] Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3861-3869.
- [35] Márkus, F., Daood, H. G., Kapitány, J., Biacs, P. A. (1999). Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (Paprika) as a function of ripening and some technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1), 100-107.
- [36] Mokhtar, M., Russo, M., Cacciola, F., Donato, P., Giuffrida, D., Riazzi, A., Mondello, L. (2016). Capsaicinoids and carotenoids in *Capsicum annum* L.: optimization of the extraction method, analytical characterization and evaluation of its biological properties, *Food Analytical Methods*, 9(5), 1381-1390.
- [37] Muyonga, J.H., Cole, C.G.B., Duodu, K.G. (2004). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 86(3), 325-332.
- [38] Oboh, G., Batista, J. (2007). Polyphenols in red pepper [*Capsicum annum* var. *aviculare* (Tepin)] and their protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation in brain and liver, 225, 239-247.
- [39] Paduano, A., Caporaso, N., Santini, A., Sacchi, R. (2014). Microwave and ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from chili peppers (*Capsicum annum* L.) in flavored olive oil. *Journal of Food Research*, 3(4), 51.
- [40] Pan, X., Niu, G., Liu, H. (2003). Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chemical Engineering and Processing*, 42(2), 129-133.
- [41] Peña-Alvarez, A., Alvarado, L.A., Vera-Avila, L.E. (2012). Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in hot peppers by ultrasound assisted extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Instrumentation Science & Technology*, 40(5), 429-440.

- [42] Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., Hosseini, S.S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 709-716.
- [43] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [44] Rodrigues, S., Pinto, G.A.S., Fernandes, F.A.N. (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1), 95-100.
- [45] Rombaut, N., Avignon, N., Vaucluse, P.D. (2014). Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530-544.
- [46] Roy, S.A. (2014). Effect of thermal processing on in vitro antioxidant potential of *Capsicum* (*Capsicum annuum*) of different ripening stages. *Journal of Pharmacy Research*, 8(12), 1751-1756.
- [47] Sachindra, N.M. Mahendrakar, N.S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195-1200.
- [48] Salarbashi, D., Mortazavi, S.A., Rezaei, K., Rajaei, A. Karimkhani, M.M. (2012). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from yarrow (*Achillea beibrestinii*) by response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*, 21(4), 1005-1011.
- [49] Santamaría, R.I., Reyes-Duarte, M.D., Bárzana, E., Fernando, D., Gama, F.M., Mota, M. López-Munguía, A. (2000). Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chili guajillo puya (*Capsicum annuum* L.) using ethanol as solvent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 3063-3067.
- [50] Santos, H. M., Lodeiro, C., Capelo-Martínez, J.L. (2009). *Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Portugal, 16.
- [51] Santos, P., Aguiar, A.C., Barbero, G.F., Rezende, C.A. Martínez, J. (2015). Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 78-88.
- [52] Schieber, A., Stintzing, F. Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 2(11), 401-413.
- [53] Sittikulwitit, S., Sirichakwal, P.P., Puwastien, P., Chavasit, V. Sungpuag, P. (2004). In vitro bioavailability of calcium from chicken bone extract powder and its fortified products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(3-4), 321-329.
- [54] Sricharoen, P., Lamaiphan, N., Patthawaro, P. Limchoowong, N. (2017). Ultrasonics Sonochemistry Phytochemicals in *Capsicum oleoresin* from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 38, 629-639.
- [55] Sulaiman, S., Abdul Aziz, A.R., Kheireddine Aroua, M. (2013). Optimization and modeling of extraction of solid coconut waste oil. *Journal of Food Engineering*, 114(2), 228-234.
- [56] Tian, Y., Zeng, H., Xu, Z., Zheng, B., Lin, Y., Gan, C., Lo, Y.M. (2012). Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 522-529.
- [57] Topak, H., Erbil, N. & Diğrak, M. (2008). Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen biberlerin (*Capsicum annuum* L.) antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 20(2), 257-264.
- [58] TÜİK. (2017). Bitkisel üretim istatistikleri, 2004-2016. Retrieved from <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- [59] Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G. Menichini, F. (2011). Comparative study on the chemical composition, antioxidant properties and hypoglycaemic activities of two *Capsicum annuum* L. cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 261-269.
- [60] Wang, Y., Wang, H., Feng, X., Wang, X., Huang, J. (2010). Biohydrogen production from cornstalk wastes by anaerobic fermentation with activated sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(7), 3092-3099.
- [61] Zewdie, Y. Bosland, P.W. (2001). Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for *Capsicum* species. *Biochemical systematics and Ecology*, 29(2), 161-169.

## Dane veya Liyofilize Kefir Kültürü Kullanılarak Peyniraltı Suyu İçeceği Üretimi ve Karakterizasyonu

İrem Şen , Yonca Karagül Yüceer  ✉

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Terzioğlu Yerleşkesi, 17020 Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 26.02.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 24.07.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yoncayuceer@comu.edu.tr](mailto:yoncayuceer@comu.edu.tr) (Y. Yüceer)

☎ 0 286 218 00 18 📠 0 286 218 05 41

### ÖZ

Bu çalışmada, dane veya liyofilize kefir kültürü kullanılarak peyniraltı suyundan üretilen peyniraltı suyu içeceklerinin 21 günlük depolama boyunca bazı fiziksel, kimyasal, duyuşal, mikrobiyolojik özelliklerinin ve uçucu bazı aroma aktif bileşenlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Genel bileşimi, asitliği ve viskozitesi belirlenen ürünlerde uçucu bileşenlerin tanımlanması amacıyla gaz kromatografisi kütle spektrometresi kullanılmıştır. Örneklerde bulunan *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp. ve maya sayıları da belirlenmiştir. Ürünlerin duyuşal özellikleri ise tanımlayıcı duyuşal analiz ve tüketici testleri kullanılarak ortaya konmuştur. Sonuç olarak depolama boyunca ürünlerin *Streptococcus* spp. sayılarında azalma olduğu ancak genel olarak *Lactobacillus* spp. ve maya sayılarında önemli fark olmadığı belirlenmiştir. Peyniraltı suyu içeceklerinde miktarı en yüksek uçucu bileşenler hekzanoik asit, asetik asit ve bütirik asit olup liyofilize kültür kullanılarak üretilen ürünlerde asetoik miktarlarının daha fazla olduğu saptanmıştır. Eğitilmiş panelistler tarafından belirlenen karakteristik duyuşal terimleri pişmiş, kremamsı, fermente, hayvansı, mayamsı, süthane ve peyniraltı suyu olup ürünlerde yoğun algılanan aroma terimi ise peyniraltı suyudur. Genel olarak dane kültürden üretilen süt içeceğinin hayvansı aroması liyofilize kültürden üretilenden daha fazla algılanmıştır. Tüketici testi sonuçlarına göre ise ürünlerde tat-koku beğenisi yönünden fark olmadığı ortaya konmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kefir, Peyniraltı suyu, Kalite

### Production and Characterization of Whey Beverage by Using Grain or Lyophilized Kefir Cultures

#### ABSTRACT

Determination and comparison of some physical, chemical, sensory, microbiological properties and some volatile aroma active compounds in fermented dairy beverages produced by grain or lyophilized kefir cultures during 21 days storage were aimed in this study. Gas chromatography mass spectrometry was used to define volatile compounds in the products besides their general composition, acidity and viscosity. Counts of *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., and yeast were also determined in the samples. Sensory properties of the products were evaluated by descriptive sensory analysis and consumer tests. As a result, *Streptococcus* spp. count of the products declined during storage, but *Lactobacillus* spp. and yeast counts did not change in general. The most abundant volatile compounds in whey beverages were hexanoic, acetic and butyric acids while the sample produced by the lyophilized culture had a higher acetoin concentration than that the other. Characteristic sensory terms determined by trained panelists were cooked, creamy, fermented, animal-like, yeasty, dairy and whey, and the most intensely perceived aroma term was whey. In general, the dairy beverage produced by grain had higher intensities of animal-like aroma than the product produced by the lyophilized culture. According to consumer test results, it was stated that there was no significant difference between the products in terms of taste-aroma.

**Keywords:** Kefir, Whey, Quality

## GİRİŞ

Peyniraltı suyu; sütün kendi kendine ekşitilmesi, asit veya rennin enzimi ilavesiyle pıhtılaştırılması sonucu elde edilen ürünlerden pıhtının alınmasından sonra geri kalan yeşilimsi-sarı renkteki sıvıdır [1]. Peynir yapımında bir yan ürün olan peyniraltı suyunda; laktoz, protein, mineral maddeler, vitaminler ve az miktarda da süt yağı bulunmaktadır. Bunların içinde peyniraltı suyu proteinleri en önemli kısmı oluşturmaktadır. Peyniraltı suyu proteinlerinin diğer proteinlere göre üstün tarafı sadece biyolojik değeri değildir. Aynı zamanda peyniraltı suyu proteinleri antioksidan fonksiyonları destekleyen ve sülfür içeren aminoasitleri de yüksek oranda içermektedir [2,3].

Peyniraltı suyu proteinleri, her biri farklı moleküler ağırlıkta ve farklı biyolojik aktiviteye sahip majör ve minör proteinlerden meydana gelmektedir. Majör peyniraltı suyu proteinleri:  $\alpha$ -laktoalbumin,  $\beta$ -laktoglobülin, serum albumin, immünooglobülinler ve glikomakropeptidlerden oluşmaktadır. Minör peyniraltı suyu proteinleri ise, laktoperoksidaz, laktoferrin, mikroglobülin, lizozim,  $\gamma$ -globülinler ve diğer birkaç küçük proteinlerdir [4,5].

Peyniraltı suyunda, süt kurumaddesinin yaklaşık yarısı, süt şekerinin hemen hemen tamamı, proteinlerin yaklaşık 1/5'ive B grubu vitaminlerin ise büyük bir bölümü bulunmaktadır. Peyniraltı suyunda %0.5-1 gibi düşük miktarlarda protein bulunmasına karşın, bunların  $\alpha$ -laktoalbumin,  $\beta$ -laktoglobülin, serum albumini ve globülinlerden oluşması onu değerli bir ürün yapmaktadır [6].

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre kefir; laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve Torula mayalarını içeren kefir danelerinin sütü fermentasyonu ile elde edilen içilebilir kıvamdaki üründür [7]. Kefir daneleri 0.3-2 cm çapında, irili ufaklı düzensiz şekillerdedir. Danenin yüzeyi girintili çıkıntılı olup karnabahar parçalarına benzer ve elastik yapıdadır. Renkleri beyaz ya da hafif sarımtırak olabilir. Daneler, mikrobiyel hücreler, bunların metabolik ürünleri, pıhtılaşmış süt proteinleri ve karbonhidratlardan oluşmaktadır [8-10].

Kefirde laktik asit ve alkol fermentasyonunu gerçekleştiren mikroflora, dane olarak isimlendirilen yapı içinde simbiyotik halde bulunmaktadır. Kefir daneleri kazein ve kazein partiküllerinde ortaklaşa yaşayan mikroorganizmalar, bunların oluşturduğu metabolik ürünler ve karbonhidratlardan meydana gelmektedir. Mikroorganizmalar daneden süte geçerek fermentasyon işlemini gerçekleştirirler. Kefir danesinin en önemli özelliği sütü fermente ettikten sonra süzülerek geri kazanılmasıdır [11-13]. Endüstriyel kefir üretiminde ise dane yerine liyofilize kefir kültürü kullanılmaktadır.

Bu çalışmada kefir danesi ve liyofilize kefir kültürlerinin peyniraltı suyunda gelişimi sonucu elde edilecek peyniraltı suyu ieeğinin bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, duyuusal özellikleri, aroma bileşenlerinin

depolama boyunca belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Araştırmada dane ve liyofilize olmak üzere iki çeşit kefir kültürü kullanılmıştır. Kefir daneleri Danem Kefir firmasından (Isparta) ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nden (Ankara), liyofilize kültürler ise Danem Kefir (Sevdanem Kefir Mayası) ve Chr. Hansen (eXact®Kefir 2) firmalarından sağlanmıştır. Hammadde olarak kullanılan peyniraltı suyu ise yöredeki peynir üreticisi firmadan (Eceabat, Çanakkale)temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan peyniraltı suyunun pH'sı 6.6 olup protein içeriği %1.23-1.64, yağ içeriği %0.85 ve kurumaddesi % 7 civarındadır.

### Metot

Çalışmada iki farklı kaynaktan sağlanan dane veya ticari liyofilize kefir kültürleri peyniraltı suyuna ilave edilerek 4 farklı içecek üretimi gerçekleştirilmiştir. Mayalama işlemine geçmeden önce cam kavanozlarda bulunan peyniraltı suları 65°C'lik su banyosunda 30 dakika süreyle pastörize edilmiş ve 25°C'ye soğutulmuştur. Kullanılmadan önce kefir daneleri bir miktar süt içerisine konularak 25°C'deki inkübatörde 18-24 saat süreyle aktifleştirilmiştir. Aktifleşen iki farklı kefir kültürü (dane) ve iki farklı firmadan sağlanan liyofilize kültürler kavanozlardaki peyniraltı suyuna üretici firmalar tarafında önerilen miktarlarda ilave edilerek 25°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemine örneklerin pH değeri 4.5'e ulaştığında son verilmiştir. Kefir danesi kullanılan örneklere inkübasyon sonunda süzme işlemi uygulanarak daneler ayrılmıştır. Üretilen peyniraltı suyu içecekleri buzdolabında 21 gün boyunca depolanmıştır.

### Asitlik ve Bileşen Analizleri

Titrasyon asitliği, pH, toplam kurumadde, protein ve küll analizleri Bradley ve ark. [14] tarafından önerilen yöntemler kullanılarak örneklerin yağ içerikleri de süt bütirometresi kullanılarak Gerber vanGulik metoduna göre yüzde olarak belirlenmiştir [15].

### Aroma-Aktif Bileşenlerin Analizi

Peyniraltı suyu içeceklerinin aroma bileşenleri katı faz mikroekstraksiyon gaz kromatografisi olfaktometri (GC-O) sistemi kullanılarak belirlenmiştir. 3 g örnek viallere tartılmış, üzerine 1 g tuz ilave edilerek 40°C'deki su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra SPME fiber vial batırılmış ve 40°C'lik su banyosunda 20 dakika tutulmuştur. Örnekler GC'ye enjekte edildikten sonra GC-O da koklama işlemi gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazından yararlanılmıştır. Miktar belirlenmesi amacıyla her bir örnek için GC-O koşullarında belirttiği şekilde hazırlanan örnek viallerine 5  $\mu$ L iç standart (1 mL'sinde 0.1  $\mu$ L 2-metil



valerik asit ve 0.6 µL 2-metil-3- heptanon içermektedir) ilave edilerek 40°C'deki su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra SPME fiber vial batırılmış ve 40°C'lik su banyosunda 20 dakika tutularak GC-MS'e enjekte edilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Uçucu bileşen analizleri depolamanın 1. ve 21. günlerinde tekrar edilmiştir. Aroma maddelerinin alıkonma indeksleri (RI-Retention Index) alkan serisi kullanılarak Van den Dool ve Kratz [16] tarafından önerilen yöntem kullanılarak hesaplanmıştır.

### Viskozite Ölçümü ve Duyusal Analizler

Peyniraltı suyu içeceklerinin viskozite değerleri 50 rpm hızda, 20°C sıcaklıkta, LV-SC4-18 başlığı kullanılarak Brookfield viskozimetresi (Model DV II+Proand Rheocalc software; Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA) ile belirlenmiştir. Üretilen ürünlerin karakteristik duyusal özellikleri Spectrum™ metodu kullanılarak değerlendirilmiştir [17]. Viskozite ölçümleri ve duyusal analizler depolamanın 1., 7. ve 21. günlerde tekrarlanmıştır. Bunun yanında tüketiciler tarafından ürünlerin beğenisini ortaya koymak amacıyla da tüketici testi gerçekleştirilmiştir.

### Mikrobiyolojik Analizler

*Streptococcus* bakterilerinin sayımı için M17 agar kullanılarak dökme plak yöntemi uygulanmış olup kültürler 37°C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir [18]. *Lactobacillus* bakterilerinin sayımı için MRS agar kullanılmıştır. Dökme plak uygulanmış ve çift tabaka ekim yöntemi kullanılarak anaerobik ortam sağlanmıştır. Kültürler 30°C'de 72 saat inkübe edilmişlerdir [19]. Maya sayımında ise YGC besiyeri kullanılmıştır. 25°C'de 120 saat inkübasyona bırakılan kültürlerle dökme plak yöntemi uygulanmıştır [20]. İnkübasyon sonunda

belirtilen besiyerinde üreyen koloniler sayılmış ve dilüsyon faktörü ile çarpılıp sonuçlar log kob/mL olarak hesaplanmıştır. Mikrobiyolojik analizler depolamanın 1. ve 21. günlerinde tekrar edilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Kefir çeşidi ve depolama süresinin peyniraltı suyu içeceklerinin fiziksel, kimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla varyans analizi uygulanmıştır. Örnekler arasındaki farklılıklar ise Tukey çoklu karşılaştırma testi ile ortaya konmuştur. Tüketici testlerinin sonuçlarının değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır [21,22]. Minitab (version 16) ve SPSS istatistik paket programları kullanılarak istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Fermente içeceklerinin üretiminde kullanılan peyniraltı suyunun pH değeri ve genel bileşimi belirlenmiştir. İki farklı zamanda alınan peyniraltı suyu örneklerinin pH değerleri 6.59-6.61 arasında değişmektedir. Peyniraltı sularının kurumadde, protein, yağ ve kül içeriklerinin ise sırasıyla %6.99-7.13, %1.23-1.64, %0.85-0.85 ve %0.49-0.53 arasında değiştiği saptanmıştır.

Peyniraltı suyu içeceklerinin temel bileşenleri depolamanın 1. gününde belirlenmiştir. Üretilen fermente içeceklerde protein (%), yağ (%), kurumadde (%), kül (%) miktarları tespit edilmiş ve sonuçlar Tablo1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Peyniraltı suyu içeceklerinin temel bileşenlerine ait tanıttıcı istatistikler( $X \pm S_x$ )

Bileşen	Peyniraltı Suyu İçeceği			
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
Protein (%)	1.70±0.06 <sup>a</sup>	1.65±0.07 <sup>a</sup>	0.98±0.02 <sup>b</sup>	1.12±0.04 <sup>b</sup>
Yağ (%)	0.90±0.06	0.90±0.04	0.93±0.03	0.83±0.03
Kurumadde (%)	6.86±0.01 <sup>a</sup>	6.81±0.01 <sup>ab</sup>	6.73±0.10 <sup>ab</sup>	6.61±0.13 <sup>b</sup>
Kül (%)	0.47±0.02 <sup>b</sup>	0.48±0.01 <sup>ab</sup>	0.53±0.01 <sup>a</sup>	0.52±0.01 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup>Aynı satırda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). D<sub>1</sub>:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D<sub>2</sub>:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L<sub>1</sub>:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L<sub>2</sub>:Liyofilize kefir kültürü (Chr.Hansen)

Protein oranları açısından D<sub>1</sub> ve D<sub>2</sub>, L<sub>1</sub> ve L<sub>2</sub> örneklerine ait ortalamalar arasında istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir ( $P > 0.05$ ). Fakat kefir danesi ve liyofilize kültürlerden üretilen ürünlere ait ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). Dane kefir kültürü kullanılarak üretilen içeceklerin protein içeriği diğer örneklerden daha yüksek bulunmuştur. Assadi [23] yapmış olduğu çalışmada peyniraltı suyunda üretilen içeceklerin protein miktarlarını %0.81-0.92 aralığında olduğunu belirtmiştir. Balabanova ve ark. [24] çalışmalarında peyniraltı suyunun protein içeriğini %0.4 olarak belirlemişlerdir. Bileşimde karşılaşılan farklı sonuçlar peyniraltı suyunun elde edildiği peynir çeşidinden, peynire uygulanan işlem

aşamalarındaki farklılıklardan veya peynir sütünün bileşiminden kaynaklanabilir.

Peyniraltı suyu içeceklerine ait ortalamalar arasında yağ oranları bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir ( $P > 0.05$ ). Assadi [23] yapmış olduğu çalışmada peyniraltı suyuna mayalanan kefirlerdeki yağ miktarını %0.45-0.55 aralığında belirtmiştir [23]. Balabanova ve ark. [24] çalışmalarında peyniraltı suyundan elde ettikleri içeceklerin yağ miktarlarını %0.5 olarak belirlemişlerdir. Elde edilen değerler bu sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur.

Peyniraltı suyundan üretilen fermente içeceklerin kurumadde oranları %6.61-6.86 arasında değişim göstermekte olup en yüksek değer D<sub>1</sub> örneğinde (%6.86), en düşük değer ise L<sub>2</sub> (%6.61) örneğinde belirlenmiştir. Assadi [25] peyniraltı suyuna mayalanan kefirlerin kurumadde oranlarının %2.40-2.94 aralığında olduğunu belirtmiştir. Peyniraltı suyu içeceklerinin kül oranları %0.47-0.53 arasında değişim göstermekle birlikte en yüksek değer L<sub>1</sub>(%0.53) ve en düşük değer D<sub>1</sub> (%0.47) örneklerinde belirlenmiştir. Genel olarak liyofilize kültür ilave edilen içeceklerin kül oranı dane kültür ilave edilenlerden daha yüksektir. Assadi [23] çalışmasında peyniraltı suyuna mayalanan kefirlerin kül miktarlarının %0.40-0.49 arasında değiştiğini belirtmiştir. Bu sonuç elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında oranların birbirine yakın olduğu

görülmüştür. Akal ve ark. [25] çalışmalarında peyniraltı suyundan ürettikleri kefirin kül miktarlarını %0.67-%0.85 aralığında tespit etmişlerdir.

Peyniraltı suyu içeceklerine depolama boyunca 1., 7. ve 21. günlerde pH, titrasyon asitliği (%)ve viskozite analizleri yapılmış olup ortalama ve standart sapmaları ile birlikte Tablo 2'de sunulmuştur. Depolama süresi boyunca içeceklerin pH değerlerinin benzer olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle depolama süresi, kefir çeşidi veya bunların ortak etkisi istatistiksel yönden önemli bir farklılık oluşturmamıştır (P>0.05). Akal ve ark. [25] yapmış oldukları bir çalışmada peyniraltı suyundan üretilen kefirleri 14 gün boyunca depolanmış ve depolama süresince pH değerlerinde çok küçük artışlar olmakla birlikte önemli değişiklikler gözlemlenmemiştir.

Tablo 2. Peyniraltı suyu içeceklerinin depolama boyunca bazı fiziksel ve kimyasal analizlerine ait tanıtıcı istatistikler (X ± SX)

Depolama Süresi	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
	pH			
1	4.44±0.04	4.40±0.01	4.37±0.03	4.44±0.02
7	4.33±0.02	4.36±0.01	4.37±0.05	4.44±0.03
21	4.32±0.02	4.34±0.01	4.36±0.03	4.44±0.06
	Titrasyon asitliği (%)			
1	0.46±0.03 <sup>Aab</sup>	0.47±0.01 <sup>Aab</sup>	0.39±0.01 <sup>Ba</sup>	0.40±0.01 <sup>Ba</sup>
7	0.44±0.01 <sup>Ab</sup>	0.45±0.01 <sup>Ab</sup>	0.38±0.01 <sup>Ba</sup>	0.39±0.01 <sup>Bab</sup>
21	0.49±0.02 <sup>Aa</sup>	0.50±0.01 <sup>Aa</sup>	0.38±0.01 <sup>Ba</sup>	0.36±0.00 <sup>Bb</sup>
	Viskozite (cp)			
1	1.37±0.08	1.38±0.09	1.64±0.14	1.61±0.05
7	1.62±0.00	1.40±0.05	1.74±0.15	1.70±0.02
21	1.86±0.12	1.98±0.09	1.83±0.06	1.73±0.05

a-b Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05)  
A-B Aynı satırda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05).  
D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr.Hansen)

Esmek ve ark. [26] çalışmalarında peyniraltı suyundan ürettikleri kefirin pH değerlerinin 4.09-4.30 aralığında olduğunu saptamışlardır. Magalhaes ve ark. [27] yapmış oldukları çalışmalarında peyniraltı suyuna mayaladıkları kefirin pH değerlerini yaklaşık 5. saatte 5.5, 10. saatte 5.0, 15. saatte 4.5, 20. Saatte 4.5, 24. saatte 4.5 olarak belirlemişler, 50. saate kadar da pH değeri 4.5 olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz tüm pH değerleri bu çalışmadaki sonuca benzer tespit edilmiştir.

Peyniraltı suyu içeceklerine ait titrasyon asitliği değerleri % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır. Titrasyon asitliği değerlerine kefir çeşidi ve günün ortak etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P≤0.05). 21 günlük depolama süresince kefir danesinden üretilen içecekler kendi arasında, liyofilize kültürden üretilen içecekler kendi arasında benzer değerlere sahiptir. Assadi [23] yapmış olduğu çalışmasında peyniraltı suyuna mayaladığı kefirdeki titrasyon asitliği değerinin laktik asit cinsinden %0.83 olduğunu belirtmiştir. Depolama boyunca elde ettiğimiz titrasyon asitliği değerleri bu sonuçtan daha düşüktür. Esmek ve ark. [26] çalışmalarında peyniraltı suyundan ürettikleri kefirin titrasyon asitliği değerlerinde depolamanın 1. gününde artış meydana geldiğini diğer günlerde ise önemli bir değişim olmadığını gözlemlenmişlerdir.

Peyniraltı suyu içeceklerinin viskozite değerlerine sadece depolamanın etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucu depolamayla birlikte tüm içeceklerin viskozite değerlerinde artış olduğu ve en yüksek viskozite değerinin 21. günde (ortalama 1.85 cP) elde edildiği saptanmıştır.

### Aroma Analizi

Peyniraltı suyundan üretilen içeceklerin 1. depolama günlerine ait GC-O analizi sonuçları Tablo 3'te sunulmuştur. Buna göre toplam 18 adet aroma maddesi belirlenmiş olup bu aroma maddelerinden 7 tanesi peyniraltı suyu içeceklerinin tümünde tespit edilmiştir. Buna göre içeceklerin tümünde belirlenen aroma maddeleri diasetil, asetik asit, bütirik asit, metil bütirik asit, metiyonal,1-okten-3-on ve homofuraneoldür. Belirlenen diğer aroma maddeleri içecek çeşidine göre değişmekte olup bazı örneklerde belirlendiği halde bazı örneklerde belirlenmemiştir. Örneğin etil 3 metil bütirat sadece D<sub>2</sub> örneğinde, fenil etil alkol ise sadece D<sub>1</sub> örneğinde tespit edilmiştir.

Peyniraltı suyu içeceklerindeki ketonlar; diasetil (tereyağımsı) ve 1-okten-3-on (mantar); sülfür bileşeni metiyonal (kaynamış patates);ester bileşen ietil 3 metil bütirat (meyvemsi); aldehit bileşeni fenilasetaldehit (gül);

asidik bileşenler; asetik asit (sirke, ekşi), bütirik asit (ransit), metil bütirik asit (tatlı, peynir), izovalerik asit (tatlı, asit), pentanoik asit (İsviçre tipi peynir), hekzanoik asit (peynirimsi, ekşi); alkol olarak ise fenil etil alkol (gül) bileşiği belirlenen aroma maddeleridir. *p*-Kresolfekal

aromaya sahiptir ve sadece dane kültürden üretilen içeceklerde birbirine yakın oranlarda algılanmıştır. Liyofilize kültürden üretilen fermente içeceklerde ise belirlenememiştir. Diğer aroma bileşenlerinden maltol ve homofuraneol yanık şeker aromasına sahiptirler.

Tablo 3. Peyniraltı suyu içeceklerinde belirlenen aroma-aktif bileşenler

No	Bileşik	RI	Aroma	Aroma yoğunluğu (µg/100 g)			
				D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
1	Diasetil	571	Tereyağımsı	6.00±0.01	5.00±0.01	4.50±0.71	6.50±0.71
2	Asetik asit	611	Sirke, ekşi	1.50±0.71	2.00±0.01	1.75±0.35	0.50±0.71
3	Bütirik asit	804	Ransit	3.50±0.71	4.50±0.71	5.00±0.01	4.50±0.71
4	Metil bütirik asit	863	Tatlı, peynir, asit	2.00±0.01	1.00±0.01	4.00±1.41	1.75±0.35
5	Etil 3 metil bütirat	871	Meyvemsi	-	2.00±0.01	-	-
6	İzovalerik asit	877	Tatlı, asit	2.50±0.71	-	3.50±0.71	3.00±0.01
7	Metiyonal	913	Kaynamış patates	5.50±0.71	5.00±1.41	2.00±0.01	1.00±0.01
8	1-Okten 3-on	983	Mantar	2.50±0.71	1.50±0.71	1.50±0.71	1.50±0.71
9	Pentanoik asit	1027	İsviçre tipi peynir	-	-	-	1.00±1.41
10	Maltol	1030	Yanık şeker	-	-	-	1.50±0.71
11	Hekzanoik asit	1046	Peynirimsi, ekşi	-	3.00±0.01	0.50±0.71	-
12	Fenilasetaldehit	1059	Gül	0.75±0.35	0.50±0.71	0.50±0.71	-
13	Bilinmeyen 1	1061	Kirli toz	-	-	0.50±0.71	-
14	<i>p</i> -Kresol	1103	Fekal	4.00±0.01	3.50±0.71	-	-
15	Fenil etil alkol	1132	Gül, tatlı	0.40±0.57	-	-	-
16	Homofuraneol	1176	Yanık şeker	1.75±1.06	1.75±0.35	1.00±0.01	1.25±0.35
17	Bilinmeyen 2	1216	Besiyeri	-	2.00±0.01	-	-
18	Bilinmeyen 3	1257	Yanık şeker	-	1.00±0.01	-	-

"-" Belirlenemedi, D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr.Hansen). RI: HP-5 kolonda alıkonma indisi

Peyniraltı suyundan üretilen içeceklerin uçucu bileşenleri katı faz mikroekstraksiyon (SPME) GC-MS tekniği kullanılarak depolamanın sadece 1. ve 21. günlerinde belirlenmiştir. Elde edilen bulgular standart hatalarıyla birlikte Tablo 4'te sunulmuştur. Peyniraltı suyu içeceklerinin tümünde bulunan uçucu bileşenlerin asetik asit, 2-bütanon 3-hidroksi (asetoin), bütirik asit, 3 metil bütirik asit, hekzanoik asit, heptanoik asit, 2-

nonanon, nonanal, oktanoik asit, dekanal, nonanoik asit, 2-andekanon, n-dekanoik asit, δ-dekalakton ve dodekanoik asit olduğu belirlenmiştir. Benzer aroma aktif bileşenler Karagül-Yüceer ve ark. [28] tarafından Cheddar peynirinden elde edilen peyniraltı suyunda ve Magalhaes ve ark. [29] tarafından yapılan çalışmada da belirlenmiştir.

Tablo 4. Depolamanın 1. ve 21. günlerinde peyniraltı suyu içeceklerinde belirlenen uçucu bileşen miktarları (µg/100 g) (Ortalama ± Standart Sapma )

Uçucu Bileşen	RI	Örnek									
		D <sub>1</sub>		D <sub>2</sub>		L <sub>1</sub>		L <sub>2</sub>			
		1.Gün	21.Gün	1.Gün	21.Gün	1.Gün	21.Gün	1.Gün	21.Gün	1.Gün	21.Gün
Asetik asit	598	92.35±6.70	94.56±6.68	87.56±26.10	85.71±7.04	97.48±1.38	113.07±0.71	76.50±5.28	89.97±14.60		
2-Bütanon, 3- hidroksi (Asetoin)	705	5.51±2.61	6.08±0.44	4.53±2.82	4.34±1.92	9.60±0.83	6.33±0.65	7.31±1.22	5.96±1.51		
İzoamilalkol	729	4.45±1.09	6.80±0.58	4.82±2.89	6.95±2.02	-	-	-	-		
Bütirik asit	817	32.88±2.15	34.04±0.60	28.98±8.56	33.46±2.87	39.75±2.40	42.11±1.27	34.09±0.93	34.76±0.19		
3 Metil bütirik asit	857	1.18±1.05	1.88±0.29	1.32±0.67	1.58±1.37	4.31±1.80	3.86±0.52	3.73±0.85	3.86±1.52		
2-Heptanon	889	0.89±0.71	1.04±0.10	0.42±0.12	0.69±0.53	0.19±0.01	0.15±0.10	-	-		
Hekzanoik asit	1015	121.32±6.86	131.26±1.13	122.25±18.64	141.86±5.06	134.82±1.58	145.49±6.67	129.26±8.57	131.47±9.19		
Fenol 4 metil	1069	0.07±0.07	0.11±0.04	0.07±0.01	0.15±0.01	-	-	-	-		
Heptanoik asit	1077	1.66±0.67	1.31±0.27	1.96±0.80	2.95±0.05	1.88±0.75	1.99±0.65	1.92±1.53	1.90±1.12		
2-Nonanon	1086	0.04±0.01	0.10±0.03	0.03±0.01	0.08±0.05	0.05±0.01	0.06±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01		
Nonanal	1096	0.02±0.01	0.07±0.01	0.03±0.01	0.01±0.01	0.05±0.03	0.03±0.03	0.05±0.04	0.01±0.01		
Fenil etil alkol	1110	0.25±0.03	0.57±0.15	0.19±0.08	0.51±0.15	-	-	-	-		
Pristan	1145	0.73±0.24	1.04±0.12	0.02±0.01	0.78±0.18	0.98±0.07	0.93±0.19	0.95±0.19	0.82±0.06		
Oktanoik asit	1183	43.54±0.39	45.37±1.27	44.78±4.74	47.16±1.60	51.82±4.83	48.47±1.47	49.72±0.05	48.10±2.89		
Dekanal	1196	0.02±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.07±0.06	0.02±0.01	0.04±0.02	0.03±0.02		
Nonanoik asit	1264	10.37±8.69	1.99±1.57	8.54±6.10	16.26±1.20	11.54±11.52	17.55±3.60	0.04±0.02	11.81±13.15		
2-Andekanon	1284	0.01±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01		
n-Dekanoik asit	1358	4.36±0.78	4.33±0.05	4.11±0.16	5.30±0.64	5.58±1.21	4.93±0.85	4.90±0.68	4.89±0.07		
Dodekanal	1398	0.03±0.03	0.07±0.07	-	-	-	-	-	-		
δ-Dekalakton	1493	0.02±0.01	0.06±0.01	0.01±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01	0.05±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01		
Dodekanoik asit	1548	0.14±0.09	0.26±0.20	0.07±0.01	0.22±0.07	0.20±0.04	0.07±0.07	0.09±0.06	0.11±0.09		
Tetradekanoik asit	1745	0.02±0.02	0.18±0.10	0.05±0.01	0.03±0.01	-	-	-	-		
n-Hekzadekanoik asit	1945	0.16±0.12	0.30±0.14	0.04±0.03	0.24±0.08	0.04±0.03	-	-	-		

"-" Belirlenemedi, RI: Alıkonma indisi, D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr.Hansen)

**Duyusal Analizler**

Yapılan tanımlayıcı duyuşal değerlendirmede 6 panelist tarafından ürünlerde aromatik özelliklerden pişmiş,

kremamsı, peyniraltı suyu, fermente, mayamsı, hayvansı ve süthane terimleri saptanmış ve verilen değerler Tablo 5'te sunulmuştur. Temel tatlardan ise ekşi, tatlı ve tuzlu terimleri en yoğun belirlenen tat özellikleridir (Tablo 6).

Tablo 5. Depolama boyunca peyniraltı suyu içeceklerinin duyuşal aroma özellikleri ( $\bar{X} \pm S_x$ )

Gün	Pişmiş			
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
1	2.31±0.14 <sup>Aa</sup>	2.11±0.07 <sup>Aa</sup>	2.03±0.11 <sup>Ab</sup>	2.09±0.04 <sup>Ab</sup>
7	2.09±0.05 <sup>Aa</sup>	2.11±0.11 <sup>Aa</sup>	2.00±0.01 <sup>Ab</sup>	2.05±0.05 <sup>Ab</sup>
21	2.34±0.01 <sup>Ba</sup>	2.13±0.23 <sup>Ba</sup>	2.92±0.09 <sup>Aa</sup>	2.88±0.04 <sup>Aa</sup>
<b>Kremamsı</b>				
1	0.84±0.09 <sup>Bb</sup>	0.88±0.13 <sup>Bb</sup>	2.07±0.11 <sup>Ac</sup>	2.13±0.08 <sup>Ab</sup>
7	1.12±0.03 <sup>Bb</sup>	0.16±0.06 <sup>Cc</sup>	2.51±0.05 <sup>Ab</sup>	2.44±0.10 <sup>Ab</sup>
21	2.61±0.11 <sup>Ba</sup>	2.40±0.06 <sup>Ba</sup>	3.13±0.17 <sup>Aa</sup>	3.17±0.04 <sup>Aa</sup>
<b>Peyniraltı Suyu</b>				
1	6.44±0.15	6.32±0.23	5.73±0.15	5.86±0.15
7	6.71±0.04	6.67±0.04	7.19±0.23	6.94±0.19
21	6.40±0.02	6.05±0.38	6.30±0.21	6.63±0.46
<b>Fermente</b>				
1	4.88±0.01	4.49±0.19	5.34±0.54	6.03±0.44
7	6.05±0.13	5.92±0.04	5.36±0.03	5.82±0.07
21	5.44±0.06	5.55±0.59	5.25±0.21	6.00±0.21
<b>Mayamsı</b>				
1	3.26±0.05 <sup>Aa</sup>	2.88±0.34 <sup>Aa</sup>	1.90±0.07 <sup>Bb</sup>	1.86±0.07 <sup>Ba</sup>
7	2.22±0.09 <sup>Ab</sup>	2.22±0.13 <sup>Ab</sup>	2.36±0.07 <sup>Aa</sup>	2.29±0.04 <sup>Aa</sup>
21	1.96±0.13 <sup>Ab</sup>	2.13±0.09 <sup>Ab</sup>	2.09±0.09 <sup>Aab</sup>	2.17±0.04 <sup>Aa</sup>
<b>Hayvansı</b>				
1	1.63 ±0.04 <sup>Ab</sup>	2.70±0.27 <sup>Aa</sup>	0.25 ±0.01 <sup>Ba</sup>	0.25 ±0.01 <sup>Ba</sup>
7	3.80 ±0.09 <sup>Aa</sup>	3.52±0.31 <sup>Aa</sup>	0.00 ±0.01 <sup>Ba</sup>	0.00 ±0.01 <sup>Ba</sup>
21	2.30 ±0.88 <sup>Ab</sup>	2.77±0.27 <sup>Aa</sup>	0.00 ±0.01 <sup>Ba</sup>	0.00 ±0.01 <sup>Ba</sup>
<b>Süthane</b>				
1	0.79±0.02 <sup>Aa</sup>	0.75±0.07 <sup>Aa</sup>	0.94±0.02 <sup>Ab</sup>	1.07±0.07 <sup>Ab</sup>
7	1.13±0.05 <sup>Ba</sup>	1.22±0.01 <sup>Ba</sup>	3.49±0.07 <sup>Aa</sup>	3.57±0.02 <sup>Aa</sup>
21	0.94±0.19 <sup>Ba</sup>	1.34±0.21 <sup>Ba</sup>	3.80±0.80 <sup>Aa</sup>	3.34±0.17 <sup>Aa</sup>

a-c Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). A-CAynı satırda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr. Hansen)

Pişmiş aroma üzerine depolama süresi ve kültür çeşidinin ortak etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Depolamanın 1. ve 7. günlerinde içeceklerin pişmiş aromalarının benzer olduğu belirlenmiştir. Özellikle ısıya duyarlı olan peyniraltı suyu proteinleri üretimde uygulanan ısı işlem normuna bağlı olarak pişmiş aromaya neden olabilir. Kremamsı aroma üzerine depolama süresi ve kefir çeşidinin ortak etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P \leq 0.05$ ). Depolama boyunca liyofilize kültürden üretilen ürünlerin kremamsı aromalarının dane kültürden üretilenlerden daha yüksek olduğu saptanmış ve aralarında istatistiksel olarak farklılık görülmüştür. Depolama süresi boyunca içeceklerin peyniraltı suyu ve fermente aromalarının benzer olduğu belirlenmiştir.

Mayamsı aroma üzerine kefir çeşidinin ve depolama süresinin ortak etkisinin istatistiksel yönden önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.05$ ). 1. depolama gününde kefir danesinden üretilen içeceklerin mayamsı aromalarının liyofilize kültürden üretilenlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Peyniraltı suyu

içeceklerinin hayvansı aromalarına kefir çeşidi ve günün ortak etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ( $P \leq 0.05$ ). Buna göre depolama boyunca kefir danesinden üretilen içeceklerin hayvansı aromalarının liyofilize kültürden üretilenlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aroma aktif bileşenlerden özellikle hayvansı aromaya sahip p-kresol sadece dane kültür kullanılarak üretilen ürünlerde belirlenmiştir (Tablo 3). Süthane aromasına depolama süresi ve kefir çeşidinin ortak etkisinin istatistiksel yönden önemli olduğu görülmüştür ( $P \leq 0.05$ ).

Peyniraltı suyu içeceklerinde 21 günlük depolama süresi boyunca belirlenen temel tatlara ait değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 6'da sunulmuştur. Ürünlerin ekşi tatlarına kefir çeşidinin etkisi önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Peyniraltı suyu içeceklerinde belirlenen asetik asit ve hekzanoik asit ekşi tadın oluşmasında rol oynamaktadır. Ürünlerin tatlı tat özellikleri üzerine depolama süresinin etkisi önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Buna göre depolamayla birlikte içeceklerdeki tatlılık algısı azalma göstermiştir. Tuzlu tat algısı üzerine örnek

çeşidi ve depolamanın ortak etkisi önemli bulunmuştur. L<sub>1</sub> örneği hariç diğer örneklerde depolama sonunda

algılanan tuzlu tat puanı düşmüştür.

Tablo 6. Peyniraltı suyu içeceklerinin temel tatlarına ait tanıttıcı istatistikler (X±S<sub>x</sub>)

Gün	Peyniraltı suyu içeceği			
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
Eksi				
1	2.65±0.15	1.86±0.11	2.19±0.48	2.32±0.07
7	3.32±0.36	1.61±0.15	2.34±0.01	2.50±0.33
21	2.98±0.19	1.26±0.08	2.46±0.04	2.17±0.08
Tatlı				
1	2.15±0.11	2.86±0.15	2.98±0.31	2.82±0.11
7	1.65±0.19	1.61±0.15	1.99±0.11	1.63±0.30
21	1.52±0.27	1.26±0.08	1.71±0.08	2.24±0.11
Tuzlu				
1	2.49±0.32 <sup>Aa</sup>	2.49±0.57 <sup>Aa</sup>	1.53±0.07 <sup>Bb</sup>	1.53±0.01 <sup>Ba</sup>
7	1.01±0.01 <sup>Ab</sup>	1.03±0.01 <sup>Ab</sup>	1.21±0.01 <sup>Ab</sup>	1.14±0.01 <sup>Aab</sup>
21	0.80±0.01 <sup>Bb</sup>	0.63±0.13 <sup>Bb</sup>	2.46±0.04 <sup>Aa</sup>	0.81±0.07 <sup>Bb</sup>

a-b Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05). A-BAynı satırda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05). D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr. Hansen)

Dane ve liyofilize kültürden peyniraltı suyuna mayalanarak üretilen içeceklere ait tüketici testi sonuçları Tablo 7'de sunulmuştur. Tat ve koku özelliği bakımından örnekler arasında fark bulunmamıştır. Görünüş ve kıvam yönünden L<sub>2</sub> örneği L<sub>1</sub> den daha fazla beğenilmiştir. L<sub>2</sub> örneği panelistler tarafından en

beğenilen ürün olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak diğer örneklerden farklılık gösterdiği saptanmıştır (P≤0.05). D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> ve L<sub>1</sub> örnekleri arasında beğeni sıralaması açısından önemli bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 7. Peyniraltı suyu içeceklerine uygulanan tüketici testine ait tanıttıcı istatistikler (X±S<sub>x</sub>)

Özellikler	Peyniraltı suyu içeceği			
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
Görünüş	4.88±0.29 <sup>ab</sup>	4.35±0.27 <sup>abc</sup>	3.67±0.27 <sup>c</sup>	5.67±0.28 <sup>a</sup>
Kıvam	4.55±0.27 <sup>b</sup>	4.53±0.25 <sup>b</sup>	4.24±0.26 <sup>b</sup>	5.33±0.24 <sup>a</sup>
Tat-koku	4.29±0.32	4.14±0.29	4.84±0.32	5.19±0.31
Beğeni sırası	2.55±0.15 <sup>a</sup>	2.71±0.15 <sup>a</sup>	2.73±0.16 <sup>a</sup>	2.02±0.15 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup>Aynı satırda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (P≤0.05). D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Danekefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr. Hansen)

## Mikrobiyolojik Analizler

Peyniraltı suyundan üretilen içeceklerin mikrobiyolojik analizinde streptokok, laktobasil ve maya sayımları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ortalama ve standart hataları ile birlikte Tablo 8'de sunulmuştur. Peyniraltı suyundan üretilen içeceklerin *Streptococcus* sayılarına içecek türü ve depolamanın ortak etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P≤0.05). Depolama sonunda içeceklerdeki streptokok sayısında azalma tespit edilmiş, L<sub>2</sub> örneğine ait streptokok sayısının diğerlerinden daha az olduğu belirlenmiştir. Peyniraltı suyu içeceklerinin *Laktobacillus* sayılarına ürün çeşidi ve günün ortak etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir (P≤0.05). Depolama süresince D<sub>1</sub> örneğinin laktobasil miktarında artış, L<sub>1</sub> örneğinde ise azalma görülmüş D<sub>2</sub> ve L<sub>2</sub> örneklerinin laktobasil sayımlarında önemli bir değişiklik görülmemiştir. Peyniraltı suyundan üretilen içeceklerin maya miktarına sadece kefir çeşidinin etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir. Genel olarak kefir

danesi kullanılarak üretilen içeceklerdeki maya miktarının liyofilize kültürden üretilenlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Assadi [23], peyniraltı suyuna mayaladığı kefirde yapmış olduğu çalışmada bakterilerin mayalara oranla daha fazla asit ürettiklerini fakat mayalarında bakterilerden daha fazla CO<sub>2</sub> ürettiğini belirlemiştir. Londero ve ark. [30], çalışmalarında farklı sütlerden elde ettikleri peyniraltı suyuna mayaladıkları kefirde inkübasyon sonunda oluşan maya sayılarını incelemiş ancak istatistiksel yönden önemli farklılık tespit edememişlerdir. Londero ve ark. [31], bir başka çalışmada ise süt ve peyniraltı suyuna mayaladıkları kefirler ile ürettikleri fermente içeceklerden; peyniraltı suyundan üretilenlerin maya ve laktik asit bakteri sayılarının süttten üretilenlere oranla daha düşük olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Magalhaes ve ark. [32] çalışmalarında ise kefirdeki laktik asit bakteri varlığının maya varlığından daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Tablo 8. Depolama boyunca örneklerin mikrobiyolojik sayımlarına ait tanıtıcı istatistikler ( $X \pm S_x$ )

Gün	<i>Streptococcus</i> spp. (log kob/mL)			
	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>
1	8.67±0.25 <sup>Aa</sup>	8.28±0.08 <sup>Aa</sup>	8.75±0.02 <sup>Aa</sup>	7.95±0.14 <sup>Aa</sup>
21	7.96±0.29 <sup>Ab</sup>	7.71±0.28 <sup>Aa</sup>	7.65±0.17 <sup>Ab</sup>	2.46±0.05 <sup>Bb</sup>
<i>Lactobacillus</i> spp. (log kob/mL)				
1	5.56±0.29 <sup>Db</sup>	7.75±0.05 <sup>Ba</sup>	8.68±0.02 <sup>Aa</sup>	7.05±0.02 <sup>Ca</sup>
21	6.22±0.09 <sup>Ca</sup>	7.45±0.07 <sup>Aa</sup>	7.40±0.06 <sup>Ab</sup>	6.90±0.09 <sup>Ba</sup>
Maya (log kob/mL)				
1	5.93±0.05	6.02±0.02	2.29±0.22	3.75±0.75
21	5.97±0.13	5.66±0.22	2.47±0.48	2.87±0.13

a-b Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). A-D Aynı satırda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0.05$ ). D1:Dane kefir kültürü (Danem kefir) D2:Dane kefir kültürü (Ankara Üniversitesi) L1:Liyofilize kefir kültürü (Danem kefir) L2:Liyofilize kefir kültürü (Chr. Hansen)

## SONUÇ

Çalışmada peyniraltı suyunun dane veya liyofilize kefir kültürü ilave edilerek fermente içecek üretiminde kullanılan olanakları ortaya konmuştur. Kullanılan peyniraltı suyunun bileşiminden veya peynirin üretimi sırasında uygulanan işlemlerden veya kullanılan kültürlerin mikroflorasından kaynaklı olarak son üründe fiziksel, kimyasal ve duyuşsal bazı farklar olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda gerek peyniraltı suyunun değerlendirilmesi ve gerekse yeni fonksiyonel gıdaların üretilmesi amacıyla peyniraltı suyundan üretilen benzer içeceklerle belirli oranlarda meyve aromaları ilave edilerek tüketiciler için alternatif ürünler üretilebilir.

## TEŞEKKÜR

Proje ÇOMÜ BAP birimi (FLY-2014-339) tarafından desteklenmiştir. Kefir danelerini ve ticari kültürlerini sağlayan firmalara ve duyuşsal değerlendirmelere katılan panel üyelerine teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Metin, M. (1983). Süt sanayisinde peynir suyunun değerlendirilmesi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Dergisi*, 1(1), 151-169.
- [2] Anonim (1998). International Dairy Federation. Whey Proceedings of the Second International Whey Conference, Held in Chicago, USA, 27-29 October 1997. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- [3] Smithers, G.W., Ballard, F.J., Copeland, A.D., De Silva, K.J., Dionysius, D.A., Francis, G.L., Goddard, C., Grieve, P.A., McIntosh, G.H., Mitchell, I.R., Pearce, R.J., Regester, G.O. (1996). New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 79(8), 1454-1459.
- [4] Fitzsimons, S.M., Mulvihill, D.M., Morris, E.R. (2007). Denaturation and aggregation process in thermal gelation of whey proteins resolved by differential scanning calorimetry. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 638-644.
- [5] Pihlanto, A. (2000). Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ace-inhibitory

peptides. *Trends in Food Science and Technology*, 11(9-10), 347-356.

- [6] Demirci, M., Arıcı, M. (1989). Peyniraltı suyunun önemi. *Hasad*, 5(4), 26-29.
- [7] Anonim (2001). Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Tebliğ No:2001/21, Ankara.
- [8] Beshkova, D.M., Simova, E. D., Simov, Z.I., Frengova, G.I., Spasov, Z.N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*, 19, 537-544.
- [9] Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, L. (1997). Preservation of kefir grains a comparative study. *Lebensmittel.-Wissenschaft und Technologie*, 30, 77-84.
- [10] Libudzisz, Z., Piatkiewicz, A. (1990). Kefir production in Poland. *Dairy Industries International*, 55(7), 31-34.
- [11] AlpKent, Z., Demir, M. (2004). Kefir ve kefirin sağlık üzerine etkileri. <http://gida.muhsak.akdeniz.edu.tr>.
- [12] Liu, J.R., Lin, C.W. (2000). Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose or sucrose. *Journal of Food Science*, 65(4), 716-719.
- [13] Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y. (2003). Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik antimikrobiyal ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 49-56.
- [14] Bradley, Jr. R.L., Arnold, Jr. E., Barabano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K. (1992). Chemical and physical methods in standard methods for the examination of dairy products, ed: Marshall, R.T. *American Public Health Association, Washington D.C* 433-531.
- [15] NEN. (1969). Netherlands Standard. Butyrometric determination of the fat content of cheese (Gerber van gulik method). *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 23, 214-220.
- [16] Van den Dool, H., Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463-471.
- [17] Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T. (1999). Descriptive Analysis Techniques. Sensory Evaluation Techniques, 3. Edition CRC Press, Inc. Boca Raton, FL. s:161.
- [18] Anonim (1997). IDF 149A. Dairy Starter Cultures of Lactic Acid Bacteria (LAB), Brussels, Belgium.

- [19] Dave, R., Shah, N. (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp.bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science*, 79, 1529-1536.
- [20] Ünlütürk, A., Turantaş, F. (1996). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları, Yayın No: 19, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- [21] Sheskin, DJ. (2000). Parametric and Nonparametric Statistical Procedures, *Chapman & Hall/CRC, New York* 669-684.
- [22] Kruskal, J.B. (1964). Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, 29, 1-27.
- [23] Assadi, M. (2008). Application of whey in fermented beverage production using kefir starter culture. *Nutrition & Food Science*, 38(2), 121-127.
- [24] Balabanova, T., Panayotov, P. (2011). Obtaining functional fermented beverages by using the kefir grains. *Procedia Food Science*, 1, 1653-1659.
- [25] Akal, C., Türkmen, N., Koçak, C. (2016). Kefir üretiminde peyniraltı suyu kullanımı. *Gıda*, 41(5), 351-357.
- [26] Esmek, E.M. (2014). Kefir Kültürü Kullanılarak Üretilen Peyniraltı Sulu İçeceğin Bazı Özellikleri ve Depolama Süresinin Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- [27] Magalhaes, K.T., Dragone, G., Pereira, G., Oliveira, J., Domingues, L., Teixeira, J., Silva, J., Schwan, R. (2011). Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, 126, 249-253.
- [28] Karagül-Yüceer, Y., Drake, M.A., Cadwallader, K.R. (2003). Aroma-active components of liquid Cheddar whey. *Journal of Food Science*, 68, 1215-1219.
- [29] Magalhaes, K.T., Dias, D.R., de Melo Pereira, G.V., Oliveria, J.M., Domingues, L., Teixeira, J.A., de Almeida e Silva, J.B., Schwan, R.F. (2011). Chemical composition and sensory analysis of cheese whey based beverages using kefir grains as starter culture. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 871-878.
- [30] Londero, A., Quinta, R., Abraham, A.G., Sereno, R., De Antoni, G., Garrote, G.L. (2011). Inhibitory activity of cheese whey fermented with kefir grains. *Journal of Food Protection*, 74, 94-100.
- [31] Londero, A., Hamet, M.F., De Antoni, G.L., Garrote, G.L., Abraham, A.G. (2012). Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterisation. *Journal of Dairy Research*, 79, 262-271.
- [32] Magalhaes, K.T., Pereira, M.A., Nicolau, A., Dragone, G., Dominques, L., Teixeira, J.A., de Almeida Silva, J.B., Schwan, R.F. (2010). Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresource Technology*, 101, 8843-8850.

## İzmir’de Satışa Sunulan Bazı Sofralık Zeytinlerin Duyusal Özellikleri

Ferište Öztürk Güngör , Erkan Susamcı  ✉, Yeşim Altunoğlu , Şahnur Irmak 

Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bornova, İzmir

*Geliş Tarihi (Received): 04.01.2019, Kabul Tarihi (Accepted): 07.08.2019*

✉ *Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): esusamci@hotmail.com (E. Susamcı)*

☎ 0 232 462 70 73 📠 0 232 435 70 42

### ÖZ

Kimyasal ve besinsel kalitenin yanı sıra duyusal kalite, sofralık zeytin kalitesinin ana unsurlarındandır. Duyusal kalite tüketiciler tarafından önemsenmekte, bu nedenle sofralık zeytinlerde duyusal analizin önemi gün geçtikçe artmaktadır. Eğitimli panelistlerden oluşan bir duyusal panel tarafından, sofralık zeytinlerde bulunan kusurlar, Uluslararası Zeytin Konseyi (IOC) direktiflerine göre duyusal analiz ile belirlenmekte ve zeytinlerin ticari olarak kalitelerine göre sınıflandırılması yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı İzmir piyasasından temin edilen sofralık zeytinlerin duyusal özelliklerinin IOC'nin "Sofralık zeytinlerin duyusal analizi" yöntemine göre belirlenmesidir. Bu amaçla 17 farklı sofralık siyah ve yeşil zeytin örneği İzmir'deki farklı satış noktalarından alınmış ve duyusal özellikleri belirlenmiştir. Değerlendirilen duyusal özellikler şunlardır: a) negatif özellikler veya kusurlar (butirik, putrit ve zapateria gibi anormal fermantasyon kusurları ve şarabımsı-sirkemsi, sabunumsu, metalik, pişirme etkisi, ransit, küf ve topraklı gibi diğer kusurlar); b) tat alma ile ilgili özellikler (tuzlu, acı, asit) ve c) dokusal hisler (sertlik, liflilik, gevreklik). Duyusal analiz sonucunda belirlenen ağırlıklı olarak algılanan kusur (AAK) medyanına göre, zeytin örneklerinden 12 tanesi ekstra, 4 tanesi 1. sınıf, 1 tanesi de 2. sınıf olarak saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Duyusal analiz, Sofralık zeytin, Anormal fermantasyon kusurları, Kinestetik hisler

### Determination of Sensory Characteristics of Some Table Olives Marketed in Izmir, Turkey

#### ABSTRACT

Sensory, chemical and nutritional qualities are the main elements of table olive quality. The sensory quality is considered by consumers, and the importance of sensory analysis in table olives is increasing day by day. The trade category quality classification must follow the International Olive Council directives, requiring the organoleptic assessment of defects by a trained sensory panel. The aim of this study is to determine the sensory qualities of table olives marketed in Izmir (Turkey) according to the International Olive Council's "Sensory analysis of table olives" method. For this purpose, 17 different black and green table olives were obtained from different sales points around the city of Izmir, and their sensory characteristics were determined. The sensory attributes evaluated were: a) negative attributes or defects (abnormal fermentations and other defects as butyric, putrid and zapateria, winey-vinegary, soapy, metallic, cooking effects, rancid, musty and earthy defects); b) gustatory attributes (salty, bitter, acid) and c) kinaesthetic sensations (hardness, fibrousness, crunchiness). According to *Defect Predominantly Perceived (DPP)* median, 12 of the samples were in the extra class, 4 were in the first class, and 1 sample was in second class.

**Keywords:** Sensory analysis, Table olive, Abnormal fermentation defects, Kinaesthetic sensations



## GİRİŞ

Türkiye, zeytin ağaç varlığı, sofralık zeytin ve zeytinyağı üretiminde dünyanın en önemli üretici ülkeleri arasındadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nun 2014 yılı verilerine göre Dünya'da zeytin üretici ülkeler arasında Türkiye, dikiliş alanı açısından 6. sırada, 1.700.000 ton tane zeytin üretimiyle de İspanya, İtalya ve Yunanistan'dan sonra 4. sırada yer almaktadır. IOC'nin 2012/13-2015/16 yılları ortalama verilerine göre Türkiye, Dünya zeytinyağı üretimine %5.8 oranında katkıda bulunarak 6. sırada, sofralık zeytin üretiminde ise %15.9 oranında payla İspanya ve Mısır'ın ardından 3. sırada yer almaktadır [1]. Türkiye sofralık zeytin üretimi ve ihracatı konusunda önemli bir potansiyele sahiptir [2].

Zeytin, hasadı takiben taze olarak tüketilmesi olanaksız ender ürünlerden biridir, çünkü zeytin meyvesi yeşil ve siyah olgunlukta aşırı acı tatla olup işleme ile bu acılığın mutlaka giderilmesi, yani tüketilebilecek düzeye düşürülmesi gerekmektedir [3]. Zeytin işleme teknolojisi ile, zeytinin bünyesindeki şekerler, laktik asit ve alkol fermantasyonlarıyla farklı son ürüne dönüştürülmekte ve fermantasyon sonucu elde edilen acılığı giderilen zeytinler yeni ve farklı özellikler kazanmaktadır [4]. Günümüzde, fermente İspanyol usulü yeşil zeytin, Yunan usulü doğal fermente siyah zeytin ve Kaliforniya usulü havalandırılmış siyah zeytin olmak üzere üç temel sofralık zeytin işleme yöntemi mevcuttur [5, 6]. Beslenme ve sağlık özelliklerini kaybetmeden doğal ve minimum işlenmiş ürün elde etmek için, sofralık zeytin üretimi sırasında teknolojik prosedürlere bağlı olarak oluşabilecek negatif özellikler en aza indirilmelidir. Çünkü sofralık zeytinlerin duyuşsal kusurları, kalitelerini düşürmekte ve hatta bazı durumlarda tüketim için uygun olmamaktadır [7]. Fermantasyon sürecinin kontrolü, kimyasal, fizikokimyasal ve mikrobiyolojik yaklaşımlar yoluyla ve 2008'den beri organoleptik değerlendirme yoluyla da (COI/OT/MO/Doc.No.1, sofralık zeytinlerin duyuşsal analizi için yöntem) gerçekleştirilebilmektedir. Bu yöntem zeytinde duyuşsal analizle ilgili olarak negatif özelliklerin belirlenmesinin yanında tatla ilgili özelliklerin ve dokusal (kinestetik) hislerin değerlendirilmesi için gerekli kriterleri ve prosedürleri kapsamaktadır. Bu yöntem, negatif özelliklerin, tatla ilgili ve dokusal özelliklerin duyuşsal analizi için gerekli kriterleri ve prosedürleri ortaya koymaktadır. Ayrıca, ağırlıklı olarak algılanan kusurun medyanının (en büyük yoğunlukta algılanan kusur) değerlendirilmesi yoluyla ticari sınıflandırma sistemini de ortaya koymaktadır. Negatif özellikler normalde taze meyvede yer almayan, iyi üretim uygulamalarının uygulandığı proseslerde oluşmayan, kötü koku oluşumundan sorumlu maddelerin oluşmasından kaynaklanmaktadır [8]. Mikroorganizmaların anormal çoğalmasına bağlı kusurlar şunlardır: putrid ve butirik fermantasyonlar, zapateria ve küf ve şabımsı-sirkemsi kusurlarıdır [9]. Zapateria kusuru, tek başına ya da *Clostridium* ile birlikte *Propionibacterium*'un belirli türleri tarafından üretilen propiyonik asit nedeniyle oluşan kötü kokulu fermantasyondur [10]. Bu tip organizmalar yetersiz kontrol edilen fermantasyonlarda özellikle daha düşük tuz konsantrasyonlarında ve ortam sıcaklığı arttığı

zaman çoğalmaktadır [8]. Bu organizmalar fermantasyon süresince üretilen laktik asit ve asetik asit gibi gıda asitlerini tüketerek salamura asitliğinin düşmesine ve pH'nın yükselmesine yol açmaktadır. Bu kusur, üründe eski deri aromasını andıran bir aromayla karakterize edilir. Yüksek pH ayrıca, *Clostridium*'un gelişimine katkıda bulunmakta, bu da pütrit (organik maddenin ayrıştırılması kokusunu andıran) ve butirik (bozulmuş tereyağının kokusunu andıran) olarak adlandırılan fermantasyonlar ile sonuçlanmaktadır [9].

Kimyasal ve besinsel kalitenin yanı sıra duyuşsal kalite sofralık zeytin kalitesinin ana unsurlarındandır. Sofralık zeytinlerin duyuşsal analizi ile, hammaddede ve tüm üretim süreçlerinde, ortaya çıkabilecek tat, koku ve tekstür özelliklerinin duyuşsal olarak tanımlanarak toplam ürün kalitesinin artırılması ve sınıflandırılması amaçlanmaktadır [11]. Sofralık zeytinlerin ticari olarak kalitelerine göre sınıflandırılması, IOC'nin belirlemiş olduğu direktifler doğrultusunda, eğitimli bir duyuşsal panel tarafından sofralık zeytinlerde bulunan kusurların organoleptik olarak değerlendirmesi ile gerçekleştirilmektedir [12].

Kişi başı 4.3 kg ile Türkiye, Mısır ve Cezayir'den sonra en çok sofralık zeytin tüketen ülkelerden birisidir [13]. Tüm gıda ürünlerinde olduğu gibi sofralık zeytinlerin tüketilebilirliğini belirlemede fizikokimyasal unsurların yanında duyuşsal özellikler önemli yer tutmaktadır [14]. Tüketicinin tercihlerinde zeytinlerin tadı ve kokusu her zaman önemini koruduğundan sofralık zeytinde duyuşsal analizlerin yapılması ve sonuçların ortaya konulması tüketici ve üreticilerin ürüne güvenlerinin artması açısından önem arz etmektedir. Sofralık zeytinlerin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini belirlemek için pek çok çalışma gerçekleştirilmesine rağmen piyasadaki zeytinlerin duyuşsal özelliklerini belirlemeye yönelik yurt içinde bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, İzmir'de satışa sunulan bazı sofralık zeytinlerin duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Farklı yöntemlerle işlenmiş (Doğal salamura, İspanyol usulü, kuru tuzlanmış, konfit) 17 farklı yeşil ve siyah sofralık zeytin örneği İzmir'deki farklı satış noktalarından (10 adet örnek süpermarketlerden, 7 adet örnek pazar yerlerinden) ambalajlı ve dökme olarak rastgele alınmıştır.

### Metot

Örneklerin duyuşsal analizi IOC'nin COI/OT/MO No 1/Rev. 2 yöntemi kullanılarak Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nün eğitimli panelistlerden oluşan tadım paneli ile yapılmıştır [12]. Panel iki erkek, sekizi kadın panelisten oluşmaktadır ve panelistlerin yaşları 35 ile 55 arasında değişmektedir. Duyusal panel pütrit kusuru için 2-merkaptöetanol, butirik kusuru için butirik asit, zapateria kusuru için siklohegzankarboksilik asit, tuzluluk için sodyum klorür, acılık için kinin, asitlik için

laktik asit, sertlik için Leerdammer peyniri ve havuç, liflilik için Granny Smith elması ve ananas göbeği, çıtırlık/gevreklik için şeftali kompostosu ve kereviz sapı referans standartları kullanılarak eğitilmiştir. Örnekler yöntemde belirtilen tadım bardağına tabanını kaplayacak kadar zeytin (3-4 adet) ve salamura içeren örneklerde zeytinlerin üzerine bir miktar salamura ilave etmek suretiyle tadıma hazırlanmış, tadım bardaklarının üzeri saat camı ile kapatılmış, üç haneli olarak kodlanmış ve ortam sıcaklığında (20-25°C) panelistlere sunulmuştur. Her tadım oturumunda en fazla 4 örneğin değerlendirilmesi yapılmış, tadım oturumları arasında en az 15 dakika ara verilmiş ve günde en fazla 3 oturum yapılmıştır. Örnek aralarında ağız içinin temizlenmesi için içme suyu kullanılmıştır. Her bir sofralık zeytin örneğini 10 adet panelist, örnekleri önce koklayıp sonra tatmak suretiyle değerlendirmiştir. Zeytinde anormal fermantasyon kusurları (pütrit, zapatera, bütirik) ve diğer kusurlar (şarabımsı-sirkemsi, sabunumsu, metalik, pişirme etkisi, ransit, küf ve topraksı), tat alma ile ilgili algılar (tuzluluk, acılık ve asitlik) ve dokusal özellikler (sertlik, liflilik ve çıtırlık) değerlendirilmiştir. Değerlendirmede metotta yer alan profil kağıdı kullanılmıştır. Profil kağıdına 10 cm'lik skala ile puanlama (1.0: algı yok, 11.0: aşırı) yapılmıştır. Panelistler her bir özellik için algıladıkları yoğunluğu profil kağıdındaki skalalara puan vererek işaretlemiştir.

### İstatistiksel Analiz

Duyusal verilerin değerlendirilmesinde örneklerin her bir duyusal özelliği için medyan, standart sapma (S\*),

varyasyon yüzdesi katsayısı (CVr%), medyanın güven aralıkları (Cl<sub>üst sınır</sub> ve Cl<sub>alt sınır</sub>) belirlenmiştir. Sofralık zeytinlerin sınıfı, anormal fermantasyon kusurları (zapateria, pütrit, bütirik) ve diğer kusurların (küflü, şarabımsı, sabunumsu, metalik, ransit, topraksı, pişme etkisi), ağırlıklı olarak algılanan medyanlarına (AAK) göre, AAK ≤3 (Ekstra), 3 < AAK ≤4.5 (1. Sınıf), 4.5 < AAK ≤7 (2. Sınıf), AAK >7 (Sofralık zeytin olarak satılamayacak zeytinler) şeklinde sınıflandırılmıştır [12].

### BULGULAR VE TARTIŞMA

İzmir'deki farklı satış noktalarından temin edilen 17 adet sofralık zeytin örneğinin duyu özelliklerine ait medyanlar Tablo 1'de gösterilmektedir. Gerçekleştirilen duyu analizler sonucunda bazı sofralık zeytin örneklerinde farklı yoğunlukta anormal fermantasyon kusurları belirlenmiştir. Örneklerin 8 tanesinde 1.5-6.2 yoğunluğunda anormal fermantasyon kusuru tespit edilmiştir. En çok algılanan anormal fermantasyon kusurları sırasıyla zapateria ve pütrit kusurları en az algılanan ise bütirik kusuru olmuştur. 2 adet örnekte de "diğer kusurlar"dan küflü kusuru belirlenmiştir. En yüksek kusur (pütrit kusuru) pazardan temin edilen ve dökme olarak satışa sunulan çizik yeşil zeytinlerde, en düşük kusur (zapateria) ise süpermarketten ambalajlı olarak temin edilen kokteyl zeytinde tespit edilmiştir (Şekil 1). Siyah zeytinlerde en yoğun algılanan kusur "diğer kusurlar"dan küflü kusuru olmuştur.

Tablo 1. Sofralık zeytinlerin duyu özelliklerinin kantitatif tanımlayıcı istatistiği

Örnek	Anormal Fermantasyon	Diğer Kusurlar	Tuzlu	Acı	Asit	Sertlik	Liflilik	Gevreklik
Çizik YZ 1	Medyan	4.0	1.0	4.2	5.0	4.0	6.0	5.5
	S*	0.4	0.0	0.1	0.4	0.3	0.1	0.4
	CVr%	9.7	0.0	3.3	7.7	6.5	1.6	7.0
	Cl <sub>üst sınır</sub>	4.8	1.0	4.5	5.8	4.5	6.2	5.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	3.2	1.0	3.9	4.2	3.5	5.8	4.3
	Sınıflandırma	1. sınıf						
Çizik YZ 2	Medyan	1.0	1.0	4.0	1.8	5.0	5.0	4.5
	S*	0.0	0.0	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3
	CVr%	0.0	0.0	2.4	10.8	5.3	3.8	4.7
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.0	4.2	2.1	5.5	5.4	4.4
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	1.0	3.8	1.4	4.5	4.6	3.6
	Sınıflandırma	Extra						
Kokteyl YZ 3	Medyan	1.5	1.0	4.5	2.0	6.0	4.5	4.5
	S*	0.6	0.0	0.4	0.4	0.2	0.3	0.2
	CVr%	37.8	0.0	8.2	18.5	3.3	6.6	4.4
	Cl <sub>üst sınır</sub>	2.6	1.0	5.2	2.7	6.4	5.1	4.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	0.4	1.0	3.8	1.3	5.6	3.9	4.1
	Sınıflandırma	Extra						
Çizik YZ 4	Medyan	1.0	1.0	4.0	2.0	6.0	3.0	2.5
	S*	0.1	0.1	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4
	CVr%	9.7	14.5	7.2	9.7	5.6	9.7	12.9
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.2	1.3	4.6	2.4	6.7	3.6	3.8
	Cl <sub>alt sınır</sub>	0.8	0.7	3.4	1.6	5.3	2.4	2.2
	Sınıflandırma	Extra						
Çizik YZ 5	Medyan	6.2	1.0	3.5	2.0	4.0	3.8	4.0
	S*	0.6	0.0	0.3	0.3	0.4	0.3	0.5
	CVr%	9.3	0.0	7.6	15.0	10.9	8.9	11.7
	Cl <sub>üst sınır</sub>	7.3	1.0	4.0	2.6	4.9	4.4	4.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	5.1	1.0	3.0	1.4	3.1	3.1	3.1
	Sınıflandırma	2.sınıf						

Örnek		Anormal Fermantasyon	Diğer Kusurlar	Tuzlu	Acı	Asit	Sertlik	Liflilik	Gevreklik
Çizik YZ 6	Medyan	1.0	1.0	4.0	2.0	6.0	3.0	3.0	2.5
	S*	0.1	0.1	0.3	0.2	0.3	0.3	0.4	0.2
	CVr%	9.7	14.5	7.2	9.7	5.6	9.7	12.9	9.7
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.2	1.3	4.6	2.4	6.7	3.6	3.8	3.0
	Cl <sub>alt sınır</sub>	0.8	0.7	3.4	1.6	5.3	2.4	2.2	2.0
	Sınıflandırma	Extra							
Sele zeytini 1	Medyan	1.0	1.0	3.0	6.0	2.5	4.5	4.0	3.5
	S*	0.0	0.2	0.3	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2
	CVr%	0.0	20.3	8.4	5.6	15.4	4.3	6.0	5.5
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.4	3.5	6.7	3.3	4.9	4.5	3.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	0.6	2.5	5.3	1.7	4.1	3.5	3.1
	Sınıflandırma	Extra							
Sele zeytini 2	Medyan	1.0	1.0	4.8	2.5	4.0	4.0	4.0	3.0
	S*	0.0	0.0	0.2	0.4	0.1	0.1	0.2	0.1
	CVr%	0.0	0.0	5.0	15.4	1.7	2.4	4.8	3.2
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.0	5.3	3.3	4.1	4.2	4.4	3.2
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	1.0	4.3	1.7	3.9	3.8	3.6	2.8
	Sınıflandırma	Extra							
Salamura SZ 1	Medyan	3.0	4.0	5.5	4.3	3.0	3.5	3.5	3.0
	S*	0.5	0.8	0.3	0.5	0.4	0.3	0.2	0.3
	CVr%	17.7	19.3	4.9	12.8	12.3	7.8	5.6	9.9
	Cl <sub>üst sınır</sub>	4.0	5.5	6.0	5.3	3.7	4.0	3.9	3.6
	Cl <sub>alt sınır</sub>	2.0	2.5	5.0	3.2	2.3	3.0	3.1	2.4
	Sınıflandırma	1. sınıf							
Salamura SZ 2	Medyan	1.0	1.0	5.0	4.0	2.5	4.5	4.0	3.5
	S*	0.0	0.0	0.3	0.4	0.2	0.2	0.4	0.2
	CVr%	0.0	0.0	5.8	10.9	7.7	4.3	9.7	5.5
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.0	5.6	4.9	2.9	4.9	4.8	3.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	1.0	4.4	3.1	2.1	4.1	3.2	3.1
	Sınıflandırma	Extra							
Salamuara SZ 3	Medyan	3.0	1.0	4.3	2.5	3.5	4.0	3.3	3.0
	S*	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2
	CVr%	12.6	23.6	6.0	14.0	8.1	3.7	5.8	6.3
	Cl <sub>üst sınır</sub>	3.7	1.5	4.8	3.2	4.1	4.3	3.6	3.4
	Cl <sub>alt sınır</sub>	2.3	0.5	3.7	1.8	2.9	3.7	2.9	2.6
	Sınıflandırma	Extra							
Salamura SZ 4	Medyan	2.5	1.0	4.9	2.5	5.0	5.3	4.1	4.5
	S*	0.3	0.0	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2
	CVr%	13.8	0.0	4.8	17.0	6.1	5.4	5.2	4.2
	Cl <sub>üst sınır</sub>	3.2	1.0	5.4	3.3	5.6	5.8	4.5	4.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.8	1.0	4.4	1.7	4.4	4.7	3.7	4.1
	Sınıflandırma	Extra							
Salamura SZ 5	Medyan	1.0	4.0	5.3	3.3	3.0	3.5	3.7	2.5
	S*	0.0	0.7	0.2	0.4	0.3	0.2	0.2	0.3
	CVr%	0.0	18.2	3.8	11.4	9.9	5.6	5.4	10.9
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	5.4	5.6	4.0	3.6	3.9	4.0	3.0
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	2.6	4.9	2.5	2.4	3.1	3.3	2.0
	Sınıflandırma	1. sınıf							
Az tuzlu SZ	Medyan	1.0	1.0	4.0	2.5	3.0	3.5	3.5	3.8
	S*	0.0	0.0	0.3	0.4	0.3	0.2	0.3	0.2
	CVr%	0.0	0.0	7.7	15.4	9.7	6.1	9.1	5.8
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.0	4.6	3.3	3.6	3.9	4.1	4.2
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	1.0	3.4	1.7	2.4	3.1	2.9	3.4
	Sınıflandırma	Extra							
Konfit SZ 1	Medyan	2.5	1.0	4.0	2.0	3.5	4.5	4.8	4.3
	S*	0.4	0.0	0.2	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3
	CVr%	16.1	0.0	5.3	14.2	8.1	6.3	8.5	7.2
	Cl <sub>üst sınır</sub>	3.3	1.0	4.4	2.6	4.1	5.1	5.5	4.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.7	1.0	3.6	1.4	2.9	3.9	4.0	3.6
	Sınıflandırma	Extra							
Konfit SZ 2	Medyan	4.1	1.0	3.5	1.3	2.5	5.3	4.5	4.1
	S*	0.4	0.3	0.1	0.2	0.3	0.4	0.2	0.4
	CVr%	10.1	33.6	3.7	14.1	12.4	7.9	4.6	10.1
	Cl <sub>üst sınır</sub>	4.9	1.7	3.8	1.6	3.1	6.1	4.9	4.9
	Cl <sub>alt sınır</sub>	3.3	0.3	3.2	0.9	1.9	4.4	4.1	3.3
	Sınıflandırma	1. sınıf							

Örnek	Anormal Fermantasyon	Diğer Kusurlar	Tuzlu	Acı	Asit	Sertlik	Liflilik	Gevreklik	
Konfit SZ 3	Medyan	1.0	1.0	3.9	1.5	3.0	5.0	4.0	3.8
	S*	0.0	0.0	0.5	0.3	0.1	0.4	0.3	0.4
	CVr%	0.0	0.0	13.0	21.8	3.0	8.2	8.2	10.9
	Cl <sub>üst sınır</sub>	1.0	1.0	4.9	2.1	3.2	5.8	4.6	4.6
	Cl <sub>alt sınır</sub>	1.0	1.0	2.9	0.9	2.8	4.2	3.4	2.9
	Sınıflandırma	Extra							

S\*: standart sapma; CVr%: varyasyon yüzdesi katsayısı; Cl<sub>üst sınır</sub>, Cl<sub>alt sınır</sub>: medyanın güven aralıkları  
YZ:Yeşil zeytin SZ: Siyah zeytin

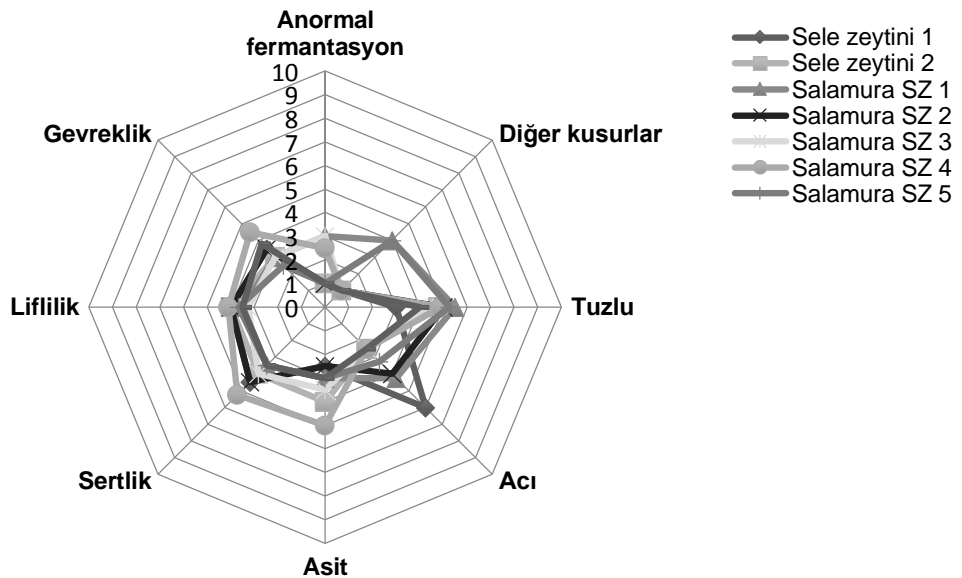
Sofralık zeytin örnekleri tat ile algılanan özellikler yönünden incelendiğinde, örneklerin tuzluluk medyanları 3-5.5 arasında değişmiş en yüksek tuzluluk pazardan temin edilen ve dökme olarak satışa sunulan salamura siyah zeytinde, en düşük tuzluluk ise süpermarketten temin edilen ve ambalajlı olarak satışa sunulan sele zeytinde tespit edilmiştir (Şekil 1). Salamura siyah zeytinlerin tuzlulukları genel olarak yeşil ve konfit zeytinlerden daha yüksek algılanmıştır. Örneklerin acılık medyanları 1.25-5 arasında değişmiş ve en düşük acılık konfit zeytinde, en yüksek acılık ise sele zeytinde tespit edilmiştir (Şekil 2). Siyah zeytinlerin acılıkları genel olarak yeşil zeytinlerden ve konfit zeytinlerden daha yüksek algılanmıştır. Asitlik medyanları 2.5-6 arasında değişmiş en düşük asitlik konfit, sele ve salamura siyah zeytinde en yüksek asitlik ise yeşil çizik zeytinde belirlenmiştir.

Dokusal özelliklerden sertlik, zeytinlerin ticari değeri için anahtar kalite parametrelerinden birisidir. Sofralık zeytinlerin sertliği için herhangi bir standart yoktur, ancak zeytinlerin depolama sırasında olabildiğince orijinal sertliğini koruyabilmesi önemlidir [15]. Örneklerin sertlik medyanları 3-6 arasında, liflilik medyanları 3-5 arasında, gevreklik medyanları 2.5-5.5 arasında değişim göstermiştir. En düşük sertlik, liflilik ve gevreklik pazardan temin edilen ve dökme olarak satışa sunulan yeşil çizik zeytinlerde, en yüksek sertlik, liflilik ve gevreklik ise süpermarketten temin edilen ve ambalajlı

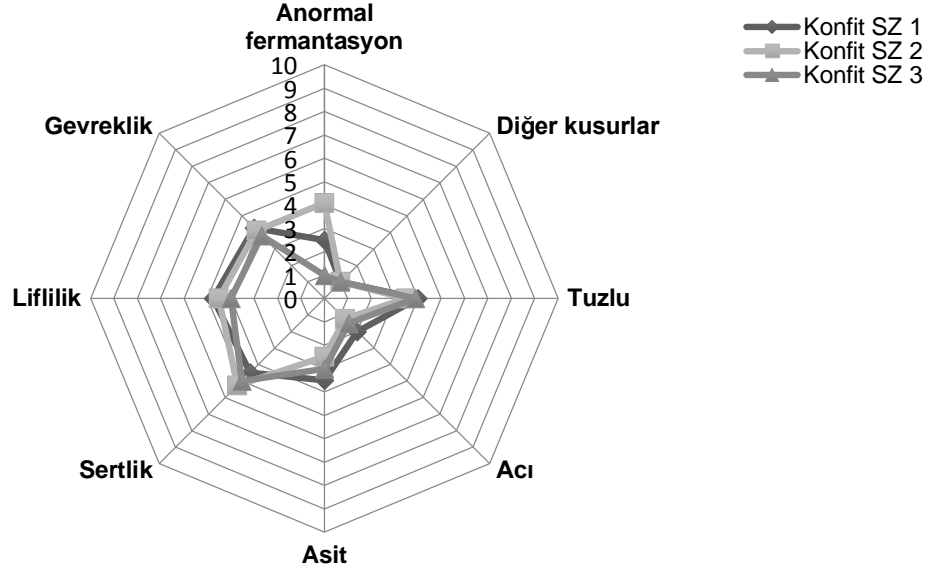
olarak satışa sunulan yeşil çizik zeytinlerde belirlenmiştir (Şekil 3).

Çizik zeytinlerin sertlikleri arasındaki farkın, ambalaj salamurasında CaCl<sub>2</sub> kullanımı, zeytin çeşidi, üretim ve depolama şartlarından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. En sert olarak belirlenen zeytinlerin liflilik ve gevreklik medyanları da en yüksek tespit edilmiştir. Bu sonuca göre sertliğin diğer iki dokusal özellik olan liflilik ve gevreklik algılarını da etkilediği söylenebilir. Sonuçların örümcek ağı diyagramı ile gösterimi Şekil 1, 2 ve 3'te görülmektedir.

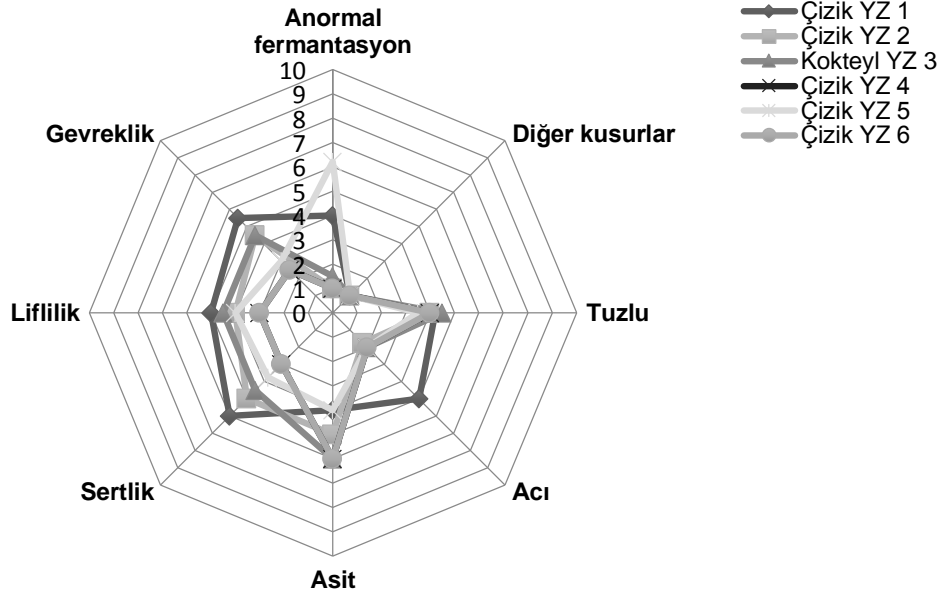
Marsilio (2002), sofralık zeytinlerin besin değerinin önemli olduğunu ve ayırt edici diyet özellikleriyle kendini gösterdiğini (yağ asitleri, aminoasit kompozisyonu, mineraller, vitaminler, polifenoller, lif gibi) fakat tüketici için bir öncelik olmadığını belirtmektedir. Araştırmacı sofralık zeytinlerin duyuşal karakterini oluşturan parametrelerin önemini vurgulamaktadır. Arzu edilmeyen kokuların ürünü yenemez hale getirdiğini, bu kokuların sebebinin istenmeyen ikincil fermantasyonlar olduğunu belirtirken, bu fermantasyonların *Propiyonik clostridia* ve bakteriler tarafından oluşturulduğunu, ayrıca aşırı küf gelişiminden dolayı da küfümü ve acı karakteristik olumsuzlukların ortaya çıktığını ifade etmektedir [16]. Lanza (2015), negatif algıların tatla ilgili algılar ve dokusal özellikler üzerine olumsuz etkisi olduğunu ifade etmektedir [17].



Şekil 1. Siyah sofralık zeytinlerin duyuşal özelliklerinin medyanları



Şekil 2. Konfit siyah sofralık zeytinlerin duyu özelliklerinin medyanları



Şekil 3. Yeşil sofralık zeytinlerin duyu özelliklerinin medyanları

Hem ürün güvenliğini sağlamak hem de duyu kusurlarının oluşmasını önlemek için proses süresince pH ve tuz kontrollerinin yapılması ve iyi hijyen uygulamalarına özen gösterilmesi önem arz etmektedir [8].

Duyusal analiz sonuçlarına göre, panelistler anormal fermantasyon kusurlarını (zapateria, pütrit, bütirik) belirleme konusunda sorun yaşamamışlar ve bu nedenle elde edilen sonuçların varyasyon katsayıları düşük bulunmuştur. Bu durum söz konusu kusurlar için standartların varlığı ile açıklanabilir. Nitekim duyu değerlendirme sürecinde standartların kullanılması panelin performansını arttırmaktadır. İlgili metodun en önemli eksikliği ve zorluğu "diğer kusurlar (küflü, şarabımsı, sabunumsu, metalik, ransit, topraksı, pişme etkisi)" için henüz uygun standartların olmamasıdır. Söz

konusu kusurlar için standart maddelerin olmayışı panelistlerin bu kusurları tanımlamasını ve yoğunluğunu değerlendirmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, bu kusurlar için standartların geliştirilmesinin, yöntemin iyileştirilmesi için gerekli olduğu düşünülmektedir.

## SONUÇ

Duyusal analiz sonuçlarına göre zeytin örneklerinden 12 tanesi ekstra sınıfında, 4 tanesi 1. sınıf, 1 tanesi de 2. sınıf olarak saptanmıştır. Örneklerin hiçbirinde sofralık zeytin olarak satılmayacak düzeyde kusur tespit edilmemiştir. Bu çalışma, ülkemizde alanında bir ilk olması bakımından, sofralık zeytinlerde duyu analizinin önemi ve uluslararası standartların ve duyu kalite ölçütlerinin, iç ve dış piyasaya ürün sunan yerel üreticiler ve bilinçli tüketiciler tarafından benimsenmesi ve

tanınması konularında katkı sağlayacaktır. Sofralık zeytinlerin duyu analizi, üründe kaliteyi geliştirmek, üretim hatalarını belirlemek, ürünü sınıflandırmak ve ürün hakkında tüketici bilincini arttırmak konularında katkı sunabilmektedir. Sofralık zeytin sektörünün yaşanan kalite karmaşası ve kalite sorunlarının çözülebilmesi ve tüketicilerin sağlıklı, güvenli ve kaliteli sofralık zeytin tüketmelerine katkı sağlamak için sofralık zeytinde; fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kriterlerin yanı sıra duyu kriterleri konusunda üreticilerin ve tüketicilerin bilgilendirilmesine ve bilinçlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle sofralık zeytinlerin tüketiciler tarafından tercih edilmesinde «kaliteli ve sağlıklı ürün» argümanlarının yanı sıra, duyu özelliklerinin de öne çıkarılması, tüketici tercihlerini doğrudan etkileyeceği için önem arz etmektedir. Bu doğrultuda, duyu özelliklerinin tespiti için duyu analiz laboratuvarlarının kurulması ve çoğaltılması, ilk yapılması gereken çalışmalardır.

#### KAYNAKLAR

- [1] IOC, (2016). <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/130-survey-and-assessment-division> [Erişim: 10.06.2017].
- [2] Tiryakioğlu Ligvani, M., Artukoğlu, M. (2015). Sofralık zeytin üretimi, pazarlaması, sorunlar ve çözüm önerileri: Akhisar ilçesi örneği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52(2), 131-139.
- [3] Uylaşer, V., Şahin, İ. (2004). Salamura siyah zeytin üretiminde geleneksel Gemlik yönteminin günümüz koşullarına uyarlanması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1), 105-113.
- [4] Hutkins, R.W. (2006). Fermented vegetables. In: *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 233-260.
- [5] Tassou, C.C., Panagou, E.Z., Katsaboxakis, K.Z. (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, 19, 605-615.
- [6] Bianchi, G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 229-242.
- [7] Marx, I.M.G., Rodrigues, N., Dias, L.G., Veloso, A.C.A., Pereira, J.A., Drunkler, D.A., Peres, A.M. (2016). Assessment of table olives' organoleptic defect intensities based on the potentiometric fingerprint recorded by an electronic tongue. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 1310-1323.
- [8] Yıldırım, A., Öztürk Güngör, F. (2017). Sofralık Zeytinde Duyusal Değerlendirme. İçinde: *Sofralık Zeytin ve Zeytinyağı Teknolojisi*. Edit.: Susamcı E., Ötleş S., Dıraman H. 1.Basım, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bassaray Matbaası, İzmir, 451s.
- [9] Lanza, B. (2013). Abnormal fermentations in table-olive processing: Microbial origin and sensory evaluation. *Frontiers in Microbiology*, 4, 91.
- [10] Jay, J.M. (2000). Fruit and vegetable products: Whole, Fresh-Cut, and Fermented. In: *Modern Food Microbiology*. Sixth Edition, Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- [11] Anonim, (2018). Sofralık Zeytinde Duyusal Özelliklerin Tespiti [http://uzzk.org/Belgeler/Sofralik\\_zeytinde\\_duyusal\\_analiz\\_dudu\\_tolun\\_olivetech2012.PDF](http://uzzk.org/Belgeler/Sofralik_zeytinde_duyusal_analiz_dudu_tolun_olivetech2012.PDF).
- [12] IOC, (2011). Method Sensory Analysis of Table Olives. COI/OT/MO/DOC.1/REV. 2-2011. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/224-testing-methods>.
- [13] Anonim, (2016). Türkiye Zeytincilik Sektör Raporu. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir, 301s.
- [14] Susamcı, E., Ötleş, S., Irmak, Ş. (2011). Sofralık zeytinin besin öğeleri, duyu karakterizasyonu ve işleme yöntemleri arasındaki etkileşimler. *Zeytin Bilimi*, 2(2), 65-74.
- [15] Romeo, F.V., De Luca, S., Piscopo, A., Perri, E., Poiana, M. (2009). Effects of postfermentation processing on the stabilisation of naturally fermented green table olives (Cv Nocellara Etnea). *Food Chemistry*, 116, 873-878.
- [16] Marsilio, V. (2002). Sensory analysis of table olives. *Science of Technology*, 32-41.
- [17] Lanza, B., Amoroso, F. (2015). Sensory analysis of natural table olives: Relationship between appearance of defect and gustatory-kinaesthetic sensation changes. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 365-372.

## Kuru İncirin İşlenmesi, Kalite Problemleri ve Gıda Endüstrisinin Geliştirdiği Yenilikçi Yöntemler

Esra Gençdağ , Ahmet Görgüç , Fatih Mehmet Yılmaz  ✉

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09010 Efeler, Aydın

Geliş Tarihi (Received): 21.11.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 19.04.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [fatih.yilmaz@adu.edu.tr](mailto:fatih.yilmaz@adu.edu.tr) (F.M. Yılmaz)

☎ 0 256 213 75 03 📠 0 256 213 66 86

### ÖZ

Türkiye, sahip olduğu özel ekolojik koşullar sayesinde farklı türlerde incir zenginliğine sahip ve aynı zamanda kurutmalık ve sofralık incir yetiştiriciliğinde ve ticaretinde dünyada lider konumdadır. Özellikle kurutmaya en uygun olan *Sarılop* çeşidi incir, ülkemizde toplam incir üretiminin %90'ından fazlasına karşılık gelen önemli bir ihracat ürünüdür. Kuru incir üretiminde gözlenen kalite problemleri yetiştiricilik, hasat, kurutma, işleme ve depolama süreçlerinin hepsinden ileri gelebilmektedir. Bu yüzden, kuru incir üretiminde bahçeden itibaren işlenip ambalajlanana kadar birçok zirai ve teknolojik önlem alınmaktadır. Kuru incirde önemli bir gıda güvenliği problemi olan aflatoksin bulunma riski bu konuda çok sayıda çalışma yapılmasını sağlamıştır. Gıda endüstrisi, kaliteli kuru incir üretiminin sağlanması amacıyla alternatif yöntemler geliştirmekte ve bu yöntemlerin işletmelerde kullanılabilirliği test edilmektedir. Kuru incir işlemede metil bromitin yerine kullanılabilir fumigasyon tekniklerin aranması, yeni analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ve kuru incir işleme hattında bilgisayar - algoritma tabanlı görüntüleme tekniklerinin kullanımı söz konusu yeni teknolojilerden bazılarıdır. Bu derleme kapsamında, güncel çalışmalar takip edilerek kuru incir üretimi, kalite problemleri ve kuru incir işlemede geliştirilen yenilikçi yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kuru incir, Aflatoksin, Gıda güvenliği, Yenilikçi yöntemler, Kuru meyve

### Dried Fig Processing, Quality Problems and Innovative Methods Developed by Food Industry

#### ABSTRACT

Turkey is the leader in the world on the cultivation and trade of both dried and table figs, and a rich source of the different kinds of figs because of its special ecological conditions. Especially the *Sarılop* fig variety, which is the most suitable for drying, accounts more than 90% of the total fig production, and it is an important export product for the country. The quality problems in the production of dried figs may arise at various steps including plant growing, harvesting, drying, processing and storage conditions. Therefore, many agricultural and technological precautions are taken into account for the production of dried figs until they are processed and packaged, starting from horticultural activities. High aflatoxin risk, which is one of the most important food safety problems in dried figs, has accelerated scientific studies on this subject. The food industry develops alternative methods to ensure the production of high quality dried figs, and the feasibilities of these methods are tested regularly. The search for new fumigation techniques that can be used as an alternative to methyl bromide, development of new methods of analysis and the use of computer – algorithm based imaging techniques are some of the new technologies in the dried fig processing. Within the scope of this review, current information about dried fig production, quality problems and innovative methods developed in dried fig processing are presented in the light of the latest studies.

**Keywords:** Dried fig, Aflatoxin, Food safety, Innovative methods, Dried fruit

## GİRİŞ

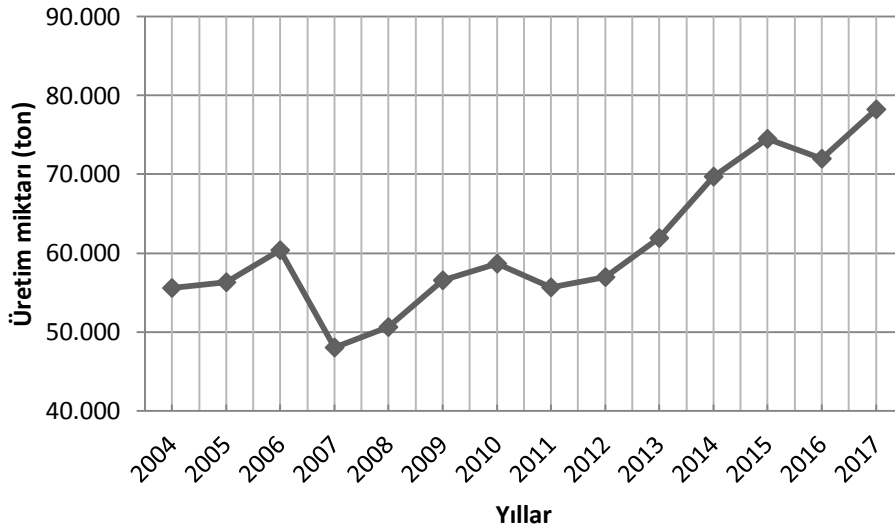
İncir (*Ficus carica* L.), *Urticales* takımının *Moraceae* (dut) familyasına ait bir bitki olup ismini Ege Bölgesi'ndeki antik bir yerleşim yeri olan Caria'dan almaktadır [1, 2]. İncir, Anadolu'da insanlık tarihi kadar geçmişi olan ilk kültür meyvelerinden biridir [1-3]. İncir, anavatanı olan Türkiye'den Suriye ve Filistin'e, sonrasında ise Ortadoğu üzerinden Çin ve Hindistan'a yayılmıştır [3]. İncir, Akdeniz kıyılarının bulunduğu bölgelerde tipik olarak yetişen bir meyvedir [4, 5]. İncirin yetişmesi açısından en uygun iklim ve ekolojik koşulların Ege Bölgesi'ndeki Büyük ve Küçük Menderes havzalarının olduğu; incir çeşitliliğinin de yine bu bölgelerde en fazla bulunduğu belirtilmektedir [1, 4, 6]. Aydın ve İzmir, bu havzalarda incir üretiminin yapıldığı iller olarak ön plana çıkmaktadır [4, 7]. Ege Bölgesi'nde üretilen incirlerin büyük bir kısmı kurutulularak değerlendirilirken, bu bölgenin dışında üretilen incirler genellikle taze olarak tüketilmektedir [4]. Türkiye'de sofralık ve kurutmalık olarak birçok incir çeşidi yetiştirilmektedir. En fazla üretimi yapılan çeşit, toplam incir üretiminin %90'ından fazlasını oluşturan *Sarılop* çeşididir. *Sarılop*'un yanında *Bursa siyahı*, *Göklop*, *Yeşilgüz*, *Morgüz* ve *Bardacık* da yetiştirilen diğer

çeşitler arasındadır [3, 4, 8]. *Sarılop* çeşidi incirler; tadı, büyüklüğü, etli kısmın fazla olması, açık rengi ve en önemlisi de karakteristik morfolojisiyle kurutmaya en uygun çeşit olarak kabul edilmektedir [2, 4, 9].

Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü (FAO)'nın sunduğu son beş yıllık ortalama verilerine göre Türkiye, yaklaşık 300 bin ton üretim ile dünya yaş incir üretiminin yaklaşık %30'unu karşılayarak ilk sırada yer almaktadır. Türkiye'yi ise sırasıyla Mısır, Fas, Cezayir, İran, Suriye, ABD ve İspanya takip etmektedir [3]. Dünyada kuru incir üretim miktarlarına bakıldığında (Tablo 1) ise 2010 yılından itibaren gerçekleştirilen kuru incir üretiminin yarısına yakınının ülkemiz tarafından gerçekleştirilmekte olduğu görülmektedir. Son yedi yılın verileri incelendiğinde; 2016 yılında 127.500 ton olan dünya kuru incir üretiminin %57'sinin Türkiye'de gerçekleştiği, %23.5'lik payla İran'ın ikinci, %7 ile ABD'nin ise üçüncü sırada yer aldığı anlaşılmaktadır. İzmir Ticaret Borsası rekolte raporlarına göre, Türkiye'de yıllık kuru incir üretim miktarının genel olarak 55.000 tonun üzerinde gerçekleştiği görülmektedir. Meydana gelen olumsuz iklim koşulları dönem dönem üretim miktarında azalmalara sebep olsa da genel olarak Türkiye'de kuru incir üretimi belirgin bir düşüş yaşamamıştır (Şekil 1) [3].

Tablo 1. Dünyada kuru incir üretiminin yıllara göre değişimi [3]

Ülkeler	Üretim miktarı (ton)						
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Türkiye	58.662	55.653	56.935	61.909	69.731	74.505	72.000
İran	22.500	23.000	22.000	21.759	30.000	30.000	30.000
ABD	10.000	11.000	9.250	10.487	9.000	9.000	9.000
Yunanistan	7.500	8.000	7.600	5.600	7.000	8.000	7.500
İspanya	5.000	5.000	6.000	5.000	5.000	6.000	5.500
İtalya	3.500	4.500	3.900	2.200	3.000	4.000	3.500
TOPLAM	107.162	107.153	105.685	106.955	123.731	131.505	127.500



Şekil 1. Türkiye'de kuru incir üretiminin yıllara göre değişimi (2004 – 2017) [3]

Türkiye'de kurutmalık incirlerin neredeyse tamamı Ege Bölgesi'nden sağlandığı için, bu bölgedeki toplam kuru incir üretim miktarı aynı zamanda Türkiye kuru incir üretim miktarlarına karşılık gelmektedir. Ege Bölgesi'nde kuru incir üretimi açısından ilk sırada toplam üretimin

%23'ünü karşılayan Aydın'ın Germencik ilçesi gelmektedir. Germencik'i takiben %22'lik üretim miktarıyla Nazilli (Aydın) ikinci, %12 ile Tire (İzmir) üçüncü, %10 ile İncirliova (Aydın) ise dördüncü sırayı almaktadır. Geriye kalan üretimi de yine Aydın ve



İzmir'in diğer ilçeleri gerçekleştirmektedir [3]. Aydın ve İzmir illerinde faaliyet gösteren yaklaşık 150 adet incir işletmesi tüm dünyaya kuru incir işlemekte ve pazarlamaktadır. Bir sezonda 63.500 ton kuru incir, 250 milyon dolar ihracat rakamlarıyla bu firmalardan diğer ülkelere ulaştırılmaktadır [10]. Kuru incir üretimi, hasadı, işlenmesi ve pazarlanması aşamalarının Aydın ve İzmir'de yaklaşık 20.000 ailenin geçim kaynağı olduğu da ayrıca bildirilmektedir. Gerek tarımında yaşanan zorluklar gerekse pazarlanmasında mikotoksin sorunu yüzünden oluşan ciddi ekonomik kayıplar, kuru incir üretiminde sıklıkla dile getirilmekte ve üzerinde durulması gerektiği vurgulanmaktadır. Ülkemiz açısından büyük ticari ve ekonomik öneme sahip olan kuru incirin uygun koşullarda yetiştirilmesinin yanı sıra, kalitesinin bozulmadan hasat edilerek kurutulması ve depolanması da büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan kuru incirin işlenmesi sırasında oluşabilecek kalite problemlerinin belirlenmesi ve bu problemlerin hızlı bir şekilde ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu derleme kapsamında, kuru incirin işlenmesi, incirde kaliteyi etkileyen faktörler ve son zamanlarda gıda endüstrisinde uygulanmış veya deneme aşamasında olan yeni yöntemler ele alınmıştır.

## KURU İNCİR ve ÜRETİM AŞAMALARI

Kuru incir, *Ficus carica* L. türüne ait meyvelerin hasatından sonra doğal veya yapay kurutma işlemleri sonrasında tüketime sunulan incir olarak tanımlanmaktadır [1]. Kuru incir, zengin şeker (~%48 fruktoz ve glukoz) içeriğinin yanında esansiyel aminoasitler, karoten, tiamin, riboflavin ve çeşitli mineralleri içermesi; yağ içeriğinin ise düşük olmasından dolayı dünyada yaygın olarak üretilen kurutulmuş meyveler arasında yer almaktadır [11, 12]. Türk Standartları Enstitüsüne ait kuru incir standardına [13] göre kuru incirler bütün ve sağlam olmalı, yabancı tat ve koku içermemeli, yabancı maddelerden arındırılmış olmalı, aşırı kuru olmamalı ve bununla beraber anormal düzeyde nem içermemeli; kuru incirlerde herhangi bir küf belirtisi bulunmamalı, güneş yanığı, yırtık ve yarık benzeri deformasyonlar olmamalı, olgunlaşmadan hasat edilmesine kadar olan süreçte canlı veya ölü böcek ile diğer parazitler bulunmamalıdır [8].

Kuru incirin bahçeden tüketime kadar geçirmiş olduğu işlem basamakları sırasıyla ilekleme, olgunlaşma, hasat, kurutma, sınıflandırma, fumigasyon, aflatoksinli incir ayıklama, yıkama, şekil verme, ambalajlama ve depolama olarak özetlenebilmektedir [14]. Gerek bahçedeki kültürel önlemler gerekse işletmelerdeki tedbirler kombine olarak sürdürülmez ise kuru incirde renk kararması, ekşime, çatlama, böcek zararı, mikotoksin oluşumu ve mikrobiyal kirlilik gibi birçok problem ile karşılaşılabilir. Son üründe yani kuru incirde rastlanan aflatoksin sorununun en önemli sebebi olarak ilekleme aşamasının doğru yapıp yapılmadığı gösterilmektedir. Benzer şekilde doğru hasat uygulaması ve işleme öncesi depolama süreçleri de aflatoksin bulaşmasında kritik noktalar. Yukarıda bahsi geçen işlem basamaklarında yeterli özen gösterilirse uluslararası arenada ün kazanmış ülkemiz kuru incirinin imajı uzun yıllar üstünlüğünü koruyabilecektir. Esasında,

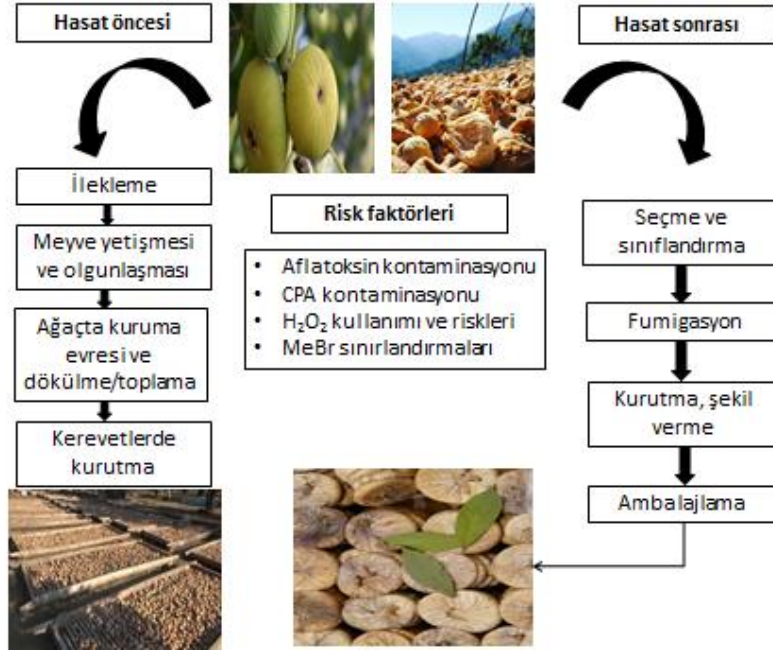
hasat öncesi meyve yetiştirme periyodu ve kuru meyve işleme aşamaları birbirleriyle ilişkili olduğu için ve hasat öncesi işlemler doğrudan son ürün kalitesini etkilediği için bahçeden depolama aşamasına kadar bir bütün olarak faktörlerin ele alınması gerekmektedir [15]. Hasat öncesi yapılan işlemler en az hasat sonrası işlemler kadar son ürün kalitesini etkilediği için kuru incir üretimini hasat öncesi ve hasat sonrası olmak üzere iki farklı başlık altında ayrıntılı olarak incelemek en doğru yaklaşımdır. Kuru incirin yetiştirme ve üretim aşamaları ile beraber bu aşamalarda oluşabilecek risk faktörleri (Aflatoksin kontaminasyonu, siklopiazonik asit (CPA) kontaminasyonu, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanımı, metil bromit (MeBr) sınırlandırmaları) şematik olarak Şekil 2'de gösterilmiştir.

## KURU İNCİRDE HASAT ÖNCESİ İŞLEMLER

İncir üretiminde hasat öncesi işlemler; toprak işleme, sulama, gübreleme, budama, ilekleme, hastalık ve zararlılarla mücadele gibi kültürel işlemlerden oluşmaktadır. Bahsi geçen kültürel işlemlerin tamamı son ürün kalitesi üzerinde etkili olmakla beraber "ilekleme" bazı mikroorganizmaların meyve içine taşınmasında etkili olabileceği için gıda güvenliği açısından daha fazla öneme sahiptir. İlekleme, erkek incir ağaçlarında bulunan ilek meyvelerindeki polenlerin, ilek sineği (arıcık) (*Plastophaga psenes*) tarafından dişi incire taşınmasıdır [16]. Türkiye'de incir yetiştiriciliğinde ilekleme (tozlama) genellikle haziran ayının ilk yarısında gerçekleştirilmektedir. Sabahın erken saatlerinde erkek incir ağaçlarından toplanan ilek meyveleri, ilek filelerinin içerisine 3-4 adet koyulmakta ve her ağaca bu filelerden üçer tane asılmaktadır. Bu işlem en az iki defa tekrarlanır. Eğer hava çok serin ve yağışlı ise üçüncü kez file asma işlemi yapılabilir. İleklerden çıkan ilek arıları dişi incir ağaçlardaki meyvelerin içine girerek döllenmeyi sağlar. Erkek incir meyveleri, döllenmeyi sağlayan polenleri barındırması ve bu polenlerin taşınmasında aracı olan ilek arısının yaşamını sürdürebildiği tek konakçı olması nedeniyle büyük öneme sahiptir [16]. Döllenmeden önce yeşil renkli olan incirlerin renklerinin açılarak sararmaya başlaması, dişi incirlerin uç kısımlarının zamklı bir madde ile kaplanması, meyvelerin büyümeye devam etmesi gibi bulgular dişi incirin döllenmediğini göstermektedir. Döllenme sonrasında meyveler olgunlaşmaya başlamakta; döllenmemiş olan meyveler ise koyu yeşil bir renk almaktadır. Bu durumda döllenmemiş meyveler için ilekleme işleminin tekrarlanması gerekmektedir. İleklemenin tekrarlanmadığı, yani döllenmenin sağlanmadığı meyvelerin buruşuk bir form alarak ağaçtan döküldükleri gözlenmektedir. İlekleme döneminde ilaçlama, tuzak asma ve sürüm işlemleri yapılmamalıdır. İleklemede hastalıklı ve zararlanmış, çürümüş meyveler filelere konulmamalı hatta kasara konulmadan bahçeden uzaklaştırılmalıdır. İlek meyveleri sağlıklı olması yaz meyvelerinde oluşan *Fusarium* ve *Aspergillus* mantarlarının bulaşmaması ve de dolaylı olarak fumonisin, aflatoksin gibi mikotoksinlerin oluşmaması için önemlidir Tüm bu nedenlerden dolayı yüksek kalitede incir elde edilmesinde ilekleme işlemi önemli bir yere sahiptir [16, 18].

İlekleme sonrasında incir, olgunlaşmaya başlamaktadır. Olgunlaşan meyveler, taze tüketim için hasat edilmez ve ağaçta bırakılırlar ise ileri olgun dönemde belli miktar su kaybederek orta nemli (su oranı %40 - 50) aşamaya gelmektedir. Orta nemli incirler kendiliğinden ağaçtan düşmekte ve yere düşen orta nemli meyveler 2 - 3 gün arayla hasat edilmektedir. Ülkemiz şartlarında olgunlaşma ve hasat periyodu 7 - 8 hafta sürmektedir [16]. Dökülmeyen incirler ise bir sırtık yardımıyla düşürülmektedir [8, 19]. Buruklaşarak yere düşen meyveler ağaç altlarında bekletildiğinde çürüme ve

bozulma riski artmaktadır. Ağaç altları gölge ve kısmen nemli olduğundan mümkün olduğunca meyveleri sergi yerlerine hızlıca almakta fayda vardır. Bu aşamada hasar görmüş ve çürük meyveler ayrı kaplara toplanmalı ve ayrı sergi yerinde kurutulmalıdır. Bu meyveler "kerevet" olarak adlandırılan plastik veya tahta kurutma kasaları üzerinde 2 - 3 gün, nem oranı %22 - 24 oranına düşünceye kadar kurutulur. İşlemlerin daha hızlı ve sağlıklı olması açısından kurutmanın Şekil 3'te gösterildiği gibi tünellerde yapılması önerilmektedir.



Şekil 2. Kuru incir üretim aşamaları



Şekil 3. Kapalı tünellerde kerevetlerde kurutma aşaması

Yaklaşık 4 - 5 gün olan sergi süresinin sonrasında hurda olarak nitelendirilen endüstriyel incirler ayrılmakta ve sağlam kuru incirler üretici depolarına alınmaktadır [8, 17, 19]. Hasat sırasında ayrılan hurda (endüstriyel) incirler etil alkol ve incir pekmezi üretiminde değerlendirilmektedir. Etil alkol yapımı sırasında ortaya çıkan incir çekirdekleri de boya, kozmetik ve ilaç sanayinde, küspesi ise besi yemi yapımında kullanılmaktadır [1, 14].

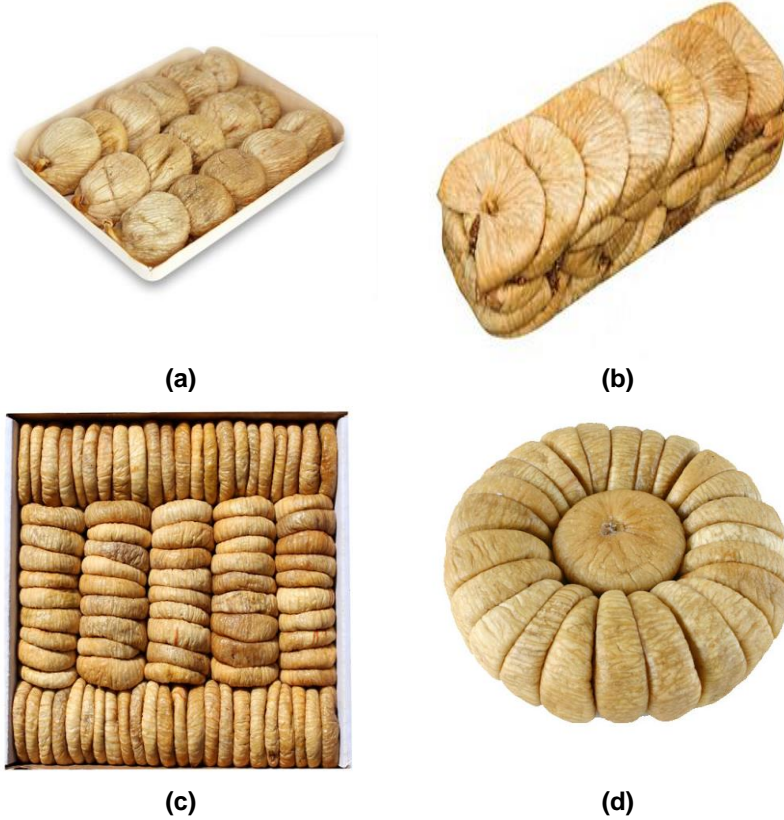
## KURU İNCİRDE HASAT SONRASI İŞLEMLER

Hasat sonrası işletmeye ulaşan kuru incirlerin kabulünde, ilk aşamada birtakım fiziksel analizler gerçekleştirilmektedir. Fiziksel analizleri takiben kuru incirde sanitasyonu sağlamak amacıyla fumigasyon basamağına geçilmektedir. Fumigasyon sonrası ön ayırma işlemi ile de çatlak ve siyah küf gibi yapıların bulunduğu kuru incirler ayrılmaktadır. Sonrasında incirler, boyutlarına göre sınıflandırılmaları için farklı eleklerden geçirilerek boylama işlemi gerçekleştirilmekte, ardından aflatoksinli incirlerin ayıklanması, %5 - 7 NaCl çözeltisi ile yıkama ve yüzey suyunun kurutulması işlemine tabi tutulmaktadır. Aflatoksinli incirlerin ayıklanarak partinin aflatoksinsiz hale getirilmesi işlemi karanlık odada ultraviyole (365 nm) ışık ile görsel olarak yapılmaktadır. Son ayıklama ve şekil verme işlemleri sonrasında ise kuru incirler ambalajlanmaktadır [20].

Fumigasyon işleminde incirler, ambar zararlılarının sanitasyonu amacıyla fumigant gazlara maruz bırakılmaktadır. Kuru incir fumigasyonunda amaç, en düşük gaz dozunda ve en kısa fumigasyon süresinde mutlak sanitasyon sağlamaktır. UV ışık altında kuru incirin parlak yeşilimsi sarı bir floresan vermesi

aflatoksin varlığının güçlü bir göstergesidir [21]. UV lamba altında renk vermeyen incirlerden fiziksel hasarlı olanlar ayrılarak, kusur bulunmayan ürünler yıkama bölümüne gönderilmektedir. Yıkama aşamasında incir üzerinde bulunabilecek toz, toprak ve çamur artıkları üründen uzaklaştırılmakta, aynı zamanda mikroorganizma yükü de düşürülmektedir. Ardından

yıkamadan çıkan ürün kurutma tüneline gönderilmektedir. Kurutma aşamasındaki hedef, ürünün nem içeriğini TSE 541'e [13] göre %26'nın altına düşürmektir. Kurutma işleminden sonra ürüne müşteri isteği doğrultusunda şekil verilmekte (Şekil 4), ardından ambalajlanan ürün ihracata ya da pazarlamaya dek oda sıcaklığında ya da soğukta depolanmaktadır [7, 19].



Şekil 4. Kuru incirde ambalajlama şekilleri (a: Protoben, b: Layer, c: Lerida, d: Garland)

## KURU İNCİRDE RİSK FAKTÖRLERİ

Kuru incirlerde en sık karşılaşılan kalite problemi, bir mikotoksin olan aflatoksinin üründe bulunması olarak ön plana çıkmaktadır. Mikotoksinler pek çok işlenmiş veya işlenmemiş gıdada bulunabilen, funguslar tarafından üretilen ve insan sağlığını tehdit eden toksik metabolitlerdir [7, 22]. Günümüzde 100'den fazla toksijenik küf tarafından üretildiği bilinen 400'den fazla çeşit mikotoksin olduğu bilinmektedir. Bunlardan en tehlikelileri yüksek toksik etkileri nedeniyle aflatoksinlerdir. Kurutulmuş meyvelerin sahip oldukları yüksek şeker içeriği, hasat yöntemleri ve uygun olmayan şartlarda kurutulmaları veya depolanmaları aşamalarında küf gelişimine ve dolayısıyla aflatoksin ve okratoksin A kontaminasyonuna maruz kalma potansiyelleri oldukça yüksektir. Aflatoksin üretimi 13 – 40°C (optimum 30°C) sıcaklık ve 0.95 su aktivitesi değeri gibi özel ortam koşullarında gerçekleşmektedir. Kuru incir, bu koşulları sağlama potansiyeli olan bir gıdadır. Kuru incirde aflatoksin ve okratoksin A bulaşması sonucu tüketicilerde ciddi sağlık sorunları görülmekte, ürünlerde yasal limitlerin üzerinde değerlerin tespit edilmesi halinde üreticiler için de büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle,

kontamine örneklerin temizlenmesi açısından farklı dekontaminasyon yöntemlerinin geliştirilmesi ve toksin bulaşmasının muhtemel olduğu üretim aşamalarında özel önlemlerin alınması gerekmektedir [22].

Kuru incir üretim esnasında karşılaşılan kalite problemleri incelendiğinde; ilek meyvesinden çıkan ve polenleri dişi incir meyvesine taşıyan ilek arılarının *Aspergillus spp.* ve diğer fungusları da beraberinde taşıması olasılığı bulaşmanın ilk ve en önemli aşaması olarak bilinmektedir. İlekleme ile bulaşan mantarlar, küf gelişimi, aflatoksin oluşumu ve incirlerde akma gibi çeşitli sorunlara neden olmaktadır. Bu yüzden ilekleme işleminde dikkat edilmesi gereken noktalar bulunmaktadır. İlk olarak temiz ilek kullanımı aflatoksin riskinin azaltılmasında oldukça önemlidir. İlekler ağaçlara asılmadan önce tek tek kontrol edilmeli, çürümüş veya rengi değişmiş olanların ayrılması gerekmektedir. Uygun olmayan ilek meyveleri ise bahçe dışında imha edilmelidir. Ağaç üzerinde unutulmuş incirde aflatoksin riskinin oluşmasına neden olabileceğinden döllenme işlemini tamamlayan ilekler ağaç üzerinde bırakılmamalıdır. İlekleme işleminin fazla veya az miktarda yapılması da kalite ve verimde düşürlere

neden olmaktadır. Ayrıca, ilekleme fazlasıyla yapılmaması aflatoksinin oluşum riskini artırmasının yanında fazla sayıda küçük ve kalitesiz meyve oluşumuna da neden olabilmektedir [15, 16]. Kuru incir hasadının her gün düzenli olarak yapılması; hayvan ve haşere zararlılarının en alt seviyeye indirilmesi ve kuru incir meyvesinde küf kontaminasyonunun engellenmesi açısından oldukça önemlidir [2]. İncir üretiminin kurutma aşamasında da kalite problemlerinin meydana gelme riski bulunmaktadır. Kurutmanın yapılacağı zeminin demir tel yerine plastik örgü izgaradan yapılması, dayanıklılık ve küflenme riskini azaltması açısından daha sağlıklı bir kurutmanın gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır. Bu nedenle, kerevetlerde tel yerine plastik örgü tercih edilmektedir [8, 17].

Kuru incirdeki mevcut mikotoksin içeriği olarak en fazla aflatoksinin üzerinde durulmuş olmasına rağmen son zamanlarda siklopiazonik asit üretici küflerinin de kuru incirde risk faktörü oluşturabileceği gözlenmiş ve bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada Heperkan ve ark. [23], kurutulmuş incir örneklerinde siklopiazonik asiti ve aflatoksini sırasıyla ince tabaka kromatografisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile belirlemişlerdir. Siklopiazonik asit ile kontamine olmuş kuru incir örneklerinin sayısının, aflatoksinin içeren örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Siklopiazonik asit ve aflatoksinin kuru incirde bir arada bulunduğu ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir. Siklopiazonik asit, çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* üyeleri tarafından üretilebilmektedir. Siklopiazonik asite dair henüz herhangi bir yasal standart belirlenmemiştir. Bunun nedeni toksinin gıdalarda çok düşük miktarlarda ve bazı ürünlerde aflatoksinle birlikte bulunmasından dolayı aflatoksinin için belirlenen yasal standartlarla dolaylı olarak önlenemeyeceği olmasıdır [2, 23]. İncirlerde aflatoksinin varlığı, genellikle incirlerin UV ışık altında görülmemesi ile tespit edilmeye çalışılmaktadır. Bu aşamada, parlak floresans oluşumu potansiyel aflatoksinin varlığına işaret etmektedir. Parlak renkli floresansa incirde *Aspergillus flavus* grubu küflerin oluşturduğu bir diğer metabolit olan olan kojik asit neden olmaktadır. Endüstriyel uygulamada incir partilerinde kojik asitten dolayı floresans veren incirlerin aflatoksinli diye nitelendirilerek UV ışık altında ayıklanması etkili bir metod olup 1980'li yılların sonlarından beri kullanılmaktadır. Bu yöntem ürün yüzeyinde oluşan aflatoksini belirlemede ve bu meyveleri ayıklamada etkili olurken, meyve içi aflatoksinin oluşumunu belirlemede etkisiz kalabilmektedir [7, 19].

Geçmişte kuru incir üretim aşamalarında hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) kurutma sırasında hem mikrobiyal riski azaltıcı hem de ağartıcı olarak kullanıldığı görülmektedir. Ancak günümüzde kullanımı yasaklanan hidrojen peroksitin incir işleyen firmalar tarafından kullanılması haksız rekabete yol açmaktadır. İnsan sağlığı açısından risk oluşturması ve tespit edilmesi durumunda kuru incir ihracatında sorun oluşturması nedeniyle hidrojen peroksit kullanımına engel olmak amacıyla resmi kurumlarca yapılan denetimlerin ve kontrol amaçlı analizlerin daha sık yapılması gerekmektedir [1, 3]. İşlenip ambalajlanan ve ihracat

öncesi denetimlerde aflatoksinin analizi haricinde rutin olarak gerçekleştirilen bir diğer analiz de hidrojen peroksit analizidir. Kuru incir işleyen firmaların hidrojen peroksit kullanıp kullanmadığının tespiti amacıyla 2014 yılına kadar HPLC yöntemi kullanılmaktaydı; ancak bu yöntemin güvenilirliği ile ilgili büyük soru işaretleri gündeme geldiğinden Ege Üniversitesi'nden bilim insanları kuru incirde hidrojen peroksit tespitinde enzimatik yöntem geliştirmişler ve günümüzde akredite analiz laboratuvarlarında bu analiz metodu uygulanmaktadır.

Kuru incir üretiminde ortaya çıkan bir diğer problem ise ruhsatlı ve kısa sürede etkili olan bir fumigasyon yönteminin kısıtlı olmasıdır. Kuru incir üretiminde, fumigasyon aşamasında fumigant olarak ülkemizde Montreal Protokolü uyarınca 2007 yılında yasaklanıncaya dek Metil Bromit (MeBr) kullanılmaktaydı [24]. Metil bromit, atmosferik koşullarda 24 saatlik uygulama süresiyle kuru incir fumigasyonunda vazgeçilmez bir fumigant olmuştur; ancak ozon tabakasına olumsuz etkilerinin tespit edilerek yasaklanmasının ardından metil bromite alternatif yöntemler üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaya başlanmış ve bu yöntemlerin kabul edilebilirliği üzerinde durulmuştur.

Kuru incirde *Fusarium* cinsine ait bazı türlerin yol açtığı iç çürüklüğü hastalığının neden olduğu ekşimeler incir meyvesinin pazar değerini düşüren ayrı bir risk faktörüdür [25]. Hastalık sonunda, incir meyvesinde açık kehribar renkte bir sıvı oluşmakta, meyve akmakta ve ekşimektedir. Böylece incir veriminde yaklaşık %50 oranında kayıp oluşabilmektedir [26].

Tüm bunların haricinde, özellikle son yıllarda Aydın ilinde faaliyet gösteren jeotermal enerji santrallerinin kuru incir üretimini ve kalitesini etkilediği gündeme getirilmektedir. Jeotermal enerji santrallerinden doğaya salınan buharın tarım ürünlerinin kalitesini etkilediği, aynı zamanda ağır metallerin tarım ürünlerinde birikebileceği iddiaları son zamanlarda sıklıkla dile getirilmektedir. Bu konuda farklı görüşler olmasına rağmen, bilimsel çalışmalar gerçekleştirilerek konunun aydınlatılması önemli görülmektedir.

## GIDA ENDÜSTRİSİNİN GELİŞTİRDİĞİ YENİLİKÇİ YÖNTEMLER ve UYGULAMALARI

Kuru incir üretiminde işletmeler tarafından çoğunlukla geleneksel yöntemlerin kullanıldığı bilinmektedir. Buna karşın, son üründe istenilen kalite kriterlerini sağlamak amacıyla farklı yenilikçi yöntemler de geliştirilmekte ve uygulanmaktadır. Yıkama aşaması ele alındığında incir işletmelerinin neredeyse tamamının sadece %5 - 7'lik sodyum klorür çözeltisi kullandığı bilinmektedir. Kuru incirlerin yıkanmasında NaCl işletmeler tarafından kuru incir yüzey dezenfektanı olarak görülmektedir. Bazı incir işleme tesislerinin küf ve maya sorununu bertaraf etmek için yıkama aşamasında değişik kimyasallardan yararlandığı bilgisi de alınmaktadır. Bazı modern incir işleme tesislerinde (Aydın ilinde üç işletme) yıkama işleminin dekontaminasyon amaçlı elektrolize yükseltgen su kullanılarak yapıldığı bilinmektedir [27].

İncir Araştırma Enstitüsü tarafından yürütülen bir proje kapsamında, elektro aktivite suyun (EAS) kuru incir ve incir işletmelerinde oluşabilecek mikrobiyal problemler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yıkama aşamasında EAS kullanımının kuru incirde mikrobiyal popülasyonun azaltılmasında NaCl'ye kıyasla daha etkili olduğu bildirilmiştir. Elektro aktivite su, ekolojik açıdan temiz olması, yüksek derecedeki aktifliği sayesinde etkin temizleme işlemi gerçekleştirmesi ve düşük maliyetli olması gibi nedenlerle işletmeler tarafından tercih edilebilmektedir [28].

Kuru incirlerde mikrobiyal dezenfeksiyon ve dolaylı olarak ikincil mikotoksin üretiminin kısıtlanması ve de kısmen aflatoksin detoksifiyesi için yapılan çalışmalardan bir diğeri ise ozon uygulamasıdır. Ozonun, herhangi bir kalıntı bırakmadan moleküler oksijene hızlı bir şekilde ayrışması ve hasat sonrasındaki pestisit kalıntılarını ortadan kaldırması sebebiyle etkili bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Literatürde gaz halindeki ozon ve ozonlanmış suyun, incirin mikrobiyal florası ve aflatoksin içeriği üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Ozonun kuru incirin organoleptik özellikleri ve besin değerleri üzerindeki etkilerini belirlemek için yapılan çalışmalar da halen devam etmektedir. Kuru incirde istenmeyen aflatoksin oluşumu ve hasare hasarını önlemek amacıyla ozon gazlı depolama odaları da kullanılabilir [29]. Ozon uygulamasının ele alındığı çalışmalar incelendiğinde; Akbaş ve Özdemir [30], kuru incirlerde oluşabilecek olan *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* ve sporlarını azaltmak amacıyla ozonlama yöntemini uygulamışlardır. Kuru incirler, *E. coli*, *B. cereus* ve *B. cereus* sporları ile steril torbalarda gram örnek başına  $10^7$  koloni oluşturan birim (kob  $g^{-1}$ ) seviyesinde olacak şekilde inoküle edilmiş ve ozonlamadan önce  $25^{\circ}C$ 'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanmış olan numunelere  $20^{\circ}C$ 'de, %70 bağıl nemde ozon uygulaması gerçekleştirilmiştir. İstatistik olarak önemli ( $p<0.05$ ) derecede *E. coli* ve *B. cereus* sayısındaki azalma düşük ozon konsantrasyonlarında ( $<1$  ppm) meydana gelirken, kurutulmuş incir örneklerinde *B. cereus* sporlarının azalması daha yüksek ozon konsantrasyonlarında gerçekleşmiştir ( $>1$  ppm). Ozonlama işlemlerinden sonra kuru incirin renk, pH değeri ve nem içeriklerinde önemli değişiklikler gözlenmemiştir. Ozonlama işlemi özellikle kuru incirdeki vejetatif hücrelerin azaltılmasında etkili olmuş ve kuru incirin dekontaminasyonu için ümit verici bir yöntem olarak görülmüştür. Duyusal açıdan değerlendirildiğinde ozonlu ve ozonlanmamış kuru incirlerin tatlılık, lekelenme, lezzet ve görünümleri arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde Zorlugenç ve ark. [29], kuru incirin mikrobiyal florası ve aflatoksin içeriği üzerine ozon gazının ve ozonlanmış suyun etkisini araştırmışlardır. Kuru incirler 13.8 mg/L ozon gazı ve 1.7 mg/L ozonlu suya ayrı ayrı 7.5, 15 ve 30 dk. maruz bırakılmış, uygulanan işlemlerin incirlerdeki mikrobiyal flora üzerinde meydana getirdiği değişimler gözlenmiştir. Ozon gazı ve ozonlu su uygulamalarının kuru incirde aflatoksin oluşumuna neden olan *A. flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'u tamamen yok ettikleri bildirilmiştir. Aynı zamanda, ozonlama süresi arttıkça aflatoksin miktarında

azalmanın gerçekleştiği gözlenmiştir. Benzer bir diğer çalışmada Agriopoulou ve ark. [31], aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 mikotoksinlerinin, düşük konsantrasyonlarda ozonlu solüsyonlarla muamele edilmesi sonucu aflatoksin miktarında önemli azalmaların meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Uygulanan ozon gazı konsantrasyonu, aflatoksin türleri üzerinde farklı etkiler göstermiştir. Öztekin ve ark. [32], kuru incirde mikrobiyal inaktivasyon için 5 ppm ve 10 ppm miktarlarında üç ve beş saat ozonlama işlemi uygulamışlardır. Kuru incir üzerindeki mikroorganizma sayısını azaltmak için 5 ppm'de en az üç saatlik bir işlemin gerektiği tespit edilmiştir. Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma ve maya/küf sayımında, tüm koliform bakterilerin inaktive olduğu bu seviyede yaklaşık olarak sırasıyla %38 ve %72 seviyelerinde azalma gerçekleşmiştir. Ayrıca hasat sonrasında maya ve küf oluşumunun önlenmesi, ileriki aşamalarda oluşabilecek aflatoksin riskinin azalmasını da sağlamıştır. Öztekin ve ark. [33], yapmış oldukları diğer bir çalışmada, vakum uygulaması ile beraber gerçekleştirilen ozon uygulamasının kuru incirin mikrobiyal florası ile aflatoksin B1 üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda vakum uygulamasının ozon gazının biyolojik etkinliğini artırdığı tespit edilmiştir. Farklı sürelerde (1, 2 ve 4 saat) yapılan vakum uygulaması ve sonrasında gerçekleştirilen ozon uygulamasıyla kuru incirin mikrobiyal yükü azaltılmış olup aflatoksin B1 miktarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalar göz önüne alındığında ozonlama işleminin kuru incirde mikrobiyal yük ve aflatoksin kontrolünün sağlanmasında uygulanabilecek alternatif bir yöntem olduğu ifade edilebilir.

Kuru incirde özellikle yüzey dezenfeksiyonun sağlanması amacıyla ışınlama yöntemi de kullanılabilir. Bu yöntemin kullanımıyla ilgili yapılan bir çalışmada Çetinkaya ve ark. [34], ambalajlanmış kuru incir örneklerini 0.5 - 1.0 kGy arasında değişen doz oranı ile ışınlamaya tabi tutmuşlardır. Işınlamadan sonraki altıncı günde ilk analizler yapılmış, ardından bir, iki ve üç aylık depolama sonrası analizler yapılmıştır. Sonuçlar, düşük dozlarda radyasyonun kuru incirin duyusal özellikleri üzerinde herhangi bir yan etkisi olmaksızın hasat sonrası mikrobiyal yükün kontrolünde etkili olduğunu göstermiştir. Bir aydan daha uzun depolama süreleri için 0.75 ve 1.0 kGy dozları, ticari olarak paketlenmiş kuru incirlerde minimum uygulanan dozlar olarak belirlenmiştir.

Kuru incirde bir diğer önemli risk faktörü olarak görülen ambar zararlılarının bertaraf edilmesinde uygulanmakta olan fumigasyon aşaması da son ürün kalitesi açısından oldukça önemlidir. Kuru incir fumigasyonunda MeBr gibi bazı kimyasalların kullanımının sınırlandırılması veya yasaklanması sonucunda gıda endüstrisi MeBr'in yerini alacak alternatif yöntemler geliştirmeye başlamıştır. Bu kapsamda kimyasal (fosfin, karbonil sülfid, sülfürl florit, karbon disülfid, ozon, etil format, metil iyodit, vb.) ve kimyasal olmayan (değiştirilmiş atmosfer, yüksek basınç, sıcak/soğuk uygulamaları, radyo frekansı, uzun dalga enerjisi, radyasyon, vb.) birçok yöntem denenmiş veya denenme aşamasındadır [7, 35-37]. Bu amaçla

gerçekleştirilen çalışmalara bakıldığında MeBr'e alternatif olarak yeni yöntemlerin geliştirildiği gözlenmektedir. İncir endüstrinde ilerleyen teknoloji ile beraber alternatif yöntemlerin uygulanması sonucunda kaliteli kuru incir üretiminin gerçekleşmesi hedeflenmektedir. Bu konuda yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde Yatkın ve ark. [38], ECO<sub>2</sub>Fume (%2 oranında fosfin içeren) isimli silindirik gaz fosfin preparatının tek başına ve vakumla beraber 24 saat uygulanması sonucu, *Carpophilus hemiptus*'un yumurta, larva, pupa ve ergin evrelerinin tamamen ortadan kaldırılabildiklerini tespit etmişlerdir. Kuru incirin önemli bir bölümünü işleyen ve ihraç eden üreticilerin çoğunun vakumlu fumigasyon sistemlerine sahip olması nedeniyle bu yöntemin hayata geçirilmesinde teknik bir altyapı sorunu olmayacağı ve yöntemin yaygın olarak kullanılabileceği değerlendirilmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, 24 saatlik fumigasyon gereksinimini karşılaması bakımından ECO<sub>2</sub>Fume isimli silindirik fosfin preparatının uygulamada başarıyla kullanılabileceğini ve kuru incir üretiminde MeBr'in yerini alabileceğini göstermektedir. MeBr alternatiflerinin kuru incir sektöründe uygulanabilirliği teknik ve ekonomik açıdan değerlendirildiğinde bazı uygulamaların kalitede istenmeyen değişimlere sebep olmasından dolayı kullanılması tavsiye edilmemektedir. Örneğin, alüminyum fosfit uygulamasının kuru incirde istenmeyen renk değişimlerine yol açması sebebiyle magnezyum fosfit (MgPH<sub>3</sub>) uygulaması ön plana çıkmaktadır. Bu amaçla MeBr'e alternatif olarak önem kazanan MgPH<sub>3</sub> ile ilgili yapılan bir çalışmada [35], çadır altında 3 ve 5 gün 600 ppm ve 5 gün 1000 ppm fosfin uygulamalarının kuru incir meyve kalitesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Fosfin uygulamalarından 3 ve 5 gün süreyle 600 ppm fosfin uygulamasının kalite parametrelerine olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir. Fakat 5 gün süreyle 1000 ppm fosfin uygulamasının kabukta meydana getirdiği kısmi zararlanmalardan dolayı kalitede bazı olumsuzluklara sebep olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle uzun süre ve yüksek konsantrasyondaki fosfin uygulamasının kuru incir sektöründe kullanımı önerilmemektedir. Ayrıca yüksek konsantrasyonda gerçekleştirilen uygulamaların incir zararlılarının fosfine karşı direnç gelişimi oluşturabilme riskini de arttırdığı gözlenmiştir. Benzer şekilde Athanassiou ve ark. [39], kuru incirde uygulanan düşük basınçta fosfin fumigasyonunun depo zararlıları üzerindeki öldürücü etkisini araştırmışlar ve bu amaçla 18, 48 ve 72 saat düşük basınçta fosfin uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Fungusların tamamen inhibisyonu, *Oryzaephilus surinamensis* ve *Tribolium confusum* türleri için sırasıyla 48 ve 72 saat yapılan düşük basınçlı fosfin uygulamasıyla elde edilmiştir.

Kuru incir üretiminde depolama sürecindeki haşereleri kontrol etmek amacıyla uygulanan bir diğer yöntem ise kontrollü atmosferde ısıl işlem uygulamasıdır. Bu uygulama, kurutulmuş meyve kalitesi üzerinde olumsuz etki yaratmaması ve kuru incirin nem içeriği, renk ve tekstürü üzerinde ise olumlu etkiler oluşturması nedeniyle metil bromite iyi bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır [40]. Kontrollü atmosfer uygulamasıyla ilgili yapılan bir çalışmada Şen ve ark. [40], yüksek sıcaklıkta (41°C), kontrollü atmosferin (%1±0.5 oranında O<sub>2</sub>

azaltılmış), kuru incir depo zararlılarından olan incir güvesi (*Ephestia cautella*), Hint yemeği güvesi (*Plodia interpunctella*) ve kurutulmuş meyve böceği (*Carpophilus spp.*) üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Uygulanan işlemlerden hemen sonra ve dört aylık bir depolama sonrasında metil bromit ile muamele edilen kuru incirlerle karşılaştırma yapılmıştır. Test edilen haşere türlerinin %100 kontrolü sağlandığı için kontrollü atmosfer uygulamasının metil bromite alternatif olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda karbondioksit uygulamaları ise normal atmosferik koşullarda kullanıldığında uygulama süresinin uzun oluşu (3 - 10 gün) ile daha ziyade organik kuru incir üretimiyle sınırlı kalmış; yüksek basınçla birlikte kullanımında ise maliyetinin çok yüksek olması nedeniyle zorunlu haller dışında kullanım olanağına kavuşmamıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında bilgisayar tabanlı otomatik görüntü sistemleri, geleneksel olarak pahalı, zaman alıcı ve yoğun emek gerektiren manuel inceleme teknikleriyle yapılan gıda kalite değerlendirmelerine kıyasla daha hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır. Bu sistemlerden birisi olan hiperspektral görüntüleme tabanlı kontrol sistemi (HSI), her bir incir örneğinin konveyör bandı için 10 ms'lik bir pozlama süresi ve 0.6 rpm'lik devir sayısı ile elde ettiği görüntüleri işlemektedir. Dakikada 7 - 12 incir arasında değişen bir insan değerlendirmesinin çıktısı ile kıyaslandığında, HSI uygulamasının operasyonel bir sistem için elverişli olduğu düşünülmektedir. Ortaç ve ark. [41], yapmış oldukları çalışmada küf enfeksiyonlarına eğilimli olan kuru incirin değerlendirilmesi için yansıtma ve geçirgenlik özelliklerine dayanan HSI'yi uygulamışlardır. Yansıtma moduyla ürün dış yüzeyi, geçirgenlik modu ile ise kuru incirin iç görüntüleri elde edilebilmektedir. Sistemin geçirgenlik özellikleri kullanılarak kurutulmuş incirlerin içinde kirlenmenin olup olmadığı tespit edilmiştir. Yansıtma moduna kıyasla, geçirgenlik modunda incir ve ışık kaynağının doğru hizalanmaması gibi çeşitli zorluklar mevcuttur. Yansıtma ve geçirgenlik modlarının verimli bir şekilde birleştirilmesiyle gelecekteki HSI sisteminin, sağlam, temiz, canlı haşerelerden ve küflerden arındırılması gibi düzenlemeleri içerip kuru incir için tam bir kalite kontrol sistemi sağlaması beklenmektedir. Benzer şekilde kuru incirin kalite kontrolünü ve sınıflandırmasını geliştirmek amacıyla bilgisayar vizyonuna dayalı otomatik sistemlerin gelişimi üzerinde duran Benalia ve ark. [42], bu amaçla incirin renk değerlendirmesi yoluyla nitel ayırımına dayalı deneysel bir çalışma ile incirlerin görüntü işleme algoritmalarını geliştirmişlerdir. Her örneğin esmerleşme indeksi ölçümü CIE XYZ, CIELAB ve HunterLab renk ölçüm cihazları ile ifade edilmiş ve daha sonra PCA ve PLS-DA bazlı yöntemler kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Hem renk ölçer hem de görüntü analizinin, yüksek kaliteli kuru incirler ve rengi kötüleşmiş olanlar arasında renk parametrelerine göre etkin bir ayırım yapılmasına izin verdiği görülmüştür. Kalkan ve ark. [43], floresan ve multispektral görüntüleme kullanarak aflatoksin ile kontamine olan incirleri tespit etmişlerdir. Görüntüleme işlemleriyle incirlerin floresans düzeyi, yüzeydeki küf

konsantrasyonu ve aflatoksin seviyeleri incelenmiş; küf konsantrasyonu ile parlak yeşilimsi sarı floresans (BGYF) ve aflatoksin arasında, ayrıca yüzey ile BGYF arasında güçlü bir korelasyonun olduğu belirlenmiştir. Kuru incir çoğunlukla aflatoksin üreten küflerden etkilenmekte ve bu küfler genellikle aflatoksin ile birlikte kojik asit de üretmektedir. Kojik asit, floresan bir bileşiktir ve ultraviyole (UV) ışığı altında BGYF sergiler. Bu floresan özelliğini kullanarak incir işleme tesisleri, işlenmiş incirin aflatoksin seviyesini azaltmak için pozitif BGYF sonuç veren incirleri elle seçmekte ve ayırmaktadır. Manuel seçim, aflatoksin ile kontamine olmuş örneklerin çıkarılmasının en etkili yolu olarak görülmektedir. Ancak, elle yapılan seçim sırasında işçiler UV ışınlarına maruz kalmakta ve bu durum da sağlıklarına neden olabilmektedir.

Uygulanan alternatif yöntemlere ek olarak soğuk plazma tedavisi, belirgin bir sıcaklık artışı olmadan kuru incirde oluşabilecek mikroorganizmaların inaktive edilmesine yardımcı olan yeni bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Soğuk plazma, ultraviyole fotonlar, elektronlar, pozitif ve negatif iyonlar, serbest radikaller ve uyarılmış veya uyarılmamış moleküller ve atomlar gibi enerjik reaktif türler içermektedir. Mikrobiyal hücre zarlarının reaktif türler veya UV ile yüzey erozyonuna uğratılması, soğuk plazma tekniğinde mikroorganizmaların inaktivasyonunda kullanılan mekanizmalardır. Soğuk atmosferik basınç plazması ve düşük enerji elektron ışını da kuru gıda yüzeylerinde mikrobiyal inaktivasyon için ümit vaat eden iki yenilikçi teknolojidir [44].

Kuru incir üretiminde mikrobiyal faaliyetlerin sınırlandırılmasına yönelik yapılan çalışmaların yanı sıra uygulanan kurutma işleminin de son ürün kalitesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada Şahin ve Öztürk [45], ön işlem olarak darbeli vakum ozmotik dehidrasyon (PVOD) tekniği uygulanmış ve uygulanmamış olan Sarılop (*Ficus carica* L.) çeşidi incirlerin kurutma kinetiklerini karşılaştırmışlardır. Ön işlem görmüş incirlerin kurutma süreleri ön işlem görmemiş incirlerden daha kısa sürmüştür, böylece PVOD tekniğinin kurutma süresini kısalttığı belirlenmiştir. Ayrıca PVOD işleminin kurutma esnasında ek maliyetlerin azaltılması gibi ekonomik avantajlara sahip olduğu ifade edilmiştir. Kuru incirler duysal açıdan değerlendirildiğinde ise örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı ( $P > 0.05$ ) görülmüştür. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda PVOD tekniğinin kullanımının kontrollü şekilde üretime olanak sağladığı için kuru incir üretiminde kullanılabilir ve uygun olduğu ifade edilmiştir.

## SONUÇ

Kuru incir ülkemizin önemli ihracat ürünlerinden birisi olup "Türk Kuru İnciri" / "Ege İnciri" / "Aydın İnciri" gibi markalar ile dünyada değer bulmuştur. Marka değerinin ve ürün kalitesinin korunması ve geliştirilmesi adına üretimde en uygun şartların oluşturulması gerekmektedir. Kuru incir üretiminde çeşitli risk faktörlerinin bulunması, kuru incirin kalitesini dolayısıyla ticaretini olumsuz etkilemektedir. Kaliteli son ürün elde

edilebilmesi açısından bu risk faktörlerinin yok edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen bazı geleneksel yöntemlere gelen kısıtlamalar alternatif yeni yöntemlerin geliştirilmesine olanak tanımıştır. Gelişmekte olan teknoloji de göz önüne alınarak daha güvenilir ve daha hızlı yöntemlerin uygulanabilirliği test edilerek kuru incirde mikrobiyal ve duysal kalitenin istenen seviyelerde olması için ileri çalışmaların da yürütülmesi gerektiği sonucuna ulaşılmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Atik, A. (2012). Aydın ilinde doğal olarak kurutulan, geleneksel ve endüstriyel işlenen incirlerin bazı özellikleri ve aflatoksin içerikleri. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 75 s.
- [2] Somuncuoğlu, Ş. (2007). Kuru incirde siklopiazonik asit varlığının ve miktarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 60 s.
- [3] Anonim. (2018). 2017 yılı kuru incir raporu. Türkiye Cumhuriyeti Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [4] Anonim. (2017). Kuru incir sektör raporları. Türkiye Cumhuriyeti Ekonomi Bakanlığı, Ankara.
- [5] Çalışkan, O., Polat, A.A. (2012). Morphological diversity among fig (*Ficus carica* L.) accessions sampled from the eastern mediterranean region of Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36, 179-193.
- [6] Yıkılmaz, F. (2007). Tekirdağ ilinde satışa sunulan kuru incirlerde aflatoksin varlığı. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 58 s.
- [7] Şen, L., Nas, S. (2010). Kuru incir, üzüm ve kırmızı biberlerde mikotoksin varlığı. *Akademik Gıda*, 8(3), 24-32.
- [8] Göçmez, A., Seferoğlu, H.G. (2014). Sofralık ve kurutmalık incir kalite kriterleri ve kaliteyi etkileyen faktörler. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 1, 98-108.
- [9] Yaşartürk, Z.E. (2016). Sarılop incir çeşidinde bazı uygulamaların meyve kalitesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 99 s.
- [10] EİB. (2017). Ege kuru meyve ve mamülleri ihracatçıları birliği ocak-aralık sektör raporu. <http://upload.eib.org.tr/20150512/00000000004256.pdf>.
- [11] Ortaç, G., Bilgi, A.S., Taşdemir, K., Kalkan, H. (2016). A hyperspectral imaging based control system for quality assessment of dried figs. *Computers and Electronics in Agriculture*, 130, 38-47.
- [12] Kabak, B. (2016). Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: occurrence and exposure assessment. *Food Chemistry*, 211, 8-16.
- [13] Anonim. (2006). TS 541 kuru incir standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 16 s.
- [14] Avşar, D., Yalçın, İ. (2007). Aydın yöresindeki incir işletmelerinin yapısal durumunun belirlenmesi. *ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(1-2), 63-67.

- [15] Arpacı, S., Konak, R., Çiçek, E. (2018). A national value: Turkish figs. XXX. *International Horticultural Congress*, August 12-16, 2018, İstanbul, Turkey, Book of Proceedings, 16-22p.
- [16] Aksoy, U. (2012). Kuru incir yetiştiriciliği ve aflatoksin yönetimi el kitabı. 1. Basım. İzmir, 70 s.
- [17] Karbancıoğlu Güler, F. (2008). İncirde okratoksin A ve fumonisın oluşumunun incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 186 s.
- [18] Günal, N. (2008). Türk Dünyasında incir kültürü. *International Periodical For the Languages, Literature and History of Turkish or Turkic*, 3, 5.
- [19] Karaca, H. (2005). Kuru İncirlerin aflatoksin, patulin, ergosterol içeriği ve farklı koşullarda aflatoksinlerin parçalanma düzeyleri. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 122 s.
- [20] Anonim. (2018a). <http://www.haktes.com.tr/kuru-incir-uretim.html>\_27.10.2018).
- [21] Bircan, C., Barringer, S.A., Ulken, U., Pehlivan, R. (2008). Increased aflatoxin contamination of dried figs in a drought year. *Food Additives and Contaminants*, 25(11), 1400-1408.
- [22] Gürhayta, O.F., Çağındı, Ö. (2015). Kurutulmuş meyvelerde aflatoksin ve okratoksin varlığının ve sağlık üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(2), 327-338.
- [23] Heperkan, D., Somuncuoğlu, Ş., Karbancıoğlu Güler, F., Mecik, N. (2012). Natural contamination of cyclopiazonic acid in dried figs and co-occurrence of aflatoxin. *Food Control*, 23, 82-86.
- [24] Tütüncü, Ş., Emekçi, M. (2014). Kuru incir zararlısı *Carpophilus hemipterus* (L), (*Coleoptera nitidulidae*)'un değişik yaşlı pupalarına fosfin gazının etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 20, 399-405.
- [25] Doğan, Ö. (2009). Bazı fungusitlerin incir iç çürüklüğü hastalığı etmeni *Fusarium* spp.'ye etkilerinin saptanması. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 81 s.
- [26] Doğan, Ö., Benlioğlu, S. (2011). Erkek incirlerin boğa meyvelerinde incir iç çürüklüğü hastalığının bulunma oranlarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(3), 277-285.
- [27] Anonim. (2018c). <https://arastirma.tarim.gov.tr/incir/Belgeler/dergi/24-25.pdf>\_12.11.2018).
- [28] Yamaner Ç., Tan, N., Kösoğlu, İ., Konak, R., Dimoğlu, A. (2013). Kuru incir mikrobiyal popülasyonunun kontrolünde elektro aktive suyun (EAS) etkisi. 8. Gıda Mühendisleri Kongresi, 7-9 Kasım 2013, Başkent Öğretmenevi, Ankara, 56 s.
- [29] Zorlugenç, B., Kiroğlu Zorlugenç, F., Öztekin, S., Evliya, I.B. (2008). The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3593-3597.
- [30] Akbaş, M.Y., Özdemir, M. (2008). Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Food Microbiology*, 25, 386-391.
- [31] Agriopoulou, S., Koliadima, A., Karaiskakis, G., Kapalos, J. (2016). Kinetic study of aflatoxins' degradation in the presence of ozone. *Food Control*, 61, 221-226.
- [32] Öztekin, S., Zorlugenç, B., Kiroğlu Zorlugenç, F. (2006). Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. *Journal of Food Engineering*, 75, 396-399.
- [33] Öztekin, S., Işıkber, A.A., Zorlugenç, B., Kiroğlu Zorlugenç, F., Ulusoy, R., Satar, S., Evliya, B., Fenercioğlu H. (2007). Ozon uygulamasının kuru incirde mikrobiyal flora, aflatoksin B1 ve değirmen güvesi (*Ephestia kühniella zeller*) üzerinde etkileri. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 3(3), 169-177.
- [34] Çetinkaya, N., Özyardımcı, B., Denli, E., İc, E. (2006). Radiation processing as a post-harvest quarantine control for raisins, dried figs and dried apricots. *Radiation Physics and Chemistry*, 75, 424-431.
- [35] Meyvacı, K.B., Şen, F. (2007). Magnezyum fosfit uygulamalarının kuru incir meyve kalitesine etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44(1), 29-40.
- [36] Johnson, J.A., Valero, K.A., Hannel, M.M., Gill, R.F. (2000). Seasonal occurrence of postharvest dried fruit insects and their parasitoids in a culled fig warehouse. *Journal of Economic Entomology*, 93(4), 1380-1390.
- [37] Schneider, S.M., Roskopf, E.N., Leesch, J.G., Chellemi, D.O., Bull, C.T., Mazzola, M. (2003). United States department of agriculture-agricultural research service research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. *Pest Management Science*, 59, 814-826.
- [38] Yatkın, G. (2013). Kuru incir zararlısı *Carpophilus hemipterus* (L.)'a (*Carpophilidae: Coleoptera*) karşı fosfin gazının vakum altındaki etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 56 s.
- [39] Athanassiou, C.G., Rumbos, C.I., Sakka, M., Sotiropoulos, V. (2016). Insecticidal efficacy of phosphine fumigation at low pressure against major stored-product insect species in a commercial dried fig processing facility. *Crop Protection*, 90, 177-185.
- [40] Sen, F., Meyvacı, K.B., Turanlı, F., Aksoy, U. (2010). Effects of short-term controlled atmosphere treatment at elevated temperature on dried fig fruit. *Journal of Stored Products Research*, 46, 28-33.
- [41] Ortaç, G., Bilgi, A.S., Taşdemir, K., Kalkan, H. (2016). A hyperspectral imaging based control system for quality assessment of dried figs. *Computers and Electronics in Agriculture*, 130, 38-47.
- [42] Benalia, S., Cubero, S., Prats-Montalbán, J.M., Bernardi, B., Zimbalatti, G., Blasco, J. (2016). Computer vision for automatic quality inspection of dried figs (*Ficus carica* L.) in real-time. *Computers and Electronics in Agriculture*, 120, 17-25.
- [43] Kalkan, H., Güneş, A., Durmuş, E., Kuşçu, A. (2014). Non-invasive detection of aflatoxin-contaminated figs using fluorescence and multispectral imaging. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(8), 1414-1421.



- [44] Lee, H., Kim, J.E., Chung, M., Min, S.C. (2015). Cold plasma treatment for the microbiological safety of cabbage, lettuce, and dried figs. *Food Microbiology*, 51, 74-80.
- [45] Şahin, U., Öztürk, H.G. (2016). Effects of pulsed vacuum osmotic dehydration (PVOD) on drying kinetics of figs (*Ficus carica* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 104-111.
-

## Gıdalarda Deniz Kaynaklı Makroalg Özütü Kullanımı ve Lipit Oksidasyonunu Önlemede Antioksidan Etkisi

Bahar Gümüş<sup>1</sup>  ✉, Mustafa Ünlüsayın<sup>2</sup> , Erkan Gümüş<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Akdeniz Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, 07058, Antalya

<sup>2</sup> Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 07058, Antalya

<sup>3</sup> Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 07058, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 21.03.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 23.06.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [bahargumus@akdeniz.edu.tr](mailto:bahargumus@akdeniz.edu.tr) (B. Gümüş)

☎ 0 242 310 66 55 📠 0 242 227 46 70

### ÖZ

Katkı maddesi içermeyen doğal ürünlere yönelik artan tüketici talepleri ve yeni üretim teknikleri doğal katkı maddelerine olan ilgiyi arttırmıştır. Antioksidanlar, az miktarlarda kullanımıyla bile yağ oksidasyonunu engelleyen ya da geciktiren gıda katkı maddelerinin önemli bir grubudur. Gıdalarda, butil hidroksianisol, butil hidroksitoluen ve tersiyer bütül hidroksikinon gibi sentetik antioksidanlar ya da tokoferoller, askorbik asit, karotenoidler, flavonoidler, aminoasitler, fosfolipidler ve steroller gibi doğal antioksidanlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda, gıda endüstrisi doğal antioksidan maddelerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması üzerine odaklanmıştır. Bu nedenle, antioksidan bileşenlerin iyi bir kaynağı olarak makroalg özütlerine olan ilginin arttığı görülmektedir. Literatürde, deniz kökenli makroalg özütlerinin (özellikle kahverengi makroalglerin) güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmektedir. Pek çok araştırmada, farklı makroalg türlerinden, klorofil,  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, niasin, tiamin, polifenol, polisakkaritler, flavonoidler, fosfolipidler, terpenoidler ve peptidler gibi antioksidan bileşenler ekstrakte edilmiştir. Araştırmacılar tarafından, makroalg özütlerinin antioksidan özellikleri üzerine farklı coğrafik bölge, makroalg türleri, çözücüler, ekstraksiyon metodu, ekstraksiyon sıcaklığı ve zamanı gibi bazı parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Bu derlemenin amacı, makroalg özütlerinin antioksidan aktivitesi üzerine yapılan bilimsel makalelerin sonuçlarını sunmak ve gıdalarda antioksidan maddelerin doğal bir kaynağı olarak potansiyeli hakkında bilgi vermektir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan bileşenler, Makroalg, Özüt

### Use of Marine Macroalgae Extracts in Foods and Their Antioxidative Effect against Lipid Oxidation

#### ABSTRACT

Increased consumer demand for natural foods that are free from additives and new production techniques resulted in growing interest for natural additives. Antioxidants are a significant group of food ingredients inhibiting or delaying lipid oxidation even at minute concentrations. Synthetic antioxidants such as butylhydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, and tert-butylhydroquinone or natural antioxidants like tocopherols, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, amino acids, phospholipids and sterols are used in foods. Recently, the food industry has focused on the extraction and purification of natural antioxidative substances. For this reason, an interest towards marine macroalgae extracts as a good source of antioxidant constituents has been increasing. In the literature, marine macroalgae extracts (especially brown macroalgae) were reported to have strong antioxidant properties. In several studies, antioxidant compounds such as chlorophyll,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid, niacin, thiamine, polyphenols, polysaccharides, flavonoids, phospholipids, terpenoids and peptids were extracted from different macroalgae species. The effect of parameters such as different geographic regions, macroalgae species, solvents, extraction methods,

extraction temperature and time on the antioxidative properties of macroalgae extracts were determined by several researchers. The aim of this review is to present the results of scientific studies on the antioxidant activity of macroalgae extract and to inform about their potential as a natural source of antioxidant substances in foods.

**Keywords:** Antioxidant components, Macroalgae, Extract

## GİRİŞ

Antioksidanlar, oksidasyon zincir reaksiyonunun başlangıcını ya da ilerlemesini engelleyerek hücrel substratların oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren maddelerdir. Bu maddeler genellikle oksidatif strese karşı organizmada normal şartların devamlılığını muhafaza etmek için üretilir [1-3]. Bu nedenle; antioksidanların tüketimi ve gıda materyallerine eklenmesi gıdalar gibi vücudumuzu da korumaktadır [4].

Sentetik antioksidanlardan bütillenmiş hidroksianisol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyer bütill hidroksikinin (TBHQ) ve propil gallat (PG) gıda üretiminde gıda güvenliğini garanti etmek ve raf ömrünü uzatmak, gıdaların besinsel ve duysal kalitesini muhafaza etmek amacıyla kullanılmaktadır [3, 5]. Fakat bu sentetik bileşiklerin toksisiteye ve kansorejen etkiye sahip olduklarından şüphelenilmektedir [1, 3, 6]. BHT ve  $\alpha$ -tokoferol balıklarda olduğu gibi kompleks gıda sistemlerinde antioksidan olarak etkisiz kalabilmektedir [3]. Bu nedenle etkili ve güvenilir alternatif antioksidanlar, özellikle doğal orjinli olanlar birinci derecede önem taşımaktadırlar. Bunun için araştırmacıların ilgisi gıda sistemlerinde katkı maddesi olarak doğal antioksidanların kullanılması üzerine odaklanmıştır. Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar tüketici güvenliği ve kabul edilebilirliği bakımından avantajlara sahip olmakla birlikte, düzenleyici otoriteler tarafından da herhangi bir güvenilir test garantisine gereksinim duyulmamaktadır [6-8]. Makroalglerin doğal antioksidan bileşenlerin bir kaynağı olarak [3, 9], gıdalarda lipid oksidasyona ve hedef dokularda oksidatif strese karşı potansiyel koruma etkisine sahip olduğu bildirilmektedir [10]. Son zamanlarda makroalglerden elde edilen sülfatlı polisakkaritler, fenolik bileşikler, miyosporin benzeri aminoasit bileşimi ve karotenoidler gibi bileşiklerin antioksidan potansiyelleri araştırılmaktadır [3]. Son yıllarda alglerde bulunan yüksek değerlikli bileşiklerin (yağ ve yağ ve asitleri, proteinler, karbonhidratlar, pigmentler, mineraller, vitaminler, steroller ve polifenoller) gıda ve sağlık sektörü gibi birçok alanda kullanımının mümkün olması ile algler, giderek artan ticarileşme potansiyeline sahip olmaktadır [11]. Makroalgler antioksidan metabolitlerin zengin bir kaynağı olduğundan, gıda ürünlerinin raf ömrünü arttırarak gıda kalitesini geliştirmek için kullanılabilbileceği araştırmacılar tarafından tavsiye edilmektedir [12-15]. Bu çalışmada, deniz kaynaklı makroalg türlerinden özüt eldesi, özütlerde bulunan antioksidatif bileşenler ve özellikleri, gıdalarda katkı maddesi olarak kullanımı üzerine yapılan çalışmaların kısa bir derlemesi verilmeye çalışılmıştır.

## DENİZ KAYNAKLI MAKROALG ÖZÜTLERİNDE ANTIOKSİDATİF ETKİ GÖSTEREN BİLEŞENLER

Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile algal biokütleden sağlanan özütler genellikle seçici olmayıp, temel bileşenlerin kompleks bir karışımını içermektedir. Makroalglerde bulunan, polisakkaritler, fenolik bileşenler, çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, peptidler, pigmentler, vitaminler, terpenoidler ve steroller gibi maddelerin antioksidan etki gösterdiği bildirilmektedir [16]. Tablo 1'de antioksidan maddelerin kaynağı olarak makroalg türleri ve bu türlerde bulunan antioksidatif bileşenler verilmiştir. Bu maddelerin içeriği ise; mevsime, yaşa, türe, coğrafik lokasyona ve çevresel faktörlere göre değişmektedir [16].

Deniz kaynaklı makroalglerin antioksidan aktivitesi; oksidasyonun baskılanmasına ya da engellenmesine direkt ya da dolaylı olarak katkı sağlayan, klorofil ve  $\beta$ -karoten gibi pigmentlerinden,  $\alpha$ -tokoferol, niasin, tiamin ve askorbik asit gibi vitaminlerinden, polifenolik ve flavonoid gibi fenol bileşiklerinden, fosfolipidler, terpenoidler, peptidler ve diğer antioksidatif bileşenlerinden kaynaklanmaktadır. Bunların arasında fenollerin, deniz alglerinin antioksidan potansiyellerinden sorumlu olan temel aktif bileşenler olduğu [17] ve fenolik bileşenler ile antioksidan kapasite arasında yüksek bir korelasyon bulunduğu bildirilmektedir [18].

Genellikle taze makroalgler işlenmiş olanlardan daha iyi antioksidan aktivite göstermektedirler [3, 19]. Bu nedenle, antioksidan aktiviteyi korumak için işleme yöntemi önemli bir rol oynamaktadır. Sağlık endüstrisinde ticari alginat eldesi sırasında geri kalan rezüdi alginatların doğal antioksidan üretmek için önemli kaynaklar olduğu bildirilmektedir [3, 5].

Kahverengi makroalglerin hücre duvarı esas olarak; fukoidan, alginat, laminarin (3:1:1) ve diğer türevlerinden oluşmaktadır [16]. Yeşil, kahverengi ve kırmızı alglerden elde edilen sülfatlı polisakkaritlerin antioksidan aktivitesi son on yıldır çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmaktadır. Çoğu sülfatlı polisakkaritlerin, ticari sentetik antioksidanlardan daha iyi antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Örneğin, yeşil alg (*Bryopsis plumose*)'lerden ekstrakte edilen sülfatlı heteropolisakkaritlerin bir grubunun C vitamini ile karşılaştırıldığında daha yüksek süperoksit indirgeme aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [1, 3].

Sülfatlı polisakkaritlerin antioksidan aktivitesi; sülfat içeriği, sülfatın pozisyonu, molekül ağırlığı ve ekstraksiyon çözücüsünün tipine bağlı olarak değişmektedir [5, 20, 21]. Düşük molekül ağırlığına sahip polisakkaritler yüksek moleküllü polisakkaritler ile karşılaştırıldığında hücrede protonları daha etkili bir şekilde verebilmektedir [9]. Bu durum düşük molekül

ağırlığına sahip sülfatlı polisakkaritlerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermesine olanak sağlamaktadır [1]. Fakat moleküler ağırlığı belirleyen en önemli faktörler şekerin yapısı ve glikozidik bağların tipidir [3].

Sülfatlı polisakkarit ve polifenollere ilave olarak, miyosporin benzeri aminoasit (MAAs), mannitol, alkoloidler, terpenler, askorbik asit, tokoferoller ve karotenoitlerin de (astaksantin ve fokoastaksantin) antioksidan etkiden sorumlu olan bileşenler olduğu tespit edilmiştir [2, 3, 21, 22, 23]. Karotenoid pigmentlerin antioksidan aktiviteleri çoklu doymamış yapılarıyla ilişkilendirilmektedir [3, 5]. Mannitol kahverengi alglerin fotosentezle ürettikleri bir şeker alkoldür ve mannitol hidrat antioksidan özellik göstermektedir [3, 22].

Japonya'da, 25 makroalg türü %50'lik etanol ekstraksiyonu ile ekstrakte edilerek bu alglerin antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. En yüksek radikal indirgeme etkisi *Sargassum ringgoldianum* için tespit

edilmiştir. Florotaninin kimyasal yapısı tanımlanmış, kısmen florotanince zengin fraksiyonun süperoksit anyon radikaller üzerine önemli temizleme etkisi olduğu görülmüştür. Bu etkinin kateşinin etkisinden beş kat daha fazla olduğu bildirilmektedir [24, 25].

*Fucus vesiculosus*, 22°C suda asit ve alkali dilusyonu ile ekstrakte edilmiştir. Özütlerin doğal şeker, üronik asit, sülfat, bir kısım protein ve polifenollerden oluştuğu belirlenmiştir. Temel doğal şekerler fukoz, glukoz, galaktoz ve ksiloz'dur. Fukoz içeren asit özüt dilusyonunun en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [6, 26]. Başka bir karşılaştırmalı çalışmada, 16 makroalg lipofilik özütlerinin antioksidan aktiviteleri gaz kromatografi ve gaz kromatografi kütle spektrofotometresi ile analiz edilmiştir. Seçilen makro alglerin dietil eter özütleri antioksidan aktivitelerin çeşitliliğini ortaya koymuştur. BHT ile mukayese edildiğinde, en yüksek aktivite

Tablo 1. Antioksidan maddelerin kaynağı olarak makroalg türleri ve bu türlerde bulunan antioksidatif bileşenler

Aktif bileşen	Makroalg Türü	Sınıf	Kaynaklar		
Fenoller	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Phaeophyceae	[2, 22, 26, 31, 32]		
	<i>Ecklonia cava</i>				
	<i>Fucus serratus</i>				
	<i>Fucus vesiculosus</i>				
	<i>Sargassum mangarevense</i>				
	<i>Sargassum siliquastrum</i>				
	<i>Pelvetia canaliculata</i>				
	<i>Turbinaria ornata</i>				
	<i>Kappaphycus alvarezii</i>				
	<i>Palmaria palmata</i>			Rhodophyceae	[10, 21, 33]
Polifenoller	<i>Rhodomela confervoides</i>				
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Phaeophyceae	[19, 34, 35]		
	<i>Laminaria sp.</i>				
	<i>Laminaria ochroleuca</i>				
<i>Undaria pinnatifida</i>					
Polisakkaritler	<i>Chondrus crispus</i>	Rhodophyceae			
	<i>Gelidella acerosa</i>				
	<i>Porphyra sp.</i>				
	<i>Porphyra umbilicalis</i>				
	<i>Sargassum pallidum</i>	Phaeophyceae	[20]		
	<i>Bryopsis plumosa</i>	Chlorophyceae	[1]		
	<i>Sargassum thunbergii</i>		[36]		
	<i>Sargassum polycystum</i>		[37]		
	Sülfatlı Polisakkaritler (Fukoidanlar)	<i>Dictyota cervicornis</i>	Phaeophyceae		
		<i>Dictyopteris delicatula</i>			
<i>Dictyota menstrualis</i>					
<i>Dictyota mertensii</i>					
<i>Laminaria japonica</i>					
<i>Sargassum filipendula</i>					
<i>Spatoglossum schroederi</i>					
<i>Gracilaria caudata</i>		Rhodophyceae			[38, 39]
<i>Porpyra haitanensis</i>					
<i>Bryopsis plumose</i>					
<i>Caulerpa cupressoides</i>					
	<i>Caulerpa prolifera</i>	Chlorophyceae			
	<i>Caulerpa sertularioides</i>				
	<i>Codium isthmocladum</i>				
	<i>Enteromorpha linza</i>				
	<i>Ulva pertusa</i>				

Tablo 1. Antioksidan maddelerin kaynağı olarak makroalg türleri ve bu türlerde bulunan antioksidatif bileşenler (Devam)

Aktif bileşen	Makroalg Türü	Sınıf	Kaynaklar
Fukoidan	<i>Sargassum sp.</i> <i>Fucus vesiculosus</i>		[40]
Fukan	<i>Padina gymnospora</i> <i>Hijikia fusiformis</i>		[41]
Fukoksantin Karatenoidler	<i>Sargassum elegans</i> <i>Sargassum sp.</i>		[29, 42, 43]
Steroller, Fukosterol	<i>Sargassum sp.</i>		[42]
Phylophoeophytin	<i>Eisenia bicyclis</i>	Phaeophyceae	[44]
Florotanninler (phloroglucinol, eckol, dieckol)	<i>Sargassum kjellmanianum</i> <i>Eisenia bicyclis</i> <i>Ecklonia kurome</i> <i>Ecklonia cava</i> <i>Eisenia bicyclis</i>		[45-48]
Floroglucinol	<i>Ecklonia cava</i> <i>Ecklonia stolonifera</i> <i>Ecklonia kurome</i>		[45, 47-49]
Lambda karragenan	<i>Gigartina acicularis</i> <i>Gigartina pisillata</i>		[41]
Kappa karragenan Iota karragenan	<i>Euclima cottonii</i> <i>Euclimia spinosa</i>		
Miyosporin benzeri aminoasit bileşimi (Palythine, Shinorine, Palythiol, Asterina-330, Porphyra-334, Usujirene)	<i>Palmaria palmata</i>	Rhodophyceae	[23]
Porphyra-334, Shinorine	<i>Porphyra yezoensis</i> <i>Porphyra rosengurtii</i>		
Asterina-330, Palythine	<i>Gelidium corneum</i>		[50, 51]
Shinorine	<i>Ahnfeltiopsis devoniensis</i>		
Kükürtlü asit içeren fitokimyasallar (2-etilheksil isoheksil ester, pentatriacontane, eugenol ve fitalik)	<i>Gracilaria corticata</i> <i>Gracilaria edulis</i>		[52]

### Deniz KAYNAKLI MAKROALG ÖZÜTLERİNİN *İN VİTRO* YÖNTEMLER KULLANILARAK ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Antioksidan aktivitenin belirlenebilmesi için, basit ve güvenilir olan antioksidan yöntemler tercih edilmektedir. Yaygın olarak kullanılan *in vitro* yöntemler; hidrojen bağlarıyla serbest radikalleri yavaşlatma yeteneği ve bir elektron taşıma yeteneği gibi mekanizmalarına dayandırılarak gruplandırılmaktadır. Antioksidan kapasitesinin belirlenebilmesi için kullanılan *in vitro* yöntemler, farklı bileşenlerin potansiyelini kıyaslamak için kullanışlıdır ancak gıda sistemlerindeki performansı tahmin etmek için elverişli değildir. Substratın çeşidi, antioksidanın gıda maddesi içerisinde çözünürlüğü, faz dağılımı, gıda bileşenleriyle etkileşimi ve çevresel şartlar gibi farklı durumlardan etkilenen karmaşık heterojen sistemlerden dolayı kullanışlı olmamaktadır [16]. Bu nedenle, *in vitro* yöntemler genellikle bir bileşen ya da maddenin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılmaktadır. Bunun için makroalglerde var olan antioksidan bileşenleri belirlemek için en sık olarak kullanılan *in vitro* antioksidan analiz yöntemleri, deniz kaynaklı

makroalglerden özüt elde etme yöntemleri ve kullanılan çözümler Tablo 2'de verilmiştir.

Bileşenin, elektron paylaşma yeteneğini ölçmek ve peroksidasyon oluşumunun azalmasını belirlemek için, azaltma kapasitesi testleri kullanılmaktadır. Demir azaltma antioksidan kapasitesi (FRAP) ve toplam fenolik bileşenlerin Folin-Ciocalteu metoduyla belirlenmesi en yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır [16].

Oksidasyonu engelleyen antioksidanların mekanizmalarından birisi de radikal süpürme etkisidir. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonik asit) (ABTS) ve 2,2-difenil-1 pikrilhidrazil (DPPH) radikallerinin süpürücü etkisini belirlemek için, Troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) ve DPPH testleri algler için yaygın olarak kullanılan yöntemlerdendir. TEAC, ortamdaki antioksidan varlığında radikal katyonun (ABTS<sup>•+</sup>) okside edilmesiyle renkte meydana gelen değişimin ölçülmesi sonucu antioksidan aktivitenin belirlenmesi temeline dayanan bir analizdir. Suda ve yağda çözülebilir gıda örneklerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılır [53]. Bu aktivite yöntemi, ticari algal ürünler [54-56] ve farklı alglerin sulu ve etanolik özütleri için çeşitli araştırmacılar

tarafından kullanılmıştır [16, 57, 58]. DPPH, indirgeyici maddeleri değerlendirmek için serbest bir radikal olarak tercih edilen [59] ve bileşenlerin serbest radikal süpürücü aktivitelerinin araştırılması için kullanılan bir reaktiftir [17]. Radikal indirgeme, oksidasyonu engelleyen antioksidanların mekanizmalarından birisidir ve algler için kullanılan serbest radikalleri içeren (DPPH ve ABTS gibi) *in vitro* yöntemler arasında bulunmaktadır. DPPH radikalının absorpsiyonundaki azalma, radikalın renginin mordan yeşile dönüşmesi ile görsel olarak fark edilebilir bir durumdur. IC<sub>50</sub> (Tam engellemeyi sağlayacak konsantrasyonunun yarı değeri)'nin daha düşük değeri daha yüksek bir aktiviteyi göstermektedir [60]. DPPH, alg ve alg ürünlerinin doğal antioksidan değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan stabil serbest radikallerden birisidir [61, 62]. Bu yöntem kullanılarak birçok makroalg türünün etanolik ve sulu özütlerinin antioksidan kapasitesi belirlenmiştir [13, 16, 63-66].

ORAC metodu, fluoreseinin varlığında oksidasyonu başlatan belirli peroksil radikallerini indirgeme kabiliyetini değerlendirerek makroalg özütlerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılan diğer bir yöntemdir [67, 68]. Sıklıkla 2,2-azobis-(2-amidinopropan) dihidroklorid (AAPH), bir peroksil radikali üreticisi olarak kullanılır. ORAC yöntemi, kompleks reaksiyon mekanizmaları ve çoklu bileşenleri içeren gıda,

nutrasötik ve algler gibi ürünlerin antioksidan kapasitelerini belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [69]. Bu aktivite yöntemi, farklı çözümlerle elde edilen çeşitli alg özütlerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanılmıştır [16, 54, 68, 70, 71].

Metal iyonu şelatlama yeteneği; metal iyonun şelatlanmasıyla ikincil ya da koruyucu antioksidan etkinin, yağlar ve metaller arasındaki etkileşimin engellenmesini yansıtmaktadır. Ortamda bakır ve demir gibi iyonik metallerin varlığı, oksidasyonun başlamasına ya da hızlanmasına neden olmaktadır. Bu gibi durumlarda, metal iyonunu şelatörlerinin bulunmasıyla oksidasyon yavaşlayabilir ya da durabilir. Antioksidan bileşenlerde var olan metal iyonu şelatlama yeteneği çeşitli spektrofotometrik yöntemlerle belirlenebilmektedir [16]. En yaygın olarak kullanılan, *in vitro* yöntemlerden hidroksil radikal testidir. Yapılan bir çalışmada; sistemde Fenton reaksiyonu sonucu üretildiği bilinen hidroksil radikalının, 5 makroalg (*Laminaria japonica*, *Porphyra haitanensis*, *Ulva pertusa*, *Enteromorpha linza* ve *Bryopsis plumose*) türünden ekstrakte edilen polisakkaritler tarafından uzaklaştırıldığı belirlenmiştir [38]. Demir iyonunu (Fe<sup>3+</sup>) indirgeme gücü antioksidan kapasitesi (FRAP) kullanılan diğer yöntemler arasında olup bazı araştırmacılar makroalg özütlerinin antioksidan kapasitesini belirlemek için kullanmışlardır (2, 18, 52).

Tablo 2. Deniz kaynaklı makroalglerden özüt elde etme yöntemleri, kullanılan çözümler ve *in vitro* antioksidan analiz yöntemleri

Ekstraksiyon Metodu	Kullanılan Çözgen	<i>In vitro</i> Yöntemler	Kaynak
5 farklı katı-sıvı ekstraksiyonu	Su, etanol, aseton, diklorometan, dietyl eter	DPPH, ABTS, TAC (Toplam antioksidan kapasitesi), FRAP	[18]
Oda sıcaklığında 130 rpm hızındaki çalkalayıcıda 16 saat bekletme	Metanol	DPPH, ABTS, FRAP, nitrik oksit radikali süpürme aktivitesi	[52]
Soxhlet ekstraksiyon	Metanol, Etanol, Su	DPPH, Demir iyonu şelatlama yeteneği, İndirgeme gücü analizi	[33]
40°C'de 3 saat süre ile karanlıkta bekletme	%60 Metanol ve %40 su karışımı	FRAP, DPPH	[2]
Bir gece çözümlerde bekletme	Ham özüt (Metanol), fraksiyonlar (hekzan, etil asetat, butanol ve sulu)	ABTS, Hidroksil radikali süpürme aktivitesi, Peroksil radikali süpürme aktivitesi	[56]
Oda sıcaklığında 200 rpm hızında çalkalayıcıda bir gece bekletme	%70 sulu aseton	DPPH, ORAC, Demir iyonu şelatlama yeteneği	[70]
2 farklı sıcak su kullanımı ile ekstraksiyon (Birincisi; kaynayan distile su içerisinde 3 saat bekletilerek, ikincisi; 100 mL distile suda 120°C'de 3 saat otoklavlanarak)	Distile su	DPPH, Hidroksil radikali süpürme aktivite analizi, Oksijen (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) süpürme analizi	[72]
Oda sıcaklığında bekletme	Metanol	Hidroksil radikali süpürme aktivite analizi, DPPH, ABTS, İndirgeme gücü analizi, Geçişli metal iyonu şelatlama aktivitesi	[10]
4 farklı ekstraksiyon yöntemi (90°C'de su ekstraksiyonu, 121°C'de sterilizasyon, Homojenizasyon ve Enzimatik hidroliz)	Su	DPPH, İndirgeme gücü analizi, Süperoksit anyon süpürme aktivitesi, Demir iyonu şelatlama aktivitesi	[73]
Oda sıcaklığında bir gece bekletilip ve 2800 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjleme ile	Su ve Etanol	DPPH, Demir şelatlama aktivitesi, İndirgeme gücü analizi	[13]
Çözgen içerisinde 60°C'de 2 saat süre bekletildikten sonra 18.500 g'de 24°C'de 10 dakika santrifüjleme ile	Etanol	DPPH, Hidroksil radikali süpürme aktivite analizi, İndirgeme gücü analizi	[13]
6 saat süre ile oda sıcaklığında soxhlet cihazı yardımıyla	Etil asetat, Metanol, Propanol, Aseton ve Su	DPPH, İndirgeme gücü analizi, Demir iyonu şelatlama aktivitesi, Süperoksit anyon süpürme aktivitesi	[13]

## DENİZ KAYNAKLI MAKROALG ÖZÜTLERİNİN ANTIOKSİDAN ÖZELLİKLERİ

Makroalg türlerindeki farklılıklara bağlı olarak, algal özütlerin antioksidan kapasitesinin de farklı olduğu yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilmektedir. Kahverengi makroalglerin, yeşil ve kırmızı makroalgelere göre daha iyi antioksidan kapasiteye sahip olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir. Özellikle, *Fucus vesiculosus*, *Ecklonia cava* ve *Sargassum ringgoldianum* gibi bazı türlerin yüksek antioksidan kapasiteye sahip oldukları rapor edilmiştir [25]. Çalışmalar arasında, makroalg özütlerinin antioksidan kapasitesinin birbirleri ile kıyaslanması büyük farklılıklar göstermesinden dolayı zor olmaktadır. Bu farklılıklar; mevsim, çevresel ve genetik faktörler ve ekstraksiyon metodunun farklılığı gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır [68, 74]. Tüm bu nedenlere rağmen, makroalglerden elde edilen özütlerin antioksidan bileşenlerin zengin bir kaynağı olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir [1, 13, 17, 26, 30, 38, 39, 63, 68, 72, 75, 76]. Aynı zamanda araştırmacılar bu özütlerin; ticari antioksidan olarak kullanılan BHA, BHT ve  $\alpha$ -tokoferol gibi maddelerle eşit ya da daha iyi etkiye sahip olduğunu belirtmekte ve algal özütlerin gıda formülasyonlarında kullanılmasını tavsiye etmektedirler [77, 78].

Kahverengi makroalglerin yedi türünden enzimatik yöntemler kullanılarak elde edilen özütlerin, reaktif oksijen türü (ROS)'nün temizlik etkisini belirlemek için dört farklı antioksidan aktivite yöntemi (DPPH serbest radikali, süperoksit anyon, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit) kullanılarak değerlendirilmiştir. Suda çözülebilir özütler hazırlamak için, 5 farklı karbonhidrat ve protein enzimi kullanılarak, enzimatik olarak hidrolize edilmiştir. Enzimatik özütlerin hidrojen peroksit temizlik aktivitesinin yaklaşık olarak %90 etkiye sahip olduğu belirtilmekte ve ayrıca ticari antioksidan olarak kullanılan BHT ve BHA'dan daha yüksek aktivite gösterdikleri ifade edilmektedir. Kahverengi makroalglerin enzimatik özütlerinin değerli antioksidan kaynaklar olabileceği bildirilmektedir [75].

Kahverengi alglerden *Scytosiphon lomentaria* Japonya'nın Noto bölgesinde geleneksel gıda olarak tüketilmektedir. Makroalgün sulu özütünün toplam fenol içeriği 5.5 mg kateşin eşdeğeri bulunmuş olup, güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Fakat etanolik özütünün antioksidan aktivitesi sulu özüt ile karşılaştırıldığında ya çok az bir fark olduğu ya da hiç olmadığı belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi sadece demir şelatlama yöntemi ile değil aynı zamanda süperoksit anyon radikali indirgeme yöntemi ile de belirlenmiştir [6, 79].

Ganesan ve ark. [4], Hindistan kırmızı alglerinden (*Euchema kappaphycus*, *Gracilaria edulis* ve *Acanthophora spicifera*) sağlanan metanolik özütlerin ve onların farklı çözgen fraksiyonlarının antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Kullanılan makroalglerin ham özütleri ve fraksiyonlarının antioksidan aktivite sergilediklerini ve bu özütlerin doğal antioksidan bileşenlerin bir kaynağı olarak kullanılabileceğini önermektedirler. Toplam (metanol) özütten sağlanan

farklı çözgen fraksiyonlarının sonuçları toplam özütle kıyaslandığında daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda türlerin antioksidan aktivitelerinin doza bağlı olarak değiştiğini ve özütlerin konsantrasyonlarının artmasıyla antioksidan aktivitenin de arttığı bildirmektedirler. Makroalglerde bulunan biyoaktif bileşenlerin, farklı gıda ve eczacılık ürünlerinde doğal antioksidan madde olarak kullanılmasının büyük bir potansiyele sahip olduğu ve ileride büyük bir atılım olarak beklendiği bildirilmektedir.

İzlanda'daki makroalglerin on türü üzerinde %70 aseton ve su karışımı kullanılarak ekstrakte edilen alglerin potansiyel antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, farklı makroalg türleri farklı oranlarda toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Üç fukoid türün (*F. vesiculosus*, *F. serratus*, ve *A. nodosum*) DPPH ve peroksil radikallere (demir şelatlama kabiliyeti) karşı en yüksek temizleme aktivitesi gösterdiği saptanmıştır [25, 70].

El-Baky ve ark. [80], *Ulva lactuca* türünün diklorometan: metanol (1:1 v/v) özütlerinin ve piyasada kullanılan bazı sentetik antioksidanların, antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi kullanarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar IC<sub>50</sub> değerini *Ulva lactuca* özütleri için 16.50 mg/mL, BHA için 13.10 mg/mL, BHT için 12.20 mg/mL ve  $\alpha$ -tokoferol için 14.40 mg/mL olarak tespit etmişlerdir. *Ulva lactuca* özütleri sentetik antioksidanlarla (BHA, BHT ve  $\alpha$ -tokoferol) kıyaslandığında antioksidan etkisinin çok iyi olduğunu ve insan sağlığı açısından zararlı etkileri bulunan bu sentetik antioksidanlar yerine doğal antioksidanlar olarak bu özütlerin tercih edilebileceğini belirtmektedirler.

## DENİZ KAYNAKLI MAKROALG ÖZÜTLERİNİN YAĞ OKSİDASYONUNA KARŞI GIDALARDA KORUYUCU MADDE OLARAK KULLANIMI

Yağlı gıdaları, duyuusal ve besinsel bileşen özelliklerini kaybetmemeleri için oksidasyona karşı korumak temel bir unsurdur [16]. Bunun için gıdalarda doğal ve sentetik antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Yağ stabilite testlerinde kullanılan çoğu metot, sıcaklıkla hızlandırılmış depolama ve radikaller kullanılarak gerçek olmayan şartları kapsamına rağmen yağ peroksidasyonlarından korumanın bir değerlendirmesini sağlamaktadır. Peroksit değeri (lipid oksidasyonunun birincil ürünleri olan hidroperoksitlerin içeriğinin ölçülmesi), konjuge-dien (yağ asitlerinin otooksidasyonunun göstergesi), para-anisidin değeri (hidroperoksitlerin dekompozisyonu ile açığa çıkan ikincil ürünlerin ölçülmesi), tiyobarbutirikasit-reaktif maddeler (çoklu doymamış yağ asitlerinin ikincil dekompozisyon ürünleri ve malonaldehit miktarını ölçmek) ve uçucu bileşenler (ürün kalitesi ve istenmeyen lezzetin gelişimi ile ilgili) gibi farklı analizlerle gıdalarda oksidasyon dereceleri belirlenebilmektedir [16]. Araştırmacılar tarafından yapılan gıda ve gıda model sistemlerinde makroalg özütlerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar Tablo 3'te verilmektedir.

Athukorala ve ark. [78], deniz kaynaklı kırmızı makroalg türü olan *Grateloupia filicina* özütünün 65°C sıcaklıkta tutulan balık yağı ve linoleik asitler üzerine antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. Linoleik asit ve balık yağına uygulanan bu algal özüt (%0.01, %0.03 ve %0.05), BHT, BHA ve  $\alpha$ -tokoferol gibi ticari antioksidanların %0.01 konsantrasyonlarıyla kıyaslanmıştır. %0.05 konsantrasyonu uygulanan alg özütünün balık yağı ve linoleik asidin oksidasyonunun engellenmesinde kullanılan tüm ticari antioksidanlardan daha iyi aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Santoso ve ark. [81], Endonezya makroalglerinden (*Caulerpa sertularoides*, *Cladophoropsis vauchaeriaeformis*, *Halimeda macroloba*, *Ulva reticulata*, *Padina australis*, *Sargassum polycystum* ve *Turbinaria conoides*) sağlanan metanolik özütlerinin ringa balığı yağı emülsiyon sisteminde antioksidan aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışmada, yağ oksidasyonunu peroksit değeri ve demir iyonu şelatlama etkisi analizleri ile 50°C'de bekletilen örneklerde 3. ve 24. saat sonunda yaptıkları ölçümler ile belirlemişlerdir. Demir iyonunun varlığında 3 saat inkübasyon sonrası ve demir iyonu içeren ve içermeyen yağ emülsiyonlarının 24 saat inkübasyon sonrası, kontrol grubu ile kıyaslandığında makroalg özütlerinin peroksit değerini önemli düzeyde geciktirdiğini saptamışlardır. Demir iyonunun yokluğunda inkübasyonun 3. saatinde, 4 makroalg özütünün (*C. vauchaeriaeformis*, *U. reticulata*, *S. polycystum* ve *T. conoides*) pro-oksidan olarak etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılara göre; makroalglerden sağlanan metanol özütleri sadece polifenolik bileşenleri değil aynı zamanda çoklu doymamış yağ asitleri (EPA vb.), mineral (bakır, demir vb.) ve pigment (klorofil vb.) gibi diğer bileşenleri de içermektedir. Bu bileşenler, polifenolik bileşenlerle interaksyona girebilmekte ya da direkt olarak emülsiyon sistemlerini etkilemektedir. Bu nedenle, bir pro-oksidan gibi etki gösterebilmektedir. Dahası, fenolik bileşenlerin antioksidan aktivitesi lipid sistemlerine, metal katalizleme etkisine, sıcaklığa, antioksidanın konsantrasyon oranına ve oksidasyon düzeyini belirlemek için kullanılan metoda bağlı olarak değişmektedir. Araştırmacılar, bu çalışma ile demir katalizörü polifenolik bileşenlerin antioksidan ya da pro-oksidan olarak etki göstermesinin önemli bir role sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Makroalglerin ham özütlerinin sadece antioksidatif bileşenleri değil aynı zamanda pro-oksidatif bileşenleri de içerdiğini ve pro-oksidan bileşenlerin küçük bir miktarı varsa bile oksidasyonun başlangıcını etkileyebildiğini bildirmektedirler. Yapılan bu çalışma ile demir katalizörünün, antioksidan ya da pro-oksidan olarak görev almasının polifenolik bileşenlerin rolleri üzerine önemli bir etkiye sahip olabileceği belirtilmektedir.

Kindleysides ve ark. [68], Yeni Zellanda mezgit (*Macruronus novaezealandiae*) karaciğer yağlarının içerisinde doğal antioksidan madde olarak Yeni Zellanda makroalg (*Ecklonia radiata*, *Macrocystis pyrifera*, *Champia sp.* ve *Porphyra sp.*) özütlerini ve sentetik bir antioksidan madde olan BHT'yi aynı konsantrasyonlarda eklemiş ve lipid oksidasyonu üzerine etkilerini belirlemek için 60°C sıcaklıkta hızlı oksidasyon sağlayarak

oksidasyon değişimlerini incelemişlerdir. Tüm makroalg özütlerinin balık yağlarında oksidasyonu engellediğini belirlenmiş ve en iyi özütün kahverengi bir alg olan *E. radiata* olduğunu ve balık yağında antioksidan madde olarak makroalg özütlerinin sentetik antioksidanlar yerine kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Moroney ve ark. [82], kahverengi makroalgden (*Laminaria digitata*) elde edilen laminarin (%9.3) ve fukoidan (%7.8) içeren püskürtmeli kurutucu ile kurutulan özütler %0.01, %0.1 ve %0.5 oranlarında domuz kıymasına eklemişlerdir. Taze ve pişirilmiş domuz kıyması, %80 O<sub>2</sub>: %20 CO<sub>2</sub> ve %70 N<sub>2</sub>: %30 CO<sub>2</sub> içeren modifiye atmosferde paketlenerek 14 gün 4 °C'de depolanmışlardır. Taze ve pişmiş domuz köftelerinin lipid oksidasyon düzeyleri TBARS yöntemi ile belirlenmiş ve depolama süresince tüm gruplarda TBARS değeri yükselmiştir. Taze domuz köftelerinde TBARS değerindeki artış; %0.5 laminarin/fukoidan (L/F) içeren grup > %0.1 L/F içeren grup > Kontrol > %0.01 L/F içeren grup > çay kateşini içeren grup olarak belirlenmiştir. Depolama günlerinde kontrol grupları (kontrol ve çay kateşini içeren pozitif kontrol) ve özüt muamele grupları (%0.1 L/F ve %0.01 L/F) arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Çay kateşini içeren domuz köftelerinin lipid oksidasyon düzeyinin en düşük grup olduğu tespit edilmiştir. %0.5 L/F içeren taze domuz köftelerinin her ölçüm gününde en yüksek TBARS değerine sahip olarak lipidler üzerinde pro-oksidan etkiye neden olduğu saptanmıştır. Pro-oksidan etki eşit düzeyde tuz içeren domuz köftelerinde de gözlenmiştir. %0.5 L/F grubunda sodyum varlığının taze domuz köftelerinde lipid oksidasyonun katalizinden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. L/F özütleri aynı zamanda et ürünlerinde lipid oksidasyonunu arttırdığı bilinen demir (250 mg/kg kuru madde üzerinden) ve bakır (20 mg/kg kuru madde üzerinden) gibi mineral maddeleri de içermektedir [82]. Özellikle demir gibi geçişli metaller direkt ya da diğer başlangıç faktörlerinin oluşumunu kolaylaştırarak dolaylı olarak lipid oksidasyonunu başlatabilir. Metaller aynı zamanda lipid hidroperoksitlerin yıkımını katalizleyerek lipid oksidasyonunun yayılımında rol oynamaktadır ve demir, et ürünlerinde oksidatif ransiditenin temel katalizörüdür [82]. L/F özütlerinde bulunan mineral maddelerin, taze domuz köftelerinde lipid oksidasyonunun katalizörlüğünden sorumlu olabileceği bildirilmektedir [82]. Özütlerde bulunan pro-oksidan bileşenler (sodyum, bakır ve demir) lipid oksidasyonu üzerine pro-oksidan bir etki yaptığı belirtilmektedir. Bununla birlikte, %0.01 düzeyinde L/F özütleri içeren grup diğer muamele gruplarının tersine domuz köftelerinin kabul edilebilirliği, tekstürü, rengi ve lipid oksidasyonunu olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir. Et ürünlerinde rafine edilmiş ya da saflaştırılmış laminarin ve fukoidanın etkilerini incelemek için daha fazla araştırma yapma gerekliliğinin olduğu bildirilmektedir [82].

Wang ve ark. [83], doğal orjinli potansiyel antioksidan aktiviteye sahip olan bileşiklerin gıdalarda oksidatif yıkımın geciktirilmesi, gıda güvenliğinin artırılması bakımından kullanılabileceğini belirtmektedirler. Ancak, hayvan ya da gıda modelleri kullanılarak *in vivo* yolla mekanizmanın tanımlanması ve aktif bileşiklerin



karakterizasyonu, saflaştırılması, fraksiyonları ve detaylı olarak araştırılıp, açıklığa kavuşturulmasının ekstraksiyonun optimizasyonu gibi konuların gelecekte gerekli olduğunu belirtmektedirler [3].

Tablo 3. Deniz kaynaklı makroalg özütlerinin gıda ve gıda model sistemlerinde kullanımı

Gıdalarda Makroalg Özütlerinin Kullanımı	Sonuç	Kaynaklar
Ferrotiyosiyanat reaktifini içeren bir ortamda linoleik asidin oksidasyonu üzerine <i>Kappaphycus alvarezii</i> özütünün antioksidan etkisi araştırılmıştır.	<i>K. alvarezii</i> özütünün pozitif kontrol olarak kullanılan BHT'den daha yüksek engelleyici bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.	[33]
Linoleik asit emülsiyon modelinde, dulce ( <i>Palmaria palmata</i> ) metanol özütünün antioksidan etkisi araştırılmıştır.	Dulce özütünün lipit oksidasyon ürünlerinin (TBARS ve konjuge-dien gibi) üretimini engellenmesinde etkili olduğu bildirilmektedir.	[10]
16 farklı makroalg özütünün gerçek gıda sistemlerinde (balık yağı, yağ-su emülsiyonları ve balık kıyması) antioksidan aktivitelerini test etmişlerdir.	<i>Fucus</i> türleri ve <i>Polysiphonia fucoides</i> türü <i>in vitro</i> testlerde en yüksek antioksidan ve fenolik içeriği göstermiştir. Bununla birlikte, <i>Fucus serratus</i> özütünün test edilen gerçek gıda sistemlerinin tümünde başarısız olduğu ancak sürpriz bir şekilde <i>P. fucoides</i> özütünün test edilen tüm gıda sistemlerinde ve balık yağının, 60 °C sıcaklık ve yüksek oksijen basıncına rağmen oksidasyonu önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir.	[84]
Balık yağı ile zenginleştirilmiş mayonezlere lipit oksidasyonu engellemek için <i>Fucus vesiculosus</i> 'un 4 farklı (aseton, etanol ve 2 farklı su) özütü eklenmiştir.	Aseton ve etanol özütlerinin gıdalarda kullanılan sentetik antioksidanların yerine kullanılması konusunda umut verici sonuçlar bulunmuştur.	[85]
Morina balığı yan ürünlerinden enzimatik hidrolizle hazırlanan balık protein hidrolizatlarına <i>Fucus vesiculosus</i> özütleri eklenmiş ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) ve lipit hidroperoksidaz analiz yöntemleri ile lipit oksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır.	Oksidasyon ve antioksidan analiz sonuçları, makroalg özütlerinin işleme sırasında koruma etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Kahverengi makroalgden elde edilen polifenollerin kombinasyonu ile hazırlanan balık protein hidrolizatının, fonksiyonel gıda ve nutrasötik bileşenler olarak hayli uygun olduğu ve bu yöntemle düşük değerli olan hidrolizatların yüksek değerli hale getirildiği belirtilmektedir.	[86]
<i>Fucus serratus</i> ve <i>Polysiphonia fucoides</i> makroalglerinden saf etanol, %50 etanol ve su özütleri elde edilmiştir. Suyun içerisinde %5 yağ içeren emülsiyonlarda demir varlığında ve yokluğunda algal özütlerin antioksidan aktivitesini araştırmışlardır.	<i>P. fucoides</i> 'in %50 etanol özütünün demirin varlığında ve yokluğunda <i>in vitro</i> testlerde en yüksek aktiviteyi gösterdiği, analizlerin bazılarında çok yüksek antioksidan aktivite ve fenolik madde içermesine rağmen her iki makroalgden saf etanol özütlerinin pro-oksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak; <i>P. fucoides</i> 'in %50 etanolik özütün BHT gibi sentetik antioksidanlara benzer antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve doğal antioksidanların potansiyel kaynağı olabileceği rapor edilmiştir.	[87]
<i>Fucus vesiculosus</i> makroalginden ekstrakte edilen su özütü ve etil asetat fraksiyonlarının antioksidan aktivitesi balık yağı ile zenginleştirilmiş gıdalarda (süt ve mayonez) değerlendirilmiştir.	<i>F. vesiculosus</i> 'un özütlerinin gıdalarda antioksidan olarak kullanımının gıda sistemlerine bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda antioksidan etkinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiği, yüksek fenolik madde ve karotenoid madde içeriği, metal şelatlama aktivitesi, radikal süpürme aktivitesiyle ilgili olduğu bildirilmektedir.	[88]
Deniz kaynaklı gıda model sistemlerinde oksidasyonu önlemek için <i>Fucus vesiculosus</i> özütü ve morina protein hidrolizatının yeterliliğini tahmin etmek için <i>in vitro</i> antioksidan analizlerinin verimi araştırılmıştır. Bunun için yıkanmış morina kıymaları ve demir içeren morina karaciğer yağı emülsiyonunun lipit oksidasyonuna karşı <i>Fucus vesiculosus</i> 'un etil asetat özütü ve morina hidrolizatı eklenmiştir.	Balık yağı emülsiyonları için protein hidrolizatlarının, morina kıymaları için ise <i>F. vesiculosus</i> özütlerinin lipit oksidasyonuna karşı antioksidan madde olarak mükemmel bir potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir.	[89]
<i>Fucus serratus</i> ve <i>Polysiphonia fucoides</i> makroalglerinden sağlanan saf etanol, %50 etanol ve su özütleri uskumru kıymasına eklenerek lipit ve protein oksidasyonu üzerine etkileri incelenmiştir.	En iyi antioksidatif etkiyi <i>P.fucoides</i> 'in %50 etanol özütünün gösterdiği saf etanol özütlerinin her iki türde de pro-oksidan etki gösterdiği ve su özütlerinin düşük fenolik içeriğinden dolayı antioksidan aktivite göstermediği bildirilmiştir.	[90]

## SONUÇ

Gıda içerisinde bulunan yağlarda meydana gelen oksidasyon önemli kimyasal kalite parametrelerinden biridir. Oksidasyona uğramış yağlar sadece istenmeyen lezzet ve kokunun oluşmasına yol açmaz aynı zamanda canlı vücut sistemlerinde istenmeyen hastalıklara da neden olabilmektedir. Yağ oksidasyonunun engellenmesi gıdaların raf ömrünün uzaması ve insanlarda

hastalıkların önlenmesinde yardımcı bir etken olmasından dolayı önemlidir. Günümüzde, gıdalarda doğal ve sentetik antioksidan maddelerin kullanımı, ilgili otoriteler tarafından yasal sınırlamalar getirilerek maksimum limitleri belirlenmiştir. Son zamanlarda, tüketicilerin daha da bilinçlenmesi ve tükettikleri gıdanın içerisinde bulunan koruyucu maddelerin sentetik mi yoksa doğal mı olduğunu sorgulamaya başlamasından ve sentetik antioksidan maddelerin sağlık açısından

zararlı olabileceği şüphesi ile gıda sektöründe doğal antioksidan maddelerin kullanımına yönelik eğilimler artmaktadır. Bu nedenle; makroalg özütlerinde var olan bu doğal antioksidan bileşenler üzerine saflaştırma çalışmaları ya da ham özütün kullanılabilirliği, özellikleri, kimyasalın etki mekanizması ve uygulamalı sistemlerde mekanizması, makroalglerin antioksidan kapasitelerini ve gıdalarda kullanımını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Şu ana kadar yapılan çalışmaların gelecek için umut verici sonuçlarına dayanarak, deniz kaynaklı makroalg özütlerinin antioksidan maddelerin doğal bir kaynağı olarak gıdalarda kullanımının yaygınlaşacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- [1] Song, H., Zhang, Q., Zhang, Z., Wang, J. (2010). *In vitro* antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*. *Carbohydrate Polymers* 80(4), 1057-1061.
- [2] O'sullivan, A.M., O'callaghan, Y.C., O'grady, M.N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D.J., Kerry, J.P., O'brien, N.M. (2011). *In vitro* and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry*, 126(3), 1064-1070.
- [3] Samaraweera, A.M., Vidanarachchi, J.K., Kurukulasuriya, M.S. (2012). Industrial Applications of Macroalgae. In: Handbook of Marine Macroalgae. Biotechnology and Applied Phycology, Edited by Kim, S.K., Wiley-Blackwell Publishing Ltd., pp. 500-521, Oxford, United Kingdom.
- [4] Ganesan, P., Kumar, C.S., Bhaskar, N. (2008). Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99(8), 2717-2723.
- [5] Ngo, D.H., Wijesekara, I., Vo, T.S., Ta, Q.V., Kim, S.K. (2011). Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: an overview. *Food Research International*, 44(2), 523-529.
- [6] Venugopal, V. (2009). Marine products for healthcare. Functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean. CRS press, Taylor and Francis group, pp. 527, Boca Raton, FL.
- [7] Pokorny, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science and Technology*, 2, 223-227.
- [8] Kitts, D.D. (1996). Toxicity and safety of fats and oil. In: Baileys Industrial Oil and Fat Products, Edited by Hui, Y.H., 5<sup>th</sup> Edition, Vol. 1, Wiley-Interscience, p. 215-280, New York, USA.
- [9] Wijesekara, I., Pangestuti, R., Kim, S.K. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 14-21.
- [10] Yuan, Y.V., Bone, D.E., Carrington, M.F. (2005). Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) evaluated *in vitro*. *Food Chemistry*, 91(3), 485-494.
- [11] Akyıl, S., İlter, I., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F., 2016. Alglerden Elde Edilen Yüksek Değerlikli Bileşiklerin Biyoaktif/Biyolojik Uygulama Alanları. *Akademik Gıda*, 14(4), 418-423.
- [12] Bergman, M., Perelman, A., Dubinsky, Z., Grossman, S. (2003). Scavenging of reactive oxygen species by a novel glucuronated flavonoid antioxidant isolated and purified from spinach. *Phytochemistry*, 62(5), 753-762.
- [13] Sabeena Farvin, K.H., Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1670-1681.
- [14] O'sullivan, A.M., O'callaghan, Y.C., O'grady, M.N., Hayes, M., Kerry, J.P., O'brien, N.M. (2013). The effect of solvents on the antioxidant activity in CaCO<sub>2</sub> cells of Irish brown seaweed extracts prepared using accelerated solvent extraction (ASE). *Journal of Functional Foods*, 5(2), 940-948.
- [15] Cox, S., Turley, G.H., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N., Jaiswal, A.K. (2014). Antioxidant potential and antimicrobial efficacy of seaweed (*Himantalia elongata*) extract in model food systems. *Journal of Applied Phycology*, 26(4), 1823-1831.
- [16] Balboa, E.M., Conde, E., Moure, A., Falque, E., Dominguez, H. (2013). *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1764-1785.
- [17] Duan, X.J., Zhang, W.W., Li, X.M., Wang, B.G., (2006). Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry*, 95(1), 37-43.
- [18] Dinh, T.V., Saravana, P.S., Woo, H.C., Chun, B.S., (2018). Ionic liquid-assisted subcritical water enhances the extraction of phenolics from brown seaweed and its antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, 196, 287-299.
- [19] Jimenez-Escrig, A., Jimenez-Jimenez, I., Pulido, R., Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 81, 530-534.
- [20] Ye, H., Wang, K., Zhou, C., Liu, J., Zeng, X. (2008). Purification, anti-tumor and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chemistry*, 111, 428-432.
- [21] Wang, B.G., Zhang, W.W., Duan, X.J., Li, X.M., 2009a. *In vitro* antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). *Food Chemistry*, 113(4), 1101-1105.
- [22] Zubia, M., Payri, C., Deslandes, E. (2008). Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia). *Journal of Applied Phycology*, 20(6), 1033-1043.
- [23] Yuan, Y.V., Westcott, N.D., Hu, C., Kitts, D.D. (2009). Mycosporine-like amino acid composition of the edible red alga, *Palmaria palmata* (dulse) harvested from the west and east coasts of Grand Manan Island, New Brunswick. *Food Chemistry*, 112(2), 321-328.

- [24] Nakai, M., Kageyama, N., Nakahara, K., Miki, W., (2006). Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Marine Biotechnology*, 8(4), 409-414.
- [25] Wang, T., Olafsdottir, G., Jonsdottir, R., Kristinsson, H.G., Johannsson, R. (2011). Functional and nutraceutical ingredients from marine macroalgae. In: Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications, Edited by Alasalvar, C., Miyashita, K., Shahidi, F. and Wanasundara, U., Wiley-Blackwell Publishing Ltd., pp. 508-521, Oxford, UK.
- [26] Lim, S.N., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., Ang, P.O. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3862-3866.
- [27] Huang, H.L., Wang, B.G. (2004). Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweed collected from the Qingdao coastline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 4993-4997.
- [28] Koyanagi, S., Tanigawa, N., Nakagawa, H., Soeda, S., Shimeno, H. (2003). Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and anti-tumor activities. *Biochemical Pharmacology*, 65(2), 173-179.
- [29] Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M., Nagata, T. (1999). Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 63(3), 605-607.
- [30] Ruperez, P., Ahrazem, O., Leal, J.A. (2002). Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 840-845.
- [31] Senevirathne, M., Kim, S.H., Siriwardhana, N., Ha, J.H., Lee, K.W., Jeon, Y.J. (2006). Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International*, 12, 27-38.
- [32] Keyrouz, R., Abasq, M.L., Le Bourvellec, C., Blanc, N., Audibert, L., Argall, E., Hauchard, D. (2011). Total phenolic contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of seaweeds from Brittany. *Food Chemistry*, 126(3), 831-836.
- [33] Kumar, K.S., Ganesan, K., Rao, P.V.S. (2008). Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. *Food Chemistry*, 107(1), 289-295.
- [34] Zaragoza, M.C., Lopez, D., Saiz, M.P., Poquet, M., Perez, J., Puig-Parellada, P., Marmol, F., Simonetti, P., Gardana, C., Lerat, Y., Burtin, P., Inisan, C., Rousseau, I., Besnard, M., Mitjavila, M.T. (2008). Toxicity and antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of two *Fucus vesiculosus* extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7773-7780.
- [35] Devi, K.P., Suganthy, N., Kesika, P., Pandian, S.K. (2008). Bioprotective properties of seaweeds: *in vitro* evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8, 38.
- [36] Ren, B., Chen, C., Li, C., Fu, X., You, L., Liu, R.H. (2017). Optimization of microwave-assisted extraction of *Sargassum thunbergii* polysaccharides and its antioxidant and hypoglycemic activities. *Carbohydrate Polymers*, 173, 192-201.
- [37] Palanisamy, S., Vinosha, M., Marudhupandi, T., Rajasekar, P., Prabhu, N.M. (2017). Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, *in vitro* antioxidant and anticancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 405-412.
- [38] Costa, L.S., Fidelis, G.P., Cordeiro, S.L., Oliveira, R.M., Sabry, D.A., Camara, R.B.G., Nobre, L.T.D.B., Costa, M.S.S.P., Almeida-Lima, J., Farias, E.H.C., Leite, E.L., Rocha H.A.O. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 64(1), 21-28.
- [39] Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hou, Y., Zhang, Q. (2010). Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity *in vitro*. *Carbohydrate Polymers*, 82(1), 118-121.
- [40] Khalafu, S.H.S., Aida, W.M.W., Lim, S.J. Maskat, M.Y. (2017). Effects of deodorisation methods on volatile compounds, chemical properties and antioxidant activities of fucoidan isolated from brown seaweed (*Sargassum* sp.). *Algal Research*, 25, 507-515.
- [41] Souza, M.C.R.D., Marques, C.T., Dore, C.M.G., Silva, F.R.F.D., Rocha, H.A.O., Leite, E.L. (2007). Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 19(2), 153-160.
- [42] Ayyad, S.E.N., Ezmirly, S.T., Basaif, S.A., Alarif, W.M., Badria, A. F., Badria, F.A. (2011). Antioxidant, cytotoxic, antitumor, and protective DNA damage metabolites from the red sea brown alga *Sargassum* sp. *Pharmacognosy Research*, 3, 160-165.
- [43] Ragubeer, N., Limson, J.L., Beukes, D.R. (2012). Electrochemistry-guided isolation of antioxidant metabolites from *Sargassum elegans*. *Food Chemistry*, 131, 286-290.
- [44] Cahyana, A.H., Shuto, Y. And Kinoshita, Y. (1992). Pyropheophytin a as an antioxidative substance from the marine algae, arame (*Eisenia bicyclis*). *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56(10), 1533-1535.
- [45] Nakamura, T., Nagayama, K., Uchida, K., Tanaka, R. (1996). Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fisheries Science*, 62, 923-926.
- [46] Yan, X.J., Li, X.C., Zhou, C.X., Fan, X. (1996). Preservation of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *Journal of Applied Phycology*, 8, 201-203.
- [47] Ahn, G.N., Kim, K.N., Cha, S.H., Song, C.B., Lee, J., Heo, M.S., Yeo, I.K., Lee, N.H., Jee, Y.H., Kim, J.S., Heu, M.S., Jeon, Y.J. (2007). Antioxidant activities of phlorotannins purified

- from *Ecklonia cava* on free radical scavenging using ESR and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated DNA damage. *European Food Research Technology*, 226, 71-79.
- [48] Shibata, T., Ishimaru, K., Kawaguchi, S., Yoshikawa, H., Hama, Y., 2008. Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *Journal of Applied Phycology*, 20(5), 705-711.
- [49] Li, Y., Qian, Z.J., Ryu, B., Lee, S.H., Kim, M.M., Kim, S.K., 2009. Chemical components and its antioxidant properties *in vitro*: An edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 1963-1973.
- [50] De La Coba, F., Aguilera, J., Figueroa, F.L. De Galvez, M.V., Herrera, E. (2009). Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *Journal of Applied Phycology*, 21, 161-169.
- [51] Yoshiki, M., Tsuge, K., Tsuruta, Y., Yoshimura, T., Koganemaru, K., Sumi, T., Matsui, T., Matsumoto, K. (2009). Production of new antioxidant compounds from mycosporine-like amino acid, porphyra-334 by heat treatment. *Food Chemistry*, 113, 1127-1132.
- [52] Arulkumar, A., Rosemary, T., Paramasivam, S., Rajendran, R.B. (2018). Phytochemical composition, *in vitro* antioxidant, antibacterial potential and GC-MS analysis of red seaweeds (*Gracilaria corticata* and *Gracilaria edulis*) from Palk Bay, India. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 63-71.
- [53] Huang, D., Ou, B., Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [54] Diaz-Rubio, M.E., Perez-Jimenez, J. Saura-Calixto, F. (2009). Dietary fiber and antioxidant capacity in *Fucus vesiculosus* products. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 23-34.
- [55] Cofrades, S., Lopez-Lopez, I., Bravo, L., Ruiz-Capillas, C., Bastida, S., Larrea, M.T., Jimenez-Colmenero, F. (2010). Nutritional and antioxidant properties of different brown and red Spanish edible seaweeds. *Food Science and Technology International*, 16, 361-370.
- [56] Sachindra, N.M., Airanthi, M.K.W.A., Hosokawa, M., Miyashita, K. (2010). Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of extracts from Indian seaweeds. *Journal of Food Science Technology*, 47(1), 94-99.
- [57] Demirel, Z., Yılmaz-Koz, F.F., Karabay-Yavaşoğlu, U.N., Özdemir, G., Sukatar, A., 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean Sea. *Journal of Serbian Chemical Society*, 74(6), 619-628.
- [58] Boonchum, W., Peerapornpisal, Y., Kanjanapothi, D., Pekkoh, J., Pumas, C., Jamjai, U., Amornlerdpison, D., Noiraksar, T., Vacharapiyasophon, P. (2011). Antioxidant activity of some seaweed from the Gulf of Thailand. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13, 95-99.
- [59] Cotelle, N., Bernier, J.L., Catteau, J.P., Pommery, J., Wallet, J.C., Gaydou, E.M. (1996). Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(1), 35-43.
- [60] Ganesan, K., Suresh Kumar, K., Subba Rao, P.V. (2011). Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(1), 73-78.
- [61] Kang, K., Park, Y., Hwang, H.J., Kim, S.H., Lee, J.G., Shin, H.C., 2003. Antioxidative properties of brown algae polyphenolics and their perspectives as chemopreventive agents against vascular risk factors. *Archives of Pharmacol Research* 26(4): 286-293.
- [62] Kuda, T., Kunii, T., Goto, H., Suzuki, T., Yano, T. (2007). Varieties of antioxidant and antibacterial properties of *Ecklonia stolonifera* and *Ecklonia kurome* products harvested and processed in the Noto Peninsula, Japan. *Food Chemistry*, 103(3), 900-905.
- [63] Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H., Araki, Y. (2005a). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(7), 625-633.
- [64] Zahra, R., Mehrnaz, M., Farzaneh, V., Kohzad, S. (2007). Antioxidant activity of extract from a brown alga, *Sargassum boveanum*. *African Journal of Biotechnology*, 6, 2740-2745.
- [65] Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M., Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116(3), 693-701.
- [66] Cho, M.L., Lee, H.S., Kang, I.J., Won, M.H., You, S.G., 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chemistry* 127(3): 999-1006.
- [67] Prior, R.L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsch-Woodill, M., Huang, D., Ou, B., Jacob, R. (2003). Assay for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC<sub>FL</sub>)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3273-3279.
- [68] Kindleysides, S., Quek, S.Y., Miller, M.R. (2012). Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. *Food Chemistry*, 133, 1624-1631.
- [69] Price, J.A., Sanny, C.G., Shevlin, D. (2006). Application of manual assessment of oxygen radical absorbent capacity (ORAC) for use in high throughput assay of "total" antioxidant activity of drugs and natural products. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 54(1), 56-61.
- [70] Wang, T., Jonsdottir, R., Olafsdottir, G. (2009b). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry*, 116(1), 240-248.

- [71] Plaza, M., Amigo-Benavent, M., Del Castillo, M.D., Ibanez, E., Herrero, M. (2010). Facts about the formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. *Food Research International*, 43(10), 2341-2348.
- [72] Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., Phromkunthong, W. (2009). Antioxidant activities of four edible seaweeds from the Southern coast of Thailand. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 218-223.
- [73] Lin, H., Tsai, W., Chiu, T. (2012). Antioxidant properties of seven cultivated and natural edible seaweed extracts from Taiwan. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21(3), 248-264.
- [74] Moon, J-K., Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1655-1666.
- [75] Heo, S.J., Park, E.J., Lee, K.W., Jeon, Y.J. (2005). Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweed. *Bioresource Technology*, 96(14), 1613-1623.
- [76] Yuan, H., Song, J. (2005). Preparation, structural characterization and *in vitro* anti-tumor activity of kappa-carrageenan oligosaccharide fraction from *Kappaphycus striatum*. *Journal of Applied Phycology*, 17(1), 7-13.
- [77] Athukorala, Y., Lee, K.W., Song, C., Ahn, C.B., Shin, T.S., Cha, Y.J., Shahidi, F., Jeon, Y.J., (2003a). Potential antioxidant activity of marine red algae *Grateloupia filicina* extracts, *Journal of Food Lipids*, 10(3), 251-265.
- [78] Athukorala, Y., Lee, K.W., Shahidi, F., Heu, M.S., Kim, H.T., Lee, J.S., Jeon, Y.J. (2003b). Antioxidant efficacy of extracts of an edible red alga (*Grateloupia filicina*) in linoleic acid and fish oil. *Journal of Food Lipids*, 10(4), 313-327.
- [79] Kuda, T., Tsunekawa, M., Hishi, T., Araki, Y. (2005b). Antioxidant properties of dried kayamonori, a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (*Scytosiphonales*, *Phaeophyceae*). *Food Chemistry*, 89(4), 617-622.
- [80] El-Baky, H.H.A., El-Baz, F.K., El-Baroty, G.S. (2009). Natural preservative ingredient from marine alga *Ulva lactuca* L. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(9), 1688-1695.
- [81] Santoso, J., Yoshie-Stark, Y., Suzuki, T. (2004). Anti-oxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fisheries Science*, 70(1), 183-188.
- [82] Moroney, N.C., O'grady, M.N., O'doherty, J.V., Kerry, J.P. (2013). Effect of a brown seaweed (*Laminaria digitata*) extract containing laminarin and fucoidan on the quality and shelf-life of fresh and cooked minced pork patties. *Meat Science*, 94(3), 304-311.
- [83] Wang, H., Chiu, L.C.M., Ooi, V.E.C., Ang Jr, P.O. (2010). A potent antitumor polysaccharide from the edible brown seaweed *Hydroclathrus clathratus*. *Botanica Marina*, 53(3), 265-274.
- [84] Sabeena Farvin, K.H., Jacobsen, C. (2012). New natural antioxidants for protecting omega-3 rich products. *Lipid Technology*, 24(3), 59-62.
- [85] Honold, J.P., Jacobsen, C., Jonsdottir, R., Kristinsson, H.G., Hermund, D.B. (2016). Potential seaweed-based food ingredients to inhibit lipid oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise. *European Food Research and Technology*, 242, 571-584.
- [86] Halldorsdottir, S.M., Sveinsdottir, H., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G., Kristinsson, H.G. (2014). High quality fish protein hydrolysates prepared from by-product material with *Fucus vesiculosus* extract. *Journal of Functional Foods*, 9, 10-17.
- [87] Sabeena Farvin, K.H., Jacobsen, C. (2015). Antioxidant activity of seaweed extracts: *in vitro* assays, evaluation in 5% fish oil-in-water emulsions and characterization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 571-587.
- [88] Hermund, D., Iltas, B., Honold, P., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H., Jacobsen, C. (2015). Characterisation and antioxidant evaluation of Icelandic *F. vesiculosus* extracts *in vitro* and in fish-oil-enriched milk and mayonnaise. *Journal of Functional Foods*, 19, 828-841.
- [89] Jónsdóttir, R., Geirsdóttir, M., Hamaguchi, P.Y., Jamnik, P., Kristinsson, H.G., Undeland, I. (2016). The ability of *in vitro* antioxidant assays to predict the efficiency of a cod protein hydrolysate and brown seaweed extract to prevent oxidation in marine food model systems. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 96(6), 2125-2135.
- [90] Babakhani, A., Farvin, K.H.S., Jacobsen, C. (2016). Antioxidative effect of seaweed extracts in chilled storage of minced atlantic mackerel (*Scomber scombrus*): effect on lipid and protein oxidation. *Food Bioprocess and Technology*, 9, 352-364.

## 3-Kloropropandiol, 2-Kloropropandiol, Esterleri ve Glisidil Yağ Asidi Esterinin Toksik Etkileri

Can Özgür Yalçın<sup>1</sup> , Sezen Yılmaz-Sarıaltın<sup>2</sup>  

<sup>1</sup>Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 61080 Trabzon

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, Ankara

Geliş Tarihi (Received): 13.09.2017, Kabul Tarihi (Accepted): 23.12.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [sezen.yilmaz@ankara.edu.tr](mailto:sezen.yilmaz@ankara.edu.tr) (S. Yılmaz Sarıaltın)

☎ 0 312 2033121 📠 0 312 213 10 81

### ÖZ

3-kloropropandiol (3-MCPD), 2-kloropropandiol (2-MCPD), bunların esterleri ve glisidil yağ asidi esterleri (GE) gıda veya gıda işlem kaynaklı bulaşanlar sınıfında yer almaktadır. İlk olarak, asitle hidrolize olmuş bitkisel proteinlerde (soya sosu ve sebze proteinleri) tespit edilmiştir. Daha sonraki yıllarda farklı gıdalarda da 3-MCPD ve esterlerinin varlığının tespit edilmesiyle bu bileşiklerin güvenliğine yönelik ilgi artmaya başlamıştır. Günümüzde 3-MCPD, 2-MCPD, bunların yağ asidi esterleri ve GE'nin en yüksek düzeyde palm yağı olmak üzere hemen hemen tüm bitkisel yağlarda, margarinlerde, pasta ve kekler gibi birçok işlenmiş gıdada bulunduğu bilinmektedir. Bu bileşikler aynı zamanda bebek mamalarının içeriğinde de yer almaktadır. Bu derlemede tüm bu kullanımlar göz önüne alınarak 3-MCPD, 2-MCPD ve GE'nin toksik etkileri üzerine yapılan çalışmalardan bahsedilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** 3-MCPD, 2-MCPD, Glisidil yağ asit esterleri, Glisidol, Gıda bulaşanları

### Toxic Effects of 3-Chloropropanediol, 2-Chloropropanediol, their Esters and Glycidyl Fatty Acid Ester

#### ABSTRACT

3-chloropropanediol (3-MCPD), 2-chloropropanediol (2-MCPD), their esters and glycidyl fatty acid esters (GE) are important food contaminants originating mainly during food processing. These materials were firstly identified in acid-hydrolyzed plant proteins such as soybean and other vegetable proteins. Then, the detection of 3-MCPD and its esters in different foods raised interest in the safety profile of these compounds. Nowadays, 3-MCPD, 2-MCPD and their fatty acid esters and GE are known to be present in almost all vegetable oils, mostly in palm oil, margarines and processed foods, especially pastries and cakes. It is also found in baby foods. In this review, studies on the toxic effects of 3-MCPD, 2-MCPD and GE are reviewed.

**Keywords:** 3-MCPD, 2-MCPD, Glycidyl fatty acid esters, Glycidol, Food contaminants

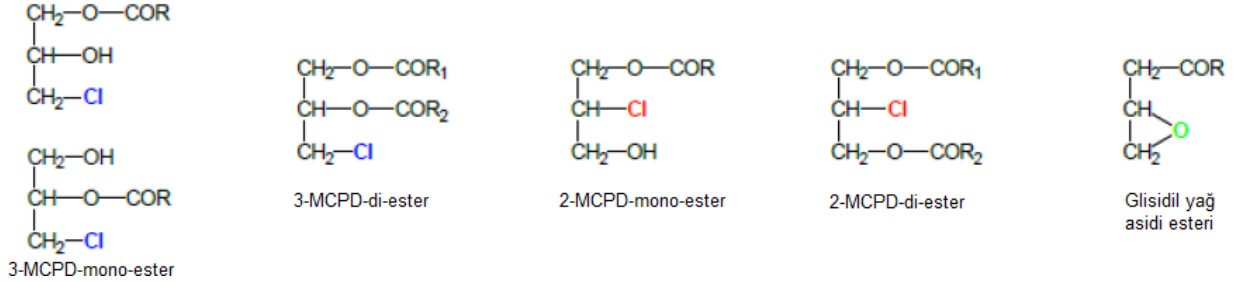
#### GİRİŞ

Gıda üretimi sürecinde çok sayıda kimyasal; üretim, saklanma, pişirme ve ortamdaki çevre kirleticilerinin varlığı gibi koşullara bağlı olarak gıdalara bulaşabilmektedir [1]. Gıda katkı maddelerinden farklı olarak varlıkları istek dışı olan bu maddeler gıda

kontaminantları (bulaşanları) olarak adlandırılmaktadır. 3-kloropropandiol (3-MCPD), 2-kloropropandiol (2-MCPD), bunların esterleri ve glisidil yağ asidi esterleri (GE), yağların yüksek sıcaklıkta kullanılması veya rafinasyon işlemi sırasında oluşan en önemli bulaşanlardandır. Başta palm yağı olmak üzere bitkisel yağlarda, margarinlerde, işlenmiş gıdalarda özellikle de

hazır kek, pastalarda ve hatta bebek mamalarında bu bulaşanların bulunduğu bildirilmiştir. Palm yağının doğal aromasını ve rengini gidermek amacıyla uygulanan rafinasyon işlemi esnasında diğer yağlara oranla çok daha fazla miktarda 3-MCPD, 2-MCPD ve esterleri ve GE oluşmaktadır [2]. Gıdalarda 3-MCPD ve 2-MCPD

serbest (-diol) hal yerine -mono (daha yüksek miktarda) ve -di esterleri formunda bulunur (Şekil 1). İntestinal sistemde pankreas tarafından salgılanan lipaz enzimi etkisiyle esterler tamamen 3-MCPD ve 2-MCPD olan serbest formlarına hidroliz olur [3].



Şekil 1. 3-MCPD ve 2-MCPD esterleri ve GE

Bu esterlerin biyoyararlanımlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada Abraham ve arkadaşları sıçanlara oral yoldan ekimolar dozlarda 3-MCPD diester ve 3-MCPD vermiştir. Sonuç olarak 3-MCPD diesterinin gastrointestinal sistemde enzimatik hidroliz ile serbest 3-MCPD'ye dönüştüğü; kan, organlar ve dokulara yayıldığı ve biyoyararlanımının %86 seviyesinde olduğu bulunmuştur [4]. 3-MCPD'nin hayvan deneylerinde böbrek ve üreme organlarında hasar yaptığı bildirilmektedir [5,6].

3-MCPD, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer: IARC) tarafından Grup-2B olarak sınıflandırılmıştır [64]. Alman Federal Risk Değerlendirmesi Enstitüsü (Bundesinstitut für Risikobewertung:BfR) 2007 yılında 3-MCPD için tolere edilebilir günlük alım miktarını (Tolerable Daily Intake:TDI) 2 µg/kg olarak belirlemiştir. BfR, yayınladığı raporda; bebeklerin ağırlıklı olarak yenidoğan mamalarıyla beslenmesi durumunda TDI değerinin aşılabileceğini vurgulamıştır [7]. Avrupa Gıda Otoritesi (European Food Safety Authority: EFSA) 2016 yılı "Panel on Contaminants Food Chain (Contam)" raporunda 3-MCPD için TDI değerini 0,8 µg/kg olarak revize etmiştir [8]. Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde 3-MCPD'nin bitkisel proteinler ve soya sosunda bulunabileceği en yüksek değer 20 µg/kg olarak belirlenmiştir [9].

Glisidol, IARC verilerine göre Grup-2A altında muhtemel insan karsinojenleri arasında yer almaktadır. EFSA'nın yapmış olduğu risk değerlendirmesinde, bir diğer bulaşan olan GE'nin serbest bileşiği glisidolun, genotoksik ve karsinojenik olduğu rapor edilmiştir [8,10]. GE'nin biyoyararlanımının *in vivo* yöntemlerle araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlara oral yoldan ekimolar dozlarda glisidol ve glisidil palmitoil esteri verilmiştir. Glisidolun hemoglobine bağlanma düzeyi ve 2,3-dihidroksipropil merkaptürik asit şeklinde atılma seviyesi ölçülmüştür. Çalışma neticesinde GE'nin hızlı bir şekilde hidrolize olduğu ve organlara dağıldığı gösterilmiştir. Nihai sonuç olarak GE maruziyetinin serbest glisidol maruziyetiyle aynı değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır [11].

### 3-MCPD VE TOKSİK ETKİLERİ

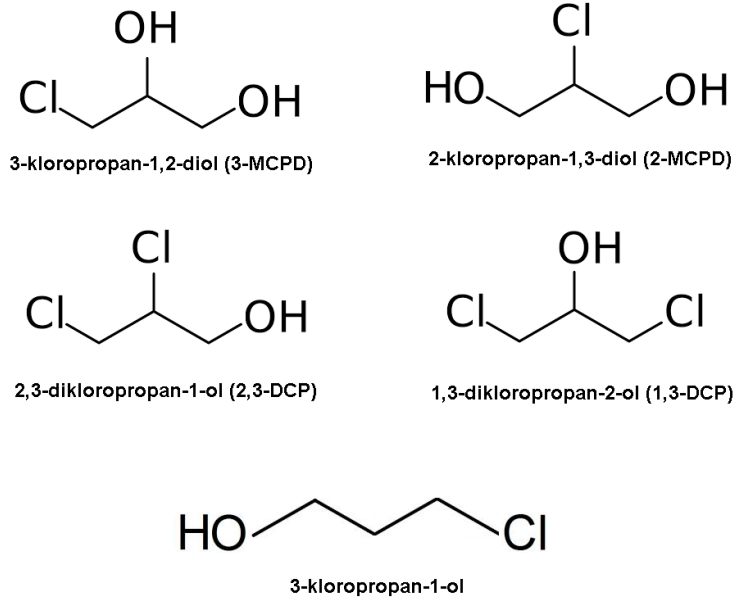
3-MCPD, temel olarak 5 çeşit kloropropanol bileşiğinden biridir (Şekil 2). Yapısında 3 adet karbon (C), 2 adet fonksiyonel alkol (-OH) grubu ve 1 adet klor (Cl) bulunur. Molekül formülü C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>ClO<sub>2</sub>, molekül ağırlığı 110.54 g/mol'dür. 3-MCPD, renksiz veya rengi saman sarısına dönmeye meyilli; su, alkol, dietil eter ve asetonda çözünebilen bir bileşiktir. Endüstride kullanılan bir kimyasal olan 3-MCPD aynı zamanda Birleşik Devletler Çevre Koruma Kurumu (United States Environmental Protection Agency: US-EPA) tarafından α-klorohidrin ismiyle rodentisit olarak tanımlanmıştır [12].

3-MCPD'nin bitkisel proteinlerin asit ile hidrolize edilmesiyle oluşabileceği ilk kez Velisek ve arkadaşları [13] tarafından bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar bitkisel yağlar, margarinler, kek, pasta, bebek mamaları, bisküvi, füme etler, tuzlanmış balık, kahve ve peynir gibi birçok işlenmiş gıdada bu bileşiğin bulaşan olarak bulunabileceğini göstermiştir [14,15].

Edwards ve arkadaşları [15] <sup>14</sup>C ve <sup>36</sup>Cl içeren 3-MCPD (α-klorohidrin) bileşiklerini kullanarak 3-MCPD'nin kan-beyin ve kan-testis bariyerlerini aşabileceğini bulmuştur. 3-MCPD'nin en önemli toksik etkilerini üreme sistemi üzerinde oluşturduğu bildirilmiştir [17-19]. IARC, karsinojenik etki sınıflandırmasında Grup- 2B altında olası insan karsinojeni olarak yer vermiştir. Jones isimli araştırmacı 3-MCPD'nin üreme sistemi üzerine toksik etkilerinin türler arasında farklılık gösterebileceğini vurgulamıştır. Sıçan, koç, yaban domuzu, Gine domuzu, hamster, Rhesus maymunu ve insan spermeleri üzerinde etkili olabileceği fakat fare ve tavşanlarda etkili olmadığı bulunmuştur [20]. Farklı bir çalışmada 3-MCPD'nin fertilité üzerine etkilerinin glikoliz yolağının blokajı sonucu gerçekleşebileceği açıklanmıştır [21]. Toksikite profilini aydınlatmak amacıyla yapılan *in vitro* çalışmalarda 3-MCPD'nin genotoksik etkileri tespit edilirken [22]; aynı etkiler *in vivo* deneylerle kanıtlanamamıştır [23-25]. Zeiger ve arkadaşları, 3-MCPD'nin *Salmonella typhimurium* türü bakterilerde ters (revers) mutasyonları indüklediğini bulmuştur [26]. El Ramy ve arkadaşları, Çin hamsteri over (CHO)

hücrelerini *in vitro* koşullarda 0.5, 1, 2.5 ve 5 mg/mL konsantrasyonlarda 3-MCPD ile 3 saat maruz bırakmıştır. 2.5 ve 5 mg/mL (22.6 ve 45 mM) konsantrasyonlarda 3-MCPD'nin DNA zincir kırıklarını indüklediğini ve genotoksisiteye neden olduğunu tek hücre jel elektroforezi (komet) yöntemi ile göstermiştir. Aynı çalışmada Sprague-Dawley (SD) ve F344 sıçanlarda 3-MCPD'nin karaciğer, kemik iliği ve lenfosit hücrelerinde DNA zincir kırıklarına *in vivo* koşullarda neden olmadığı rapor edilmiştir [23]. Robjohns ve arkadaşları [24] yaptıkları *in vivo* çalışmada Han Wistar türü erkek sıçanların kemik iliği hücrelerinde 3-MCPD'nin mikroçekirdek (Micronucleus: MN) oluşumuna neden olmadığını ve karaciğer hücrelerinde zamanlanmamış (unscheduled) DNA sentezine yol açmadığını göstermiştir. Jeong ve arkadaşları [27], B6C3F1 farelerinde erkeklerde 4.2, 14.3, ve 33 mg/kg (vücut ağırlığı:va)/gün, dişilerde 3.7, 12.2 ve 31 mg/kg (va)/gün dozlarda karsinojenik etki potansiyeline dair izler bulamamıştır. Fakat Cho ve arkadaşları [5], SD türü erkek sıçanlarda 1.97, 8.27 ve 29.50 mg/kg (va)/gün ve dişi sıçanlarda 2.68, 10.34 ve 37.03 mg/kg (va)/gün dozlarda 3-MCPD'nin böbreklerde (renal tübül karsinoma) ve testislerde (Leydig hücresi karsinomu) karsinojenik etki potansiyeline sahip olduğunu bulmuştur. Sunahara ve arkadaşları, F334 türü erkek sıçanlarda 1.1, 5.2, 28 mg/kg (va)/gün ve dişilerde 1.4, 7, 35 mg/kg (va)/gün dozlarında 3-MCPD'nin benzer karsinojenik etkiler gösterdiğini bulmuştur [28]. Böbrek tümörlerinin kronik nefropatiyi takiben ortaya çıktığı ve testislerde Leydig hücresi tümörlerinin hormonal düzensizlikler (endokrin bozucu etkiler) sonucu ikincil olarak geliştiğine dair kanıtlar nedeniyle 3-MCPD'nin genotoksik olmayan karsinojenlerden olduğu düşünülmektedir [22, 29]. Swiss türü farelerde 3-MCPD monopalmitik ester ve 3-MCPD dipalmitik esterinin akut toksisitesi sonucu renal tübül nekrozun indüklendiği ve seminifer tübülde spermatid sayısının

azaldığı bulunmuştur [30]. Barocelli ve arkadaşları [17], 3-MCPD dipalmitik esterinin Wistar sıçanlar üzerindeki 19 günlük oral toksisite çalışması sonucu meydana gelen renal ve testiküler değişikliklerin ekimolar dozda verilen 3-MCPD'ye çok benzediği fakat daha ılımlı seyrettiğini bulmuştur. Lee ve arkadaşları [31], 14 gün süresince dişi Balb/c farelere 25, 50 ve 100 mg/kg (va)/gün dozunda 3-MCPD vererek immünotoksisite incelemesi yapmıştır. Hematolojik, histopatolojik, antijen-özgü bağışıklık, lenfositlerde proliferatif değişiklikler ve doğal öldürücü hücreler incelenmiştir. Sonuç olarak 100 mg/kg (va)/gün konsantrasyonda dişi sıçanlarda immünotoksik etki görüldüğü rapor edilmiştir. Bir diğer çalışmada [32] 3-MCPD'nin R2C sıçanlarının Leydig hücrelerinde progesteron üretimini azalttığı ve ayrıca Leydig hücrelerinde apoptozis ile sonuçlanan morfolojik değişikliklere ve DNA hasarına neden olduğu bulunmuştur. Buhre ve arkadaşları [33] 3-MCPD'nin 100 µM konsantrasyona kadar CaCo-2 hücre serilerinde WST yöntemi ile hücre proliferasyonunu etkilemediğini ve kaspaz 3/7 aktivitesinde artış olmadığını bulmuştur. NRK-52E ve HEK-293 hücrelerinde 3-MCPD'nin DNA hasarı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada hücre serilerinde 24 saat süresince 0.5, 1, 2 ve 4 mg/mL konsantrasyonlarda maruziyet oluşturulmuştur. 2 ve 4 mg/mL konsantrasyonlarda DNA hasarında anlamlı düzeyde artış bulunmuştur (p<0.05) [34]. Peng ve arkadaşları [35], HEK293FT embriyonik böbrek hücrelerinde 3-MCPD'nin apoptozis ile olan ilişkisini incelemişlerdir. 2, 3, 4 ve 5 mM konsantrasyonlarda 24 saat boyunca maruz bırakılan hücrelerde 3 mM konsantrasyondan sonra ve özellikle 4 ve 5 mM'da hücre canlılığının anlamlı düzeyde azaldığı ve apoptotik hücrelerin ise anlamlı düzeyde arttığı bulunmuştur (p<0.01). Bcl-2/Bax mRNA ifadesi ve Bcl-2/Bax protein oranının 2 mM ve daha yüksek konsantrasyonlardan sonra anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur (p<0.01).



Şekil 2. Kloropropanoller



## 2-MCPD VE TOKSİK ETKİLERİ

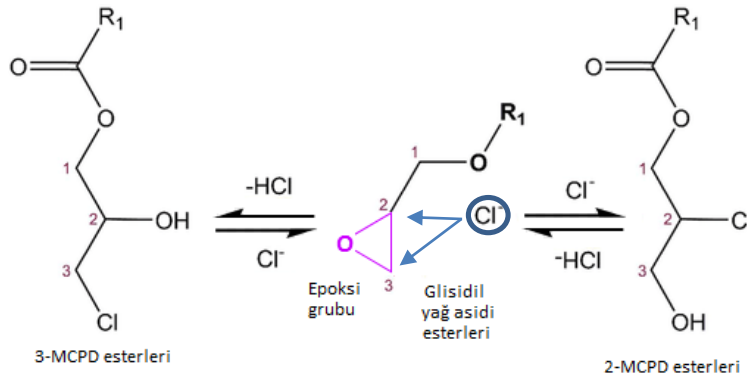
2-MCPD, bir diğer kloropropanol bileşiği olan bulaşandır (Şekil 2). 3-MCPD'nin yapısal izomeri olan 2-MCPD gıdalarda, GE ve 3-MCPD'ye göre daha az düzeyde oluşmaktadır [36].

2-MCPD'nin toksik etkileri ile ilgili kısıtlı veri olması nedeniyle tam bir değerlendirme yapılamamakla birlikte yayınlanan araştırmalar incelenmiştir. Marchesini ve Huggett isimli araştırmacılar azaltma ve artırma prosedürüne (Up and Down Procedure, OECD 425) göre yaptıkları akut toksisite testinde SD sıçanlarında gavaj yoluyla 2-MCPD vererek LD50 değerini 50-60 mg/kg (va) arasında bulmuştur. Deney hayvanlarında ölümün bir dizi konvülsiyonla gerçekleştiği bildirilmiştir [37]. Jones ve Fakhouri [38] ise 3-MCPD'nin renal toksisitesine karşı tek doz 200 mg/kg (va) ip (LD50) 2-MCPD'nin SD sıçanlarda diürezise neden olmadığını bulmuştur. Yaptıkları çalışmada 3-MCPD'nin 90 mg/kg ip (LD50) dozda genişlemiş böbreklere ve hatta böbrek iflasına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Perrin ve arkadaşları [39], SD sıçanlar ile yaptıkları 28 günlük tekrarlı doz toksisite testinde 2,16 ve 30 mg/kg dozlarda 2-MCPD gavaj yoluyla uygulamışlar, 30 mg/kg doz grubundaki hayvanlardan bazılarının deneyin 8-23 günleri arasında kalp yetmezliği nedeniyle öldüğünü bildirmişlerdir. Doza bağlı olarak çizgili kaslarda stoplazmik vakulizasyon ve miyositlerde lizis görülmüştür. Patolojik değişiklikler en fazla kalp miyokardiyum dokusunda bulunmuştur. 16 ve 30 mg/kg dozlarda artmış böbrek ağırlığı, proksimal tübüllerde

stoplazmik vakulizasyon tespit edilmiştir. Renal tübül değişiklikleri erkek sıçanlarda dişilere göre daha fazla gerçekleşmiştir. 2 mg/kg (va) dozda herhangi bir advers etki gözlenmediği için bu doz "No Observed Adverse Effect Level" (NOAEL) değeri olarak rapor edilmiştir. Derleme bir çalışmada yayınlanmamış araştırma verilerine göre; 2-MCPD bakteri geri mutasyon testinde mutajenik etkili bulunmuştur. Başka bir çalışmada 2-MCPD'nin, Çin Hamsteri akciğer fibroblast hücreleri (V79) üzerinde 50 mM'a kadar olan yüksek konsantrasyonda bile (metabolik aktivasyon dahilinde ve haricinde) gen mutasyonunu indüklediği gösterilmiştir [40]. *Drosophilla melanogaster* "wing spot" testine göre 2-MCPD'nin *in vivo* genotoksik etkisinin olmadığını bildirilmiştir [41].

## GLİSİDOL-GE VE TOKSİK ETKİLERİ

Molekül formülü  $C_3H_6O_2$ , molekül ağırlığı 74.08 g/mol olan glisidol (2,3-epoksi-1-propanol) oda sıcaklığında renksiz bir sıvı olup, suda ve çoğu polar çözücüde çözünebilmektedir. Glisidil esterleri ve aminlerinin sentezinde ve farmasötik endüstrisinde ara madde; vinil polimer üretiminde stabilizer olarak kullanılmaktadır [42]. GE yağların yüksek sıcaklıklarda rafinasyon işlemleri sırasında oluşan bir gıda bulaşanı olup, yapısında terminal bir epoksit grubu ve farklı yağ asidi bileşimi bulundurmaktadır. GE ve MCPD esterlerinin yapısındaki (Şekil 3) benzerlik birçok araştırmacının bu bileşikler birlikte değerlendirmesine neden olsa da içerdikleri farklı gruplardan dolayı farklı toksik etkileri olabileceği düşünülmektedir [40,43].



Şekil 3. 3-MCPD, GE ve 2-MCPD'nin birbirine dönüşüm şeması [44].

Glisidol ve yağ asidi esterleri mideye alının ardından hızla absorbe olur. GE presistemik hidrolize uğradıktan sonra hızla glisidole dönüşür. Glisidol ise glutatyon konjugasyonu ve merkapturat oluşumu dahil olmak üzere birçok enzimatik yolla hızla metabolize olur. Ağırlıklı olarak idrarla atılır [45].

Japon Gıda Güvenlik Komisyonu (Food Safety Commission of JAPAN:FSCJ) glisidol ve GE için yürüttüğü risk değerlendirmesi çalışmasında glisidolun DNA hasarını indüklemesi ve gen mutasyonlarına yol açması nedeniyle genotoksik bir karsinojen olabileceğini bildirmiştir [46]. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)

glisidil esterlerinin direk insan tüketimi için bitkisel ve hayvansal yağlar en yüksek seviyenin Eylül 2017'den itibaren geçerli olmak üzere 1.0 mg/kg olacağını bildirmiştir (Tablo 1). Bu maksimum seviye Avrupa Birliği Yağ ve Protein Gıda Endüstrisi verileri ile uyumludur [8].

Erkek sıçanlara oral yolla 5 gün boyunca günlük 100, 200 mg/kg (va) veya 14 gün boyunca 100 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. 3-MCPD'nin düşük doz etkisine benzer olarak glisidolun infertilite oluşturduğu görülmüştür [47]. Bu etkinin glisidolun mideye 3-MCPD'ye dönüşmesinden dolayı olabileceği düşünülmektedir [48].

Tablo 1. EFSA'nın tavsiye ettiği en yüksek 3-MCPD ve glisidil ester düzeyleri [8]

Gıda	Glisidil esterler (mg/kg)	3-MCPD esterleri (mg/kg)
Direkt insan tüketimi için bitkisel ve hayvansal yağlar/gıdalarda bir içerik olarak kullanım	1.0	2.0
Bebek maması ve devam sütü (toz)	0.075	0.125
Bebek maması ve devam sütü (sıvı)	0.010	0.015

F344/N sıçanlara günlük 300 mg/kg (va) glisidol uygulamasından 16 gün sonra epididimiste granülatöz inflamasyon, epididimal stromada dejenerasyon ve ödemle birlikte testislerde atrofi geliştiği görülmüştür. Ancak bu etkiler aynı deneyin yürütüldüğü B6C3F1 farelerde oluşmamıştır. 13 hafta boyunca sıçanlara günlük 25-400 mg/kg (va), farelere 19-300 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. Sıçanlarda sperm sayısı ve motilitesi azalmış, epididimal sperm sayımı için (%36 azalma) gözlenen en düşük advers etki düzeyi yani "Lowest Observed Adverse Effect Level" (LOEL) günlük 25 mg/kg (va) olarak bulunmuştur. Sıçanlarda günlük 200 veya 400 mg/kg (va) glisidol maruziyeti testiküler atrofi veya dejenerasyona neden olmuştur. Farelere verilen tüm dozlar sperm sayısı ve motilitesini azaltmış, testiküler atrofi görülmüştür. Fareler için LOEL değeri günlük 75 mg/kg (va) olarak bulunmuştur [49]. Kawashima ve arkadaşları gebe farelere içme suyu ile gebeliğin 6. gününden doğum sonrası 21. güne kadar 800 ve 1600 ppm glisidol uygulamış, glisidol maruziyetinin hipokampal nörogenezis üzerine etkisini değerlendirerek gelişimsel toksisite çalışması yapmıştır. Kontrolle kıyaslandığında her iki konsantrasyonda da gebe farelerde akson terminal hasarı görülmüştür. 1600 ppm'e maruz kalan gebelerin yavrularının hipokampal dentat girus hilusunda nöron-spesifik nükleer protein<sup>+</sup> postmitotik nöronları ve parvalbumin (PVALB)+ $\gamma$ -aminobütirik asit (GABA) internöronlarının daha az olduğu görülmüştür. Farelerde gelişimsel glisidol maruziyetinin ilerleyen dönemlerde bilişsel işlev azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir [50]. Gebeliğin 6. gününden, gebelik sonrası 21. güne kadar içme suyuyla 0, 300, 1000 ppm glisidol uygulanan SD sıçanlarda, 1000 ppm glisidol maruziyetinin aksonopatiye yol açtığı, bu gebelerin yavrularında ise geç-dönem hipokampal nörogenezde aberasyon olduğu bildirilmiştir [51]. 28 gün boyunca 5 haftalık erkek SD sıçanlara oral gavajla 0, 30, 200 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. 200 mg/kg'a maruz kalan sıçanlarda gittikçe kötüleşen yürüyüş anomalilerinin yanı sıra histopatolojik ve immünohistokimyasal farklılıklar ortaya çıkmış, santral ve periferel sinir sisteminde lezyonlar oluşmuştur. Glisidolun, geç dönem farklılaşmasını etkileyen hipokampal nörogenez ve aksonopatiji indüklediği bulunmuştur [52]. Glisidol, olgunlaşmamış granül hücrelerinin yeni oluşan sinir terminallerini hedef almaktadır. Bu da geç evre hipokampal nörogenezin supresyonuna neden olmaktadır. Gebe SD sıçanlara gebeliğin 6. gününden, gebelik sonrası 21. güne kadar 0, 100, 300, 1000 ppm glisidol içeren içme suyu uygulanmıştır. 1000 ppm'de annelerde gittikçe kötüleşen yürüyüş anomalileri ve histopatolojik farklılıklar gözlenmiştir. Yetişkin sıçanların santral ve periferel sinir sisteminde akson hasarı oluşmuştur. NOAEL anneler için 300 ppm (48.8 mg/kg va/gün), yavrular için ise 100 ppm (18.5 mg/kg va/gün) olarak bulunmuştur. Yavruların nörogenezinin, yetişkin

aksonal hasarından daha duyarlı olduğu bildirilmiştir [53]. Marks ve arkadaşları, gebe CD-1 farelere gebeliğin 6-15. günleri boyunca gavajla farklı dozlarda (100, 150, 200 mg/kg va) glisidol uygulamışlar ve bu uygulamanın teratojeniteye neden olmadığını bildirmişlerdir [54]. Slott ve Hales ise gebe SD sıçanların amniyotik sıvısına gebeliğin 13. gününde glisidol enjekte edilmesi sonucunda fetüslerin önemli bir kısmında malformasyonların indüklediği ve embriyoların öldüğünü bildirmişlerdir [55].

Glisidol, IARC tarafından olası karsinogen (Grup 2A) grubunda sınıflandırırken ; glisidil oleat ve glisidil stearat insanda karsinogenik etkisi olmayanlar grubunda (Grup 3) sınıflandırılmıştır [64]. Glisidolun gen mutasyonları ve programlanmamış DNA sentezine yol açtığı bildirilmiştir [56]. Kronik glisidol uygulaması sıçan ve farelerin çeşitli dokularında tümör insidansını arttırmıştır. Sıçanlarda günlük 10.2 mg/kg (va) glisidol neoplastik etkiler ortaya çıkmasına neden olmuştur [8]. Glisidole maruz kalan sıçan ve farelerde tümör insidansında artış görülmüştür. GE'nin ise glisidole göre daha düşük genotoksisite potansiyeli gösterdiği, ortalama ve en yüksek düzeyde maruz kalan bireyler için maruziyet sınırının (Margin of Exposure: MOE) sırasıyla 17.800 ve 10.900 bulunduğu bildirilmiştir [46].

p16Ink4a/p19Arf transgenik farelere 40 hafta boyunca haftada beş kez 0, 25, 50, 100, 200 mg/kg (va) glisidol uygulanmıştır. Erkek farelerde alveolar/bronşiyolar adenom insidansı artarken, dişi farelerde bu adenomlarla ilişkili karsinogenik aktivite görülmüştür. Ayrıca her iki cinsiyette ön mide hiperplazisi ve beyinde nöronopati bulgularına rastlanmıştır [10]. Guo ve arkadaşları, dişi B6C3F1 farelere 14 gün boyunca oral gavajla 25, 125 ve 250 mg/kg glisidol uygulamış; glisidolun bu farelerde immunosupresif etkili olabileceğini bildirmiştir [57]. Irwin ve arkadaşları [58] erkek ve dişi F344/N sıçanları 2 yıl boyunca günlük 37.5, 75 mg/kg va (5 gün/hafta) ve B6C3F1 fareleri 0, 25, 50 mg/kg glisidole maruz bırakmıştır. Neoplazma insidansının farelerde ve sıçanlarda birçok dokuda doza bağlı olarak arttığı bulunmuştur. Glisidol uygulanan sıçanlarda neoplastik hastalıkların indüksiyonu nedeniyle yaşam süresi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır. Erkek sıçanlarda erken ölümlerin temel nedeninin periton metastazı ve tunika vajinaliste artan mezotelyomalar, dişi sıçanlarda ise meme bezi neoplazmaları olduğu bulunmuştur. Farelerde ise erkeklerde ön mide, dişilerde meme bezi neoplazma insidansını arttırdığı bildirilmiştir. Lijinsky ve Kovatch [59] erkek ve dişi Suriye altın hamsterına 12 mg glisidol (2 doz/hafta) uygulamıştır. 60 hafta süren çalışmada; her iki cinsiyette bazı tümörler gözlenmiş, adrenal korteks tümörlerinde kontrole göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Ancak hayatta kalma oranında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sıçan ve

fareler ile kıyaslandığında glisidolun hamsterlar üzerinde daha az karsinogenik etki gösterdiği vurgulanmıştır.

Glisidolun çeşitli memeli hücrelerinde genetik mutasyonları, kromozomal aberasyonları, MN oluşumu, kardeş kromatid değişimi (Sister Chromatid Exchange: SCE) ve programlanmamış DNA sentezi gibi birçok genotoksik etkiyi indüklediği bulunmuştur. Sıçan böbrek epitel hücrelerinde (NRK-52E), 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyumbromür (MTT) ve nötral kırmızı yöntemleri kullanılarak glisidolun sitotoksik potansiyeli değerlendirilmiş ve IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 1.67 mM ve 1.13 mM bulunmuştur. 100 µM ve 500 µM konsantrasyonlarda 48 saatlik maruziyet sonrasında DNA metilasyonunda azalma tespit edilmiştir. Metilasyon spesifik polimer zincir reaksiyonu (PCR-MSP) yöntemi ile c-myc ve Rassf1a'nın promotör bölgelerinde metilasyon değişiklikleri gözlenirken, gerçek zamanlı PCR yöntemi sonucuna göre c-myc ve Rassf1a gen ekspresyonlarında değişiklik görülmemiştir. e-Cadherin, p16, VHL ve p15 genleri ise CpG promotör bölgelerinde metillenmemiştir. Glisidolun toksisitesinin değerlendirilmesinde DNA metilasyonunda gerçekleşen bu farklılıkların önemli olabileceği rapor edilmiştir [60].

Aasa ve arkadaşları [61], CHO hücrelerinde Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz yöntemini kullanarak glisidolun mutajenik potansiyelini araştırmıştır. Glisidol, zincir kırıklarını indüklemiş ve indüklenen lezyonların replikasyon çatal uzamasını geciktirdiği bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada mutajenik etkiye neden olan DNA hasarının türü bulunamamıştır. Glisidol ve glisidol linoleatın (GL) genotoksik potansiyeli bakteriyel ters mutasyon, *in vitro* kromozomal aberasyon ve *in vivo* kemik iliği MN testi kullanılarak araştırılmıştır. Bakteriyel ters mutasyon testi *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 ve *E. coli* WP2uvrA suşlarında uygulanmış, 5000 µg/plaka kadar hiçbir suşta herhangi bir bakteriyel toksisite/çökme görülmemiştir. Glisidol, kromozomal aberasyon testinde yapısal kromozom aberasyonlarını indüklerken; GL indüklememiştir. Her iki maruziyet de kemik iliğinde MN'li olgunlaşmamış eritrositlerde anlamlı bir artışa yol açmamıştır. Toksikokinetik veriler de göz önüne alındığında GL'nin tek başına genotoksik potansiyel göstermediği bildirilmiştir [62].

Glisidolun, CHO hücrelerinde SCE oluşumunu indüklediği bildirilmiştir. S9-karışım yokluğunda, 1.11-15 µg/mL konsantrasyon aralığında güçlü pozitif sonuçlar elde edilirken, S9-karışım varlığında 11.1-150 µg/mL aralığında pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Fare lenfoma L5178Y/TK hücrelerinde düşük konsantrasyon glisidol mutasyon indükleyici etki gösterirken, S9-karışım yokluğunda 5-40 ng/mL aralığında konsantrasyona bağlı cevap elde edilmiştir [49]. Glisidolun genotoksik potansiyelini değerlendirmek amacıyla 0-120 mg/kg (va) glisidol uygulanan BalbC farelerin periferik kanında doza bağlı olarak MN oluşumu ve hemoglobin adaktlarının indüklediği bulunmuştur [63]. El Ramy ve arkadaşları [23] çalışmalarında glisidolün CHO hücrelerinde DNA hasarını indüklediğini bulmuştur.

## SONUÇ

Gıda güvenliği gerek halk sağlığı, gerekse ekonomik boyutu nedeniyle giderek önem kazanmaktadır. 3-MCPD, 2-MCPD ve bunların esterleri ve GE gibi, gıda veya gıda işlem kaynaklı bulaşanlar gıda kaynaklı hastalıkların ortaya çıkması açısından dikkate değer düzeyde önemli bileşiklerdir. Bu bileşiklerin en fazla palm yağı olmak üzere tüm bitkisel yağlarda, margarinlerde ve işlenmiş gıdalarda ve hatta bebek mamalarında bulunması toplumda her kesim ve yaş grubundan tüketicinin kolaylıkla maruz kalabileceğini göstermektedir. Tüm bunlara bağlı olarak gıda güvenliği otoriteleri tarafından 3-MCPD, 2-MCPD ve bunların esterleri ve GE gibi ısıtma işlem kaynaklı gıda bulaşan miktarlarının azaltılması hususunda yeni stratejiler geliştirilmesi gerektiği belirtilmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Gökırmaklı, Ç., Bayram, M. (2018). Gıda için gelecek öngörüler: Yıl 2050. *Akademik Gıda*, 16(3), 351-360.
- [2] EFSA Journal, (2016). Chemicals in Food. Overview of selected data collection. [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/161215chemicalsinfoodreport.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/161215chemicalsinfoodreport.pdf) (Erişim tarihi: Aralık 2018)
- [3] Seefeldt, W., Varga, N., Studer, A., Williamson, G., Scanlan, F.P., Stadler, R.H. (2008). Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD. *Food Additives and Contaminants*, 25, 391-400.
- [4] Abraham, K., Appel, K., Berger-Preiss, E., Apel, E., Gerlin, S., Mielke, H., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid esters in rats. *Archives of Toxicology*, 87, 649-59.
- [5] Cho, W.S., Han, B.S., Lee, H., Kim, C., Nam, K.T., Park, K., Choi, M., Kim, S.J., Kim, S.H., Jeong, J., Jang, D.D. (2008). Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1666-73.
- [6] Cho, W.S., Han, B.S., Nam, K.T., Park, K., Choi, M., Kim, S.H., Jeong, J., Jang, D.D. (2008). Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol*, 46, 3172-77.
- [7] Federal Institute for Risk Assessment, (2007). BfR opinion 047/2007. Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters. [http://www.bfr.bund.de/cm/349/infant\\_formula\\_and\\_follow\\_up\\_formula\\_may\\_contain\\_harmful\\_3\\_mcpd\\_fatty\\_acid\\_esters.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/349/infant_formula_and_follow_up_formula_may_contain_harmful_3_mcpd_fatty_acid_esters.pdf).
- [8] EFSA Journal, (2016). Scientific Opinion: Risk for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. EFSA Panel on Contaminants in Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 14(5), 4426, 159 p.

- [9] Türk Gıda Kodeksi, Bulaşanlar Yönetmeliği, (2011). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm>.
- [10] National Toxicology Program (NTP), (2007). National Toxicology Program, Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in genetically modified haploinsufficient p16Ink4a/p19Arf mice (gavage study). Technical Report Series No. 13. National Institutes of Health Publication No. 08-5962. Research Triangle Park, NC.
- [11] Appel, K., Abraham, K., Berger-Preiss, E., Hansen, T., Apel, E., Schuchardt, S., Vogt, C., Bakhiya, N., Creutzenberg, O., Lampen, A. (2013). Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats. *Archives of Toxicology*, 87, 1649-1659.
- [12] Lee, B.Q., Khor, S.M. (2015). 3-Chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in soy sauce: A review on the formation, reduction, and detection of this potential carcinogen. *The Comprehensive Reviews in Food Science App*, 14(1), 48-66.
- [13] Velisek, J., Davidek, J., Kubelka, V., Janicek, G., Svobodova, Z., Simicova, Z. (1980). New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(6), 1142-1154.
- [14] Baer, I., de la Calle, B., Taylor, P. (2010). 3-MCPD in food other than soy sauce or hydrolysed vegetable protein (HVP). *Anal Bioanal Chem*, 396(1), 443-456.
- [15] Crews, C., Breerton, P., Davies, A. (2001). The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Additives & Contaminants*, 18(4), 271-280.
- [16] Edwards, N., Jones, A.R., Waites, G.M.H. (1975). The entry of  $\alpha$ -chlorohydrin into body fluids of male rats and its effect upon incorporation of glycerol into lipids. *Journal of Reproduction and Fertility*, 43, 225-232.
- [17] Barocelli, E., Corradi, A., Mutti, A., Petronini, P.G. (2011). Comparison between 3-MCPD and its palmitic esters in a 90-day toxicological study. *EFSA Supporting Publications*, 8(9), 1-131. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/sp.efsa.2011.EN-187/pdf>.
- [18] Li, J., Wang, S., Wang, M., Shi, W., Du, X., Sun, C. (2013). The toxicity of 3-chloropropane-1,2-dipalmitate in Wistar rats and a metabolomics analysis of rat urine by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemico-Biological Interactions*, 206, 337-345.
- [19] Onami, S., Cho, Y., Toyoda, T., Mizuta, Y., Yoshida, M., Nishikawa, A., Ogawa, K. (2014). A 13-week repeated dose study of three 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters in F344 rats. *Archives of Toxicology*, 88, 871-880.
- [20] Jones, A.R. (1983). Antifertility actions of alpha-chlorohydrin in the male. *Australian Journal of Biological Sciences*, 36, 333-350.
- [21] Stevenson, D., Jones, A. (1984). The action of (R)- and (S)- $\alpha$ -chlorohydrin and their metabolites on the metabolism of boar sperm. *International Journal of Andrology*, 7, 79-86.
- [22] WHO, (2002). 3-Chloro-1, 2-Propandiol, WHO Food Add. Ser. 48 Geneva, Switzerland. p. 401-432.
- [23] El Ramy, R., Ould Elhkim, M., Lezmi, S., Poul, J.M. (2007). Evaluation of the genotoxic potential of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and its metabolites, glycidol and beta-chlorolactic acid, using the single cell gel/comet assay. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 41-48.
- [24] Robjohns, S., Marshall, R., Fellows, M., Kowalczyk, G. (2003). *In vivo* genotoxicity studies with 3-monochloropropan-1,2-diol. *Mutagenesis*, 18(5), 401-404.
- [25] Scientific Committee on Food (SCF), (2001). Opinion on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), updating the SCF opinion of 1994 adopted on 30 May 2001. <http://ec.europa.eu>.
- [26] Zeiger, E., Erson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K. (1988). Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 11(12), 1-157.
- [27] Jeong, J., Han, B.S., Cho, W.S., Ha, C.S., Lee, B.S., Kim, Y.B., Son, W.C., Kim, C.Y. (2010). Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) administered by drinking water to B6C3F<sub>1</sub> mice showed no carcinogenic potential. *Archives of Toxicology*, 84, 719-729.
- [28] Sunahara, G., Perrin, I., Marchesini, M. (1993). Carcinogenicity study on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) administered in drinking water to Fischer 344 rats. Report No RE-SR 93003, Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [29] Lynch, B.S., Bryant, D.W., Hook, G.J., Earle, N.R., Ian, C.M. (1998). Carcinogenicity of monochloro-1,2-propanediol ( $\alpha$ -chlorohydrin, 3-MCPD). *International Journal of Toxicology*, 17, 47-76.
- [30] Liu, M., Gao, B.Y., Qin, F., Wu, F.F., Shi, H.M., Luo, W., Ma, A.N., Jiang, Y.R., Xu, X.B., Yu, L.L. (2012). Acute oral toxicity of 3-MCPD mono- and di-palmitic esters in Swiss mice and their cytotoxicity in NRK-52E rat kidney cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3785-3791.
- [31] Lee, J.K., Byun, J.A., Park, S.H., Kim, H.S., Park, J.H., Eom, J.H., Oh, H.Y. (2004). Evaluation of the potential immunotoxicity of 3-monochloro-1, 2-propanediol in Balb/c mice: I. Effect on antibody forming cell, mitogen-stimulated lymphocyte proliferation, splenic subset, and natural killer cell activity. *Toxicology*, 204, 1-11.
- [32] Sun, J., Bai, S., Bai, W., Zou, F., Zhang, L., Su, Z., Zhang, Q., Ou, S., Huang, Y. (2013). Toxic mechanisms of 3-monochloropropane-1,2-diol on progesterone production in R2C rat Leydig cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9955-9960.
- [33] Buhrke, T., Frenzel, F., Kuhlmann, J. (2015). 2-Chloro-1,3-propanediol (2-MCPD) and its fatty acid esters: cytotoxicity, metabolism, and transport by human intestinal Caco-2 cells. *Archives of Toxicology*, 89, 2243-2251.
- [34] Ozcaglı, E., Alpertunga, B., Fenga, C., Bertkas, M., Tsitsimpikou, C., Wilks, M.F., Tsatsakis, A.M. (2016). Effects of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-

- MCPD) and its metabolites on DNA damage and repair under *in vitro* conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 89, 1-7.
- [35] Peng, X., Gan, J., Wang, Q., Shi, Z., Xia, X. (2016). 3-Monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) induces apoptosis via mitochondrial oxidative phosphorylation system impairment and the caspase cascade pathway. *Toxicology*, 372, 1-11.
- [36] Kuhlmann, J. (2011). Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 335-344.
- [37] Marchesini, M., Huggett, A. (1992). The acute toxicity of 2-chloropropan-1,2 diol (up and down test) Unpublished report No. FS-RN920011 submitted to WHO by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [38] Jones, A.R., Fakhouri, G. (1979). Epoxides as obligatory intermediates in the metabolism of a-halohydrins. *Xenobiotica*, 9, 595-599.
- [39] Perrin, I., Marchesini, M., Sunahara, G. (1994). Repeated dose oral toxicity 28 day gavage in Sprague Dawley rats of 2 chloropropan-1,3 diol (2-MCPD). Unpublished report No. RE-SR94026 submitted to EFSA by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland.
- [40] Schilter, B., Scholz, G., Seefelder, W. (2011). Fatty acid esters of chloropropanols and related compounds in food: toxicological aspects. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 309-313.
- [41] Frei, H., Würzler, F.E. (1997). The vicinal chloroalcohols 1,3-dichloro-2-propanol (DC2P), 3-chloro-1,2-propanediol (3-CPD) and 2-chloro-1,3-propanediol (2-CPD) are not genotoxic *in vivo* in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, 394, 59-68.
- [42] National Institute of Standards and Technology (NIST) Chemistry WebBook, SRD 69, (2017). <http://webbook.nist.gov/cgi/inchi/InChI%3D1S/C3H6O2/c4-1-3-2-5-3/h3-4H%2C1-2H2>, (Erişim tarihi: Aralık 2018).
- [43] Habermeyer, M., Guth, S., Eisenbrand, G. (2011). Identification of gaps in knowledge concerning toxicology of 3-MCPD and glycidol esters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 314-318.
- [44] Cheng, W., Liu, G., Wang, L., Liu, Z. (2017). Glycidyl fatty acid esters in refined edible oils: a review on formation, occurrence, analysis, and elimination methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16.2, 263-281.
- [45] Hamlet, C.G., Asuncion, L., Velisek, J., Dolezal, M., Zelinkova, Z., Crews, C. (2011). Formation and occurrence of esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-CPD) in foods: what we know and what we assume. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 279-303.
- [46] Food Safety Commission of JAPAN (FSCJ) (2015). Considerations on Glycidol and Its Fatty Acid Esters in Foods. *Executive summary*, 3(2), 67-69.
- [47] Cooper, E.R.A., Jones, A.R., Jackson, H. (1974). Effects of a-chlorohydrin related compounds on the reproductive organs and fertility of the male rat. *Journal of Reproduction and Fertility*, 38, 379-386.
- [48] Brown-Woodman, P.D.C., White, I.G., Ridley, D.D. (1979). The antifertility activity and toxicity of a-chlorohydrin derivatives in male rats. *Contraception*, 19, 517-529.
- [49] NTP, (1990). Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Technical Report Series No. 374. National Institutes of Health Publication No. 90-2829. Research Triangle Park, NC.
- [50] Kawashima, M., Watanabe, Y., Nakajima, K., Murayama, H., Nagahara, R., Jin, M., Yoshida, T., Shibutani, M. (2017). Late effect of developmental exposure to glycidol on hippocampal neurogenesis in mice: Loss of parvalbumin-expressing interneurons. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(7), 517-526.
- [51] Akane, H., Saito, F., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Wang, L., Shibutani, M. (2014). Gene expression profile of brain regions reflecting aberrations in nervous system development targeting the process of neurite extension of rat offspring exposed developmentally to glycidol. *Journal of Applied Toxicology*, 34(12), 1389-1399.
- [52] Akane, H., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Abe, H., Shibutani, M. (2014). Glycidol induces axonopathy and aberrations of hippocampal neurogenesis affecting late-stage differentiation by exposure to rats in a framework of 28-day toxicity study. *Toxicology Letters*, 224(3), 424-432.
- [53] Akane, H., Shiraki, A., Imatanaka, N., Akahori, Y., Itahashi, M., Ohishi, T., Mitsumori, K., Shibutani, M. (2013). Glycidol induces axonopathy by adult-stage exposure and aberration of hippocampal neurogenesis affecting late-stage differentiation by developmental exposure in rats. *Toxicological Sciences*, 134(1), 140-54.
- [54] Marks, T.A., Gerling, F.S., Staples, R.E. (1982). Teratogenic evaluation of epichlorohydrin in the mouse and rat and glycidol in the mouse. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 9(1), 87-96.
- [55] Slott, V.L., Hales, B.F. (1985). Teratogenicity and embryo lethality of acrolein and structurally related compounds in rats. *Teratology*, 32, 65-72.
- [56] Bakhia, N., Abraham, K., Gürtler, R., Appel, K.E., Lampen, A. (2011). Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, 509-521.
- [57] Guo, T.L., Mc Cay, J.A., Brown, R.D., Musgrove, D.L., Butterworth, L., Munson, A.E., Germolec, D.R., White, K.L. (2000). Glycidol modulation of the immune responses in female B6C3F1 mice. *Drug and Chemical Toxicology*, 23(3), 433-457.
- [58] Irwin, R.D., Eustis, S.L., Stefanski, S., Haseman, J.K. (1996). Carcinogenicity of glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice. *Journal of Applied Toxicology*, 16(3), 201-209.

- [59] Lijinsky, W., Kovatch, R.M. (1992). A study of the carcinogenicity of glycidol in Syrian hamsters. *Toxicol Ind Health*, 8(5), 267-271.
- [60] Senyildiz, M., Alpertunga, B., Ozden, S. (2017). DNA methylation analysis in rat kidney epithelial cells exposed to 3-MCPD and glycidol. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(4), 432-439.
- [61] Aasa, J., Vare, D., Motwani, H.V., Jenssen, D., Törnqvist, M. (2016). Quantification of the mutagenic potency and repair of glycidol-induced DNA lesions. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 805, 38-45.
- [62] Ikeda, N., Fujii, K., Sarada, M., Saito, H., Kawabata, M., Naruse, K., Yuki, K., Nakagiri, H., Honda, H., Tamaki, Y., Nishiyama, N., Kasamatsu, T. (2012). Genotoxicity studies of glycidol fatty acid ester (glycidol linoleate) and glycidol. *Food Chem Toxicol*, 50(11), 3927-3933.
- [63] Aasa, J., Abramsson-Zetterberg, L., Carlsson, H., Törnqvist, M. (2017). The genotoxic potency of glycidol established from micronucleus frequency and hemoglobin adduct levels in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 100, 168-174.
- [64] IARC, (2000). Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, pp. 1-529.
-

## Protein Emülsiyon Ağıyla Yapılandırılmış Oleojeller

Eda Keskin Uslu<sup>1</sup> , Emin Yılmaz<sup>1</sup>  <sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 11.06.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 07.03.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [eyilmaz@comu.edu.tr](mailto:eyilmaz@comu.edu.tr) (E. Yılmaz)

☎ 0 286 218 00 18 - 2170 📠 0 286 218 05 41

### ÖZ

Bitkisel yağlar genellikle hidrojenasyon işlemi ile yapılandırılmakta, bu işlem sonucunda ise *trans* veya doymuş yağ asitlerinin seviyesinde artış gözlenmektedir. Doymuş ve *trans* yağ asitlerinin diyetteki varlığı ile kalp-damar hastalıkları arasındaki ilişki bilinmektedir. Doymuş ve/veya *trans* yağ alımının azaltılmasına yönelik alternatif bir yol olarak ortaya konan oleojelasyon teknolojisinde, bitkisel yağın viskoelastik jel benzeri bir yapıya dönüştürülmesi için organojelatör ajanlar kullanılmakta, ancak ekonomik, verimli ve gıda sınıfı yeni organojelatörlerin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda bazı gıda kaynaklı proteinlerin ve protein-karbonhidrat komplekslerinin bitkisel yağların yapılandırılmasında kullanılması umut verici bir yenilik olarak ortaya çıkmıştır. Bu sebeple, protein veya diğer polimerlerin bir yağ-su arayüzüne adsorbe edilmesi, ardından su fazının uzaklaştırılmasına dayanan yüksek yağ içeriği ve elastikiyete sahip yüksek iç fazlı emülsiyonların eldesi dikkat çekmektedir. Biyolojik olarak bozunabilir bir protein jel matrisi içine sıvı yağın sabitlenmesiyle gerçekleştirilen yağ yapılandırma işlemi, gıda, farmasötik, nutrasötik ve diğer uygulamalarında yeni ürünler geliştirmek için yeni bir teknik olarak dikkat çekmektedir. Bu derlemenin amacı protein ağ yapılarıyla sıvı yağların yapılandırılmasına (oleojel) ait güncel çalışmaların değerlendirilmesi ve yeni araştırma ihtiyaçlarının ortaya konulmasıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Oleojel, Protein, Emülsiyon, Yapılandırma, Gıda

### Oleogels Structured with Protein Emulsion Network

#### ABSTRACT

Edible liquid oils are usually structured with hydrogenation process, therefore *trans* and saturated fatty acid contents are enhanced. The relationship between saturated and *trans* fatty acids and cardio-vascular diseases are well documented. In the oleogelation technology, which took attendance as an alternative way of reducing saturated and *trans* fats in diet, the liquid oil is converted into viscoelastic gel liked structure by addition of organogelators, and feasible, economical and food grade organogelators are demanded. It was stated that as structuring agents, the use of proteins and protein-carbohydrate complexes are quite promising. For this reason, protein and other polymers are adsorbed onto the oil-water interface and then water was removed to yield high internal phase emulsions. These emulsions could be used to create the oleogels. Oleogels produced by immobilization of liquid oil in bio-degradable protein matrix could be used in foods, pharmaceuticals and other areas to develop new products, and this technique has recently drawn attention for research. The aims of this review are to evaluate the current studies about protein networks for oil structuring (oleogel), and to identify further research needs in this field.

**Keywords:** Oleogel, Protein, Emulsion, Structuring, Food

## GİRİŞ

Katı ve/veya yarı katı konsistensdeki yağların gıda sektöründe çok önemli bir yeri bulunmaktadır. Ancak doğal katı yağlar oldukça sınırlı olduğu için, sıvı yağlar çeşitli yöntemlerle (hidrojenasyon, interesterifikasyon, paçallama, kristallendirme gibi) yapılandırılmaktadır. Bu işlemlerin bir kısmında, yağda *trans* ve/veya doymuş yağ asitlerinin daha yüksek seviyeye çıkması kaçınılmaz olmaktadır. Doymuş yağların beslenme fazla miktarda yer almasının, *trans* yağ asitlerinin sürekli ve aşırı miktarda tüketilmesinin, koroner kalp hastalığı riskini artırabileceği bilimsel olarak teyit edilmiştir [1,2]. Son yıllarda alternatif bir teknik olarak 'oleojelasyon işlemi' geliştirilmiştir. Bu işlemde, likit yağa katılan bazı organojelasyon ajanlarıyla katı/yarı-katı görünümünde yağ jeli oluşturulurken, yağ asitleri bileşiminde ve izomerisinde herhangi bir değişim oluşmamaktadır. Ayrıca yağın diğer tüm minör bileşenleri de (tokoferoller, steroller, fenolikler) bir değişime uğramadan korunduğu için, oluşturulan oleojel sağlık açısından çok büyük avantajlar sunmaktadır [3-8].

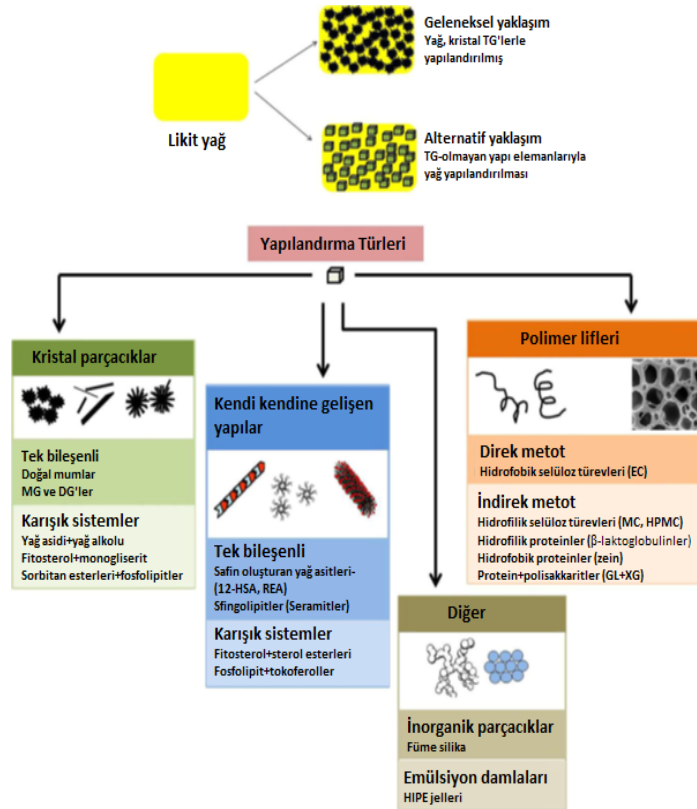
Oleojel (veya organojel), üç boyutlu jel ağı içerisine hapsolmuş termo-geri dönüşümlü düşük polariteli organik bir sıvı olarak tanımlanabilir [9]. Oleojelasyon; sıvı bir yağın viskoelastik özelliklere sahip "jel benzeri" bir yapıya dönüştürülmesi anlamına gelmekte [4,5] olup, doymuş yağların tüketimini azaltan, *trans* yağların gıda ürünlerinden [10] ve insan beslenmesinden [11] çıkarılmasını sağlayan ilginç bir alternatif metottur. Oleojel oluşumu için sıvı yağa çok farklı özelliklerde yapılandırma ajanları yani organojelatörler (veya oleojelatörler) katılmaktadır [1, 4,5, 12]. Organojelatörler

olarak yaygın bir şekilde, mumlar [13], lesitin ve diğer amfifiller [14, 15], orizanol-fitosterol karışımları [16], monogliseritler [17], bazı yağ asitleri, alkoller ve yağ asidi-şeker esterleri [4], seramitler, selüloz türevleri, bazı karbohidrat polimer türevleri ve bazı yenebilir gıda proteinleri [4, 10, 18] kullanılmaktadır. Bunların dışında birçok organojelatör (organik fazları jelleştirebilen ajanlar) bulunmakla beraber, gıdalarda doğrudan kullanmaya uygun değildir. Ayırımı belirtmek için bazen 'oleojelatör' terimi, yemeklik yağlarda jelleşme veya yapılandırma sağlayan, kendileri de yenebilir, güvenli maddeler olarak 'organojelatör' terimi yerine kullanılabilir. Her geçen gün yeni organojelatörler geliştirilmekte veya keşfedilmektedir. Daha düşük dozajda etkili, sağlıklı ve güvenli, gıda yapısı ve lezzetiyle uyumlu, kolay bulunabilir ve ucuz organojelatör ajanlarının keşfi önemli bir araştırma alanıdır [19].

Bu derlemenin amacı, protein biyopolimeri veya protein-karbohidrat kompleksleri kullanılarak geliştirilen yeni tip oleojeller hakkında detaylı bilgi sağlamak ve yeni araştırmalara olan ihtiyaçları ortaya koymaktır. Dolayısıyla, derlemede sadece bu tür jelleştirme üzerinde durulmuş, giriş bölümündeki temel tanımlamalardan sonra diğer oleojel türleri kapsam dışında tutulmuştur.

## OLEOJELASYON TEKNİĞİ

Farklı tür jel ajanlarıyla farklı mekanizmalar üzerinden oleojel oluşturmak mümkündür. Şekil 1'de farklı oleojel sistemleri gösterilmiştir [20,1].



Şekil 1. Yağ Yapılandırma Sistemleri [1, 20].



Görüldüğü gibi farklı oleojel tiplerini, kullanılan organojelatör tipi ve jelleşme mekanizması belirlemektedir. İlave edildiği yağda kristal parçacıkları üreten ve sıvı yağı kristaller arasında hapseden kristal parçacıklı yapılar, kendi-kendine yapılanan polimer parçacıkların ve bunların sıvı yağı immobilize etmesine dayanan sistemler, doğrudan gıda polimerlerini yağda çözündürerek, kendi oluşturdukları ağ yapı ile yağı jelleştiren sistemler ve inorganik parçacıklar vasıtasıyla yağı jelleştiren sistemler bulunmaktadır. Bu makelenin kapsamı sadece doğal polimerlerden gıda proteini ağ yapısını ve protein-karbonhidrat komplekslerini kullanarak oleojel geliştirilmesiyle sınırlandırılmıştır. Dolayısıyla diğer organojelatörlerin detayları üzerinde durulmayacaktır.

## PROTEİN AĞI TEMELLİ OLEOJELLER

Herhangi bir düşük molekül ağırlıklı jelatör maddesinin bir organik solventi jelleştirip jelleştiremeyeceğini belirlemek için çeşitli çözünürlük parametreleri önerilmiştir. Bunlar arasında dielektrik sabiti, polarite skalası, Hildebrand çözünürlük parametreleri, Kamlet-Taft parametreleri, çözünme entalpisi / entropisi ve Hansen çözünme parametreleri sayılmaktadır [21]. Ancak en güvenilir yolun deneysel araştırma olduğu da bildirilmiştir [22, 23]. Proteinler gibi gıda polimerlerinde ise, hidrofobik yük miktarı ve yük dağılımı yağı hapsedme açısından temel nitelik olarak belirlenmiştir [24]. Ayrıca çoğunlukla proteinlerle birlikte bazı gıda

hidrokolloitleri de kullanılmaktadır. Gıda maddelerinde jelleştirici ajan olarak sıklıkla kullanılan gıda hidrokolloidleri; sulu dispersiyonların koyulaştırılması ve jelleştirilmesi, stabilize köpükler, emülsiyonlar ve dispersiyonlar, partiküllü materyallerin süspansiyon haline getirilmesi ve sinerjinin önlenmesi veya azaltılması da dahil birçok fonksiyonu gerçekleştirmek için kullanılmaktadır [25]. Yemeklik yağları jelleştirme amacıyla kullanılan proteinlere mısırdaki bulunan zeinin yanı sıra soyadan elde edilen soya proteini, hayvansal protein olarak jelatin, peyniraltı suyu ve yumurta proteinleri örnek verilebilir. Gıda teknolojisinde jelleşme özelliğinden faydalanılan proteinler Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu proteinlerin oleojel oluşturma potansiyeli bulunmaktadır [26].

Proteinler, amfifilik doğaları sebebiyle emülgatörler olarak kullanılmaktadır. Apolar çözücüler için kısmi afiniteye sahip olmalarına rağmen, ağırlıklı olarak hidrofilik olmaları, yağda az dağılabilmelerine yol açmaktadır. Proteinlerin sıvı yağların jelleştirilmesinde kullanılması ilginç bir alternatif metoddur. Ancak proteinler polar olmayan çözücülerde az dağılabilme özelliğine sahip olduğu için, sıvı yağ gibi çözücülerde jel ağı oluşturma kabiliyetleri sınırlıdır. Ekonomik, verimli ve gıda sınıfı olan jelatörlerin belirlenmesine önemli derecede ihtiyaç vardır. Bu amaçla son zamanlarda proteinleri organojelatör olarak denemek için girişimlerde bulunulmuştur [9, 33].

Tablo 1. Gıda işlemede jelleştirici ajanlar olarak kullanılan proteinler

Jelleştirici madde	Kaynak	Bağlama bloğu adı	Uygulama	Kaynak
Jelatin	Hayvan derisi ve kemikleri	Glisin, hidroksiprolin ve prolin amino asitleri	Jöle, şekerleme, reçel, çiklet, yoğurt, krem, peynir ve margarin	[27- 29]
Peynir altı suyu proteini	Peynir altı suyu	Çoğunlukla $\beta$ -laktoglobulin ve $\alpha$ -laktalbümin gibi globüler proteinleri	Gıda endüstrisinde jelleştirici ve koyulaştırıcı	[30]
Soya proteini	Soya fasulyesi	İki globülin proteininin etkileşimi, glisin ve $\beta$ -koniglisin	Isı koyucu jel	[31]
Yumurta proteini	Yumurta	Yaklaşık % 70 oranında albümin ve % 30 yumurta sarısı lipoproteinleri	Şekerleme ürünleri için jelleştirici ve koyulaştırıcı madde	[30]
Zein	Mısır	Ağırlıklı olarak prolamin içeren protein	Jöle kaplanmış şeker, fındık, meyve, hap ve diğer kapsüllü yiyecek ve unlu mamüller	[32]

Proteinleri yağ içerisinde çözündürmek veya dağıtmak (dispersiyon) için önerilen teknik çözücü-değişimi yöntemidir. Bu yöntemde önce proteinin sulu çözeltisi hazırlanmakta, daha sonra tuz eklenmesi veya pH ayarı ile proteinin kısmi denatürasyonu sağlanmaktadır. Böylece proteinin iç kısımlarında bulunan hidrofobik amino asit kalıntılarının protein yüzeyine çıkması sağlanmaktadır. Daha sonra çözeltiye yavaş yavaş aseton veya tetrahidrofuran gibi kısmen daha az polar çözücüler eklenmektedir. En sonunda yağ da eklenmektedir. Sıralı bir şekilde yapılan bu işlemle, her

defasında çözgen vakum altında uzaklaştırılmakta ve nihayetinde sulu protein çözeltisindeki su fazı sıvı yağ ile yer değiştirmektedir. Bu şekilde üretilen oleojellerin yeterince dayanıklı oldukları bildirilmiştir. Bu sistemde yağ tutma kapasitesi, protein ağ yapısının esnekliğine veya şişme kapasitesine bağlıdır. Bunu ise polimerin sürekli fazda çözünen ve ağ yapıda elastik çekme gücüyle bağlı kısımları arasındaki dengeden kaynaklandığı bildirilmiştir. Dolayısıyla proteinin kısmi denatürasyon derecesi, izoelektrik pH'dan olan pH farklılığı ve katılan tuz miktarı belirleyici olmaktadır.

Ayrıca çözücü-değişimi sürecinin yavaş olması, protein polimerinin yeni non-polar çözücüyle etkileşimi için de elzemdir. Bu dispersiyon yapma olayında yağ polaritesinin ters orantılı ve yağ minör bileşenlerinin de etkili olduğu belirlenmiştir [24].

Ayçiçeği yağının sürekli faz olduğu bir çalışmada peyniraltı suyu proteini oleojellerini elde etmek için öncelikle protein hidrojenleri hazırlanmış, basit bir solvent değişim prosedürü kullanılarak ısı ile stabilize edilmiş peynir altı suyu protein hidrojenlerinin oleojellere başarılı bir şekilde dönüştüğü bildirilmiştir [9]. De Vries ve ark. [33]'nin yaptığı bir çalışmada peynir altı suyu protein izolat agregatlarını yağ fazına aktarabilmek için ara çözücü olarak asetonu kullanılarak ayçiçek yağına bir çözücü değişim prosedürü uygulanmıştır. Agregatların ağ oluşturmada son derecede etkili olduğu reolojik analiz sonuçları ile ortaya konulmuştur. Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada peyniraltı suyu proteini izolatı, hidrofilik ve hidrofobik füme silika, aseton ve farklı çözücü koşullarının etkisini değerlendirilmek için araştırılmıştır. Peynir altı suyu agregatları farklı polariteye sahip dört adet sıvı yağ (orta zincirli trigliserid yağı, ayçiçek yağı, sızma zeytinyağı ve hintyağı yağı) çeşidine çözücü değişim prosedürü ile transfer edilerek protein oleojelleri, aynı konsantrasyonda hidrofilik ve hidrofobik koloidal silika partikülleri ile hazırlanan jeller ile karşılaştırılmıştır. Koloidal protein agregatlarının jel oluşturma kabiliyetini diğer koloidal parçacıklarla karşılaştırmak için, iki tür füme silika ayçiçek yağına aynı konsantrasyonda dağıtılmış ve silika parçacıklarının yüzey kimyasına bağlı olarak farklı karakterde jel yapılar elde edilmiştir. Farklı yağ çeşitleriyle, parçacık-parçacık ve parçacık-çözücü etkileşimlerinde farklılıklar oluşurken reolojik davranışın da etkilediği gözlenmiştir [34]. Bazı tahıl proteinleri de (mısır zeini, buğday gluteni, darı kafirini, buğday gliadini gibi) bu amaçla kullanılmıştır. Tahıl proteinleri oldukça kompleks, heterojen, kolay çökelen ve çok zor çözünür polimerlerdir. Çoğu suda, tamponlarda ve tuz çözeltilerinde çözünmezken, sulu alkol çözeltilerinde veya asit, alkali ve deterjan eşliğinde kısmen çözünür. Hidrofobik doğaları oleojelasyon için avantaj sayılabilir. Genel olarak emülsiyon veya Pickering emülsiyonu hazırlandıktan sonra, sulu faz liyofilizasyon yöntemiyle veya çözücü değişimi yoluyla uzaklaştırılmakta ve likit yağ ortama eklenmektedir. Diğer yaklaşımda başlangıçta yağ fraksiyonu fazla olan bir emülsiyon oluşturulmakta ve sonrasında su fazı liyofilizasyon ile çekilmektedir. Bu şekilde oluşturulan oleojellerin dayanıklı olduğu ve gıdayla oldukça uyumlu olduğu bildirilmiştir [35]. Bir çalışmada, zein proteini-sodyum stearat kompleksi koloit karışımlarının basit ultrason ile çözüldürülmesinden sonra, su fazı liyofilizasyon ile uzaklaştırılmış ve %92 oranında yağı matriste tutan dayanıklı oleojel geliştirilmiştir [36]. Benzer bir diğer çalışmada, zein proteini, gliserol çözücüsünde 150°C'de çözüldürülmüş ve yağ bağlamada kullanılabileceği ifade edilmiştir [37]. Öte yandan 'janus parçacıklı zein' ile bir homojenizasyon işlemiyle çözücü kullanılmadan zein emülsiyonu üretilmiş ve emülsiyonun termo-dönüşümlü ve dayanıklı olduğu ve dolayısıyla yağ yapılandırılmada kullanılabileceği bildirilmiştir [38]. Chen ve ark. [39]'nin yaptığı çalışmada hidrofobik zein proteini ve  $\beta$ -karoteini çözmek için

gliserol çözücü olarak kullanılırken soya yağı, zein-gliserol karışık solüsyonlara belirli bir hacimde ilave edilerek karıştırılmış ve tam jelleşme için oda sıcaklığında soğutulmuştur. Zeinin yağ-gliserol arayüzlerinde toplandığı, belirli bir üç boyutlu ağ için yarı katı jelini destekleyen şerit benzeri yapılara hidrofobik olarak tutunduğu cry-SEM ile gözlenmiştir. Zein ve  $\beta$ -karotenin hidrofobik etkileşimi sebebiyle artan  $\beta$ -karoten ilavesinin, zein ile stabilize edilmiş emüljindeki jel mukavemetini zayıflatarak yayılma özelliklerini geliştirdiği reolojik ölçümlerle tespit edilmiştir. Aynı çalışmada  $\beta$ -karoten bakımından zenginleştirilmiş zein bazlı emüljelerin kek için margarin alternatifi olarak kullanılma potansiyali araştırılmış, zein bazlı emüljeller yüksek seviyede protein çapraz bağlanma sebebiyle standart kek ile kıyaslanabilir bir fonksiyonel özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Kafirin, darıda bulunan prolamin sınıfı bir proteindir ve suda çözünmez. Su-alkol karışımlarında ise çözünebilir. Kafirin proteini kullanılarak iç yağ fazı %78'e kadar varan dayanıklı Pickering emülsiyon üretilmiştir [40]. Ancak henüz oleojel çalışması yapılmamıştır. Liu ve ark. [3]'nin yaptığı bir çalışmada buğday gluteni-gliserol süspansiyonlarına mısır yağı yavaş yavaş ilave edilerek homojenize edilmiş, buğday gluteni, disülfid (S-S) bağlarının yeniden dağıtılmasını içeren yüksek sıcaklıklarda polimerizasyon/çapraz bağlanmaya uğrayarak protein ağını oluşturmuş böylece minimum buğday gluteni konsantrasyonuna sahip kendi kendine oluşabilen emülsiyon jellerinin oluşumu tespit edilmiştir.

## YÜKSEK İÇ FAZ EMÜLSİYONLARI (HIPE) TEMELLİ OLEOJELLER

Yüksek iç faz emülsiyonları (HIPE), bir protein ve bir karbonhidrat polimerinin birlikte oluşturduğu ve yağ oranı %70'in üzerinde (kütlesel yağ fraksiyonu 0.74 veya yüksek) olan emülsiyonlardır. Bu emülsiyonun hazırlanabilmesi için proteinin karbonhidrat polimeri ile kompleks yapması zorunludur. HIPE hazırlamak için önce uygun protein ve polimerler seçilir ve kompleks oluşumu için proteinin pl değerinden uzak pH'lara ayarlama yapılır. Yapıyı bir arada tutan kuvvet çoğunlukla H-bağlarıdır. Ayrıca, konsantrasyon, polimer tipi, yük dağılımı da etken parametrelerdir. Kompleksasyon sonucunda tek faz oluşursa emülsiyon başarılıdır. Ayrılmış (segregate) faz oluşumu emülsiyonun kırılmasına sebep olur. Bu durumda bileşenlerin oranları değiştirilerek yeni bir dayanıklı emülsiyon hazırlanır. Yağ oranı ne kadar yüksek olursa, daha sonraki kurutma (suyu uçurma) işlemi de o kadar kolay olur. Dolayısıyla mümkün olduğunca yağ oranı yüksek, ancak dayanıklı HIPE tipi emülsiyonlar üretilmelidir. Suyun uzaklaştırılması düşük sıcaklıkta ve vakum altında yapılacağı gibi liyofilizasyon ile de yapılabilir. Geriye kalan jel-içinde-yağ yapısının homojenliğini koruması ve oleojel yapısını kazanması için yapılan son işlem jelin ultra-turraks ile kısa süreli (6500 rpm ve 20 saniye) karıştırılmasıdır. Elde edilen yapının dayanıklı ve oleojel yapısında olduğu ve güvenle gıdalarda katı yağ ikamesi olarak kullanılacağı bildirilmiştir [41].

Yüksek iç faz emülsiyonları (HIPE'ler), proteinle stabilize edilmiş su içinde yağ emülsiyonlarının, ara yüzeyde protein çapraz bağlama ve su buharlaştırma işlemi ile yağ içinde bir protein jölesine dönüştürülebileceği tamamen tersinir bir jel, hidrofilik biyopolimerler ile stabilize edilmiş yağ fazının hacim fraksiyonunun 0.74'ün üzerinde olduğu konsantre emülsiyon olarak ifade edilebilir [42, 3]. Proses, proteinlerin veya diğer polimerlerin bir yağ-su arayüzü üzerine adsorbe edilmesine (kimyasal çapraz bağlama ile birlikte veya olmadan), daha sonra su fazının buharlaştırılmasına dayanan, yüksek bir yağ içeriği (ağırlıkça %99'un üzerinde) ve elastikiyete sahip yüksek iç fazlı emülsiyonlar (HIPE) elde etmeye dayanmaktadır. Protein stabilize edilmiş arayüzün termal [43] veya enzimatik çapraz bağlanması [44, 45], arayüze elastikiyet sağlamak için etkili bir yöntemdir. Jelleşme için genellikle gerekli olan çapraz bağlama, jellere karakteristik bir elastikiyet, mukavemet ve akış davranışı kazandırmaktadır [46].

Mezzenga [47]'nin yaptığı çalışmada, çapraz bağlanmış protein ile stabilize edilmiş su içinde yağ emülsiyonunu kurutarak bir oleojel elde ettiklerini bildirmişlerdir. Söz konusu teknikte, yağ damlacıklarının arayüzüne adsorbe edilen proteinler, termal işlem veya glutaraldehit ile kimyasal çapraz bağlanma ile bir protein ağı oluşturmuştur. Bu amaçla zeytinyağı, parafin yağı ve  $\beta$ -laktoglobülün kullanılarak jeller hazırlanmış; yağ önce protein açısından zengin bir su fazında emülsiyon haline getirilmiştir. Emülsiyon, yağ-su arayüzlerine proteinin tam olarak adsorbe olması için belli süre bekletilmiş, ardından emülsiyonun sürekli fazı adsorbe edilmemiş proteinin uzaklaştırılması için su içinde adsorbe edilmemiş proteinler mümkün olduğunca yıkanmıştır. Daha sonra ara yüzeydeki protein termal işlemle veya glutaraldehit ile yapılan kimyasal reaksiyonla çapraz bağlanarak ağ yapısı oluşturulmuştur. Adsorbe edilmiş protein katmanlarının çökmesini önlemek için kurutma esnasında düşük molekül ağırlıklı ve uçucu olmayan gliserol eklenmiştir. Kurutma aşamasında emülsiyon bir dizi geçişe uğrayarak emülsiyon haline getirilmiş yağ damlacıklarının şekli bir küreden polihedral köpük benzeri bir yapıya (kelvin hücresi) dönüştüğü gözlenmiştir. Daha sonra sistemde, kuru köpüğün tipik hava kabarcıkları yerine yağ damlacıkları yerleştirilmiştir. Bir küreden çok yüzlü yapıya geçiş, damlacık yüzey alanına %10'luk bir artışa yol açtığı gözlenirken, arayüzey gerilimin artması daha yüksek bir elastikiyetin meydana gelmesine sebep olmuştur.

Patel ve ark. [48] tarafından yapılan çalışmada jelatin ve ksantin biyopolimerleri ile stabilize edilmiş ve başka bir yüzey aktif madde içermeyen su içinde yağ emülsiyonu formüle edilmiş, ardından su fazının tamamen uzaklaştırılması (emülsiyonun kurutulması) ile yüksek konsantrasyonda likit yağ içeren (%97'nin üzerinde) yapılandırılmış katı sistemlerin oluşumu gözlenmiştir. Kısaca, düşük viskoziteli apolar sıvıları  $10^3$ - $10^5$  Pa'luk bir kesme elastik modülü ile elastik katılarına dönüştürmeyi sağlayan yöntemde stabilize protein damlacıklarından mono-dispers bir boşluk doldurma emülsiyonu oluşturulmuş, daha sonra emülsiyona yaklaşık %0.5 oranında gliserol ilave edilerek emülsiyon kurutulmuştur.

Bu uygulama, protein lamellerinin sürekli fazın içinde köpük oluşturarak bir yüksek ara yüzey fazı oluşturmaya (HIPE) yol açmıştır. Oluşan emülsiyonun şeffaf, elastik özellikleri zayıf ve güçlü davranışına sahip olduğu belirtilirken, elastikiyetin başlangıçta bir su içinde yağ emülsiyon kalıbının arayüzünde adsorbe edilen, üç boyutlu bir protein ağı tarafından sağlandığı gözlenmiştir. Söz konusu protein ağ yapısı, bitişik çok düzlemli hücrelerdeki protein filmleri tarafından oluşturulan protein ikili tabakalarından oluştuğu ortaya konmuştur. Prosedür, düşük viskozite ve üretim kolaylığı sağlayarak hidrofobik sıvıların katı özellik oluşturmaya için ilgi çekici bir strateji sunarken, yağ fazının kimyasal doğasını koruyarak emülsiyonun fiziksel özelliklerini değiştirmektedir [42].

## SONUÇ

Hızla gelişen teknoloji ile birlikte tüketicilerin bilinçlenerek sağlıklı ve güvenilir gıdaya taleplerinin artması; insan sağlığını tehdit eden gıda maddeleri ile ilgili endişeyi de arttırmıştır. Doymuş ve *trans* asitli yağ tüketiminin sağlığa olumsuz etkisi bilim dünyasının ilgisini çeken bir konu olmuştur. Beslenmede doymuş yağ asitlerinin fazla miktarda bulunması ve *trans* yağ asitlerinin sürekli ve aşırı tüketilmesinin koroner kalp hastalığı riskini arttırabileceğinin bilimsel olarak açıklanması, araştırmacıları doymuş ve *trans* yağ asitleri içermeyen lipit esaslı gıda ürünleri üretmek için yeni alternatif stratejiler aramaya yöneltmiştir. Bu sebeple oleojeller ilgi odağı haline gelmiştir. Likit yağların yarı katı yağa dönüştürülmesi için genellikle yağ asitleri veya alkoller, mumlar, fitositosteroller ve lesitin gibi düşük molekül ağırlıklı organojelatörler ile çalışılmış ancak verimli, ekonomik ve gıda sınıfı organojelatörlerin keşfine olan ihtiyaç da belirlenmiştir. Bundan dolayı yemeklik kalitede ve GRAS statüsünde alternatif organojelatör ajanlarının geliştirilebilmesi için, gıda endüstrisinde iyi jelleştirme yeteneğine sahip protein ve polisakkaritlerin organojelatör olarak kullanımına yönelik araştırmalar devam etmektedir. Protein emülsiyon ağ yapısının kurutulması veya çözücü değişimi esaslı ile veya su içinde yağ emülsiyonlarının, arayüz protein çapraz bağlama ve su buharlaştırma ile bir yağ içinde protein jeline dönüştürülebileceği gösterilmiştir. Benzer şekilde yeni bir yaklaşım olarak, yüksek iç faz emülsiyonlarına (HIPE) olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Birçok alanda uygulama bulan oleojellerin üretimine yönelik yeni organojelatörlerin keşfi önemli olup yeni ürün geliştirilmesinde umut vaat etmektedir. Diğer gıda proteinleri ve protein-karbonhidrat polimer kompleksleri ile yağ yapılandırma çalışmalarının artarak devam edeceği ve konunun güncel bir araştırma sahası olduğu bu derleme ile ortaya konulmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] Patel, A.R., Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: An overview and recent updates. *Food & Function*, 7(1), 20-29.
- [2] Mozaffarian, D., Clarke, R. (2009). Quantitative effects on cardiovascular risk factors and coronary heart disease risk of replacing partially hydrogenated vegetable oils with other fats and

- oils. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, S22-S33.
- [3] Liu, X., Chen, X-W., Guo, J., Yin, S-W., Yang, X-Q. (2016). Wheat gluten based percolating emulsion gels as simple strategy for structuring liquid oil. *Food Hydrocolloid*, 61, 747-755.
- [4] Co, E.D., Marangoni, A.G. (2012). Organogels: An alternative edible oil-structuring method. *Journal of American Oil Chemical Society*, 89(5), 749–780.
- [5] Rogers, M.A., Wright A.J., Marangoni A.G. (2009). Oil organogels: the fat of the future? *Soft Matter*, 5, 1594-1596.
- [6] Patel, A.R., Schatteman, D., Lesaffer A., Dewettinck, K. (2013a). A foam-templated approach for fabricating organogels using a water-soluble polymer. *RSC Advances*, 3, 22900-22903.
- [7] Patel, A.R., Schatteman D., De Vos W.H., Dewettinck, K. (2013b). Shellac as a natural material to structure a liquid oil-based thermo reversible soft matter system. *RSC Advances*, 3, 5324-5327.
- [8] Perneti, M., van Malssen, K.F., Flöter, E., Bot, A. (2007a). Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 12(4-5), 221-231.
- [9] De Vries, A., Hendriks, J., van der Linden, E., Scholten, E. (2015). Protein oleogels from protein hydrogels via a stepwise solvent exchange route. *Langmuir*, 31(51), 13850-13859.
- [10] Patel, A.R., Cludts, N., Sintang, M.D.B., Lesaffer, A., Dewettinck, K. (2014a). Edible oleogels based on water soluble food polymers: Preparation, characterization and potential application. *Food & Function*, 5(11), 2833-2841.
- [11] Rogers, M.A., Strober, T., Bot, A., Toro-Vazquez, J.F., Stortz, T., Marangoni, A.G. (2014). Edible oleogels in molecular gastronomy. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 2, 22-31.
- [12] Rogers, M.A. (2009). Novel structuring strategies for unsaturated fats-meeting the zero-trans, zero-saturated fat challenge: A review. *Food Research International*, 42(7), 747-753.
- [13] Blake, A.I., Co, E.D., Marangoni, A.G. (2014). Structure and physical properties of plant waxcrystal networks and their relationship to oil binding capacity. *Journal of American Oil Chemical Society*, 91(6), 885-903.
- [14] Nikiforidis, C.V., Scholten, E. (2014). Self-assemblies of lecithin and  $\alpha$ -tocopherol as gelators of lipid material. *RSC Advances*, 4(5), 2466-2473.
- [15] Perneti, M., van Malssen, K.F., Kalnin, D., Flöter, E. (2007b). Structuring edible oil with lecithin and sorbitan tri-stearate. *Food Hydrocolloid*, 21(5-6), 855-861.
- [16] Bot, A., Agterof, W.G.M. (2006). Structuring of edible oils by mixtures of  $\gamma$ -oryzanol with  $\beta$ -sitosterol or related phytosterols. *Journal of American Oil Chemical Society*, 83(6), 513-521.
- [17] Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M.C., Marangoni, A.G. (2010). Shear nanostructuring of monoglyceride organogels. *Food Biophysics*, 5(3), 211-217.
- [18] Patel, A.R., Rajarethinem, P.S., Grędowska, A., Turhan, O., Lesaffer, A., De Vos, W.H., Van De Walle, D., Dewettinck, K. (2014b). Edible applications of shellac oleogels: spreads, chocolate paste and cakes. *Food & Function*, 5, 645-652.
- [19] Sagiri, S.S., Samateh, M., John, G. (2018). Biobased molecular structuring agents. In: Edible oil structuring: concepts, methods and applications. Edited by A.R., Patel. Royal Soc. Chem, Cambridge, UK. pp. 25-52.
- [20] Patel, A.R., Dewettinck, K. (2015). Comparative evaluation of structured oil systems: Shellac oleogel, HPMC oleogel and HIPE gel. *European Journal Lipid Science and Technology*, 117(11), 1772-1781.
- [21] Bonnet, J., Suissa, G., Raynal, M., Bouteiller, L. (2014). Organogel formation rationalized by hansen solubility parameters: dos and don'ts. *Soft Matter*, 10, 3154-3160.
- [22] Marangoni, A.G., Garti, N. (2011). Food oil gels: new strategies for structuring edible oils. In: Edible oleogels: Structure and health implications. Edited by A.G., Marangoni, N., Garti. AOCS Press, Urbana, Illinois, 352s.
- [23] Patel, A.R. (2015). Alternative routes to oil structuring. Springer International Publishing, AG Switzerland. 70p.
- [24] Scholten, E., De Vries, A. (2018). Proteins as building blocks for oil structuring. In: Edible oil structuring: concepts, methods and applications. Edited by A.R., Patel. Royal Soc. Chem, Cambridge, UK. pp. 150-174.
- [25] Sutherland, I.W. (2007). Biotechnology of microbial polysaccharides in food. In: Food Biotechnology, Shetty, K., Paliyath, G., Pometto, A., Levin, E. (2nd Eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 193-220.
- [26] Banerjee, S., Bhattacharya, S. (2012). Food gels: gelling process and new applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 334-346.
- [27] Ward, A.G., Courts, A. (1977). The science and technology of gelatin. Academic Press, London, New York, 564p.
- [28] Schrieber, R., Gareis, H. (2007). Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice. Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 347p.
- [29] Oakenfull, D. (1987). Gelling agents. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*, 26(1), 1-25.
- [30] Aguilera, J.M., Rademacher, B. (2004). Protein gels. In: Proteins in Food Processing. Edited by, R.Y. Yada. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, New York, pp. 468-482.
- [31] Bhattacharya, S., Jena, R. (2007). Gelling behavior of defatted soybean flour dispersions due to microwave treatment: Textural, oscillatory, microstructural and sensory properties. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1305-1314.
- [32] Shahidi R, Synowiecky, J. (1991). Isolation and characterization of nutrients and value added products from snow crab (*Chionocetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(8), 1527-1532.

- [33] De Vries A., Wesseling, A., van der Linden, E., Scholten, E. (2017a). Protein oleogels from heat-set whey protein aggregates. *Journal of Colloid and Interface Science*, 486, 75–83.
- [34] De Vries, A., Gomez, Y.L., van der Linden, E., Scholten E. (2017b). The effect of oil type on network formation by protein aggregates into oleogels. *RSC Advances*, 19, 11803-11812.
- [35] Liu, X., Yang, X-Q. (2018). Cereal protein-based emulsion gels for edible oil structuring. In: *Edible oil structuring: concepts, methods and applications*. Edited by A.R., Patel, Royal Soc. Chem, Cambridge, UK. pp. 198-216
- [36] Zou, Y., Guo, J., Yin, S.W., Wang, J.M., Yang, X.Q. (2015). Pickering emulsion gels prepared by hydrogen-bonded zein/tannic acid complex colloidal particles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 7405-7414.
- [37] Osborne, T.B. (1987). The amount and properties of the proteins of the maize kernel. 2. *Journal of the American Chemical Society*, 19(7), 525-532.
- [38] De Vries, A., Nikiforidis, C.V., Scholten, E. (2014). Natural amphiphilic proteins as tri-block Janus particles: Self-sorting into thermo-responsive gels. *Europhysics Letter*, 107, 58003.
- [39] Chen, X.W., Fu, S.Y., Hou, J.J., Guo, J., Wang, J.M., Yang, X.Q. (2016). Zein based oil-in-glycerol emulgels enriched with  $\beta$ -carotene as margarine alternatives. *Food Chemistry*, 211(15), 836–844.
- [40] Xiao, J., Wang, X.A., Gonzalez, A.J.P., Huang, Q. (2016). Kafirin nanoparticles-stabilized Pickering emulsions: Microstructure and rheological behavior. *Food Hydrocolloids*, 54, 30-39.
- [41] Wijaya, W., Van Der meeren, P., Patel, A.R. (2018). Oleogels from emulsion (HIPE) templates stabilized by protein-polysaccharide complexes. In: *Edible oil structuring: concepts, methods and applications*. Edited by A.R., Patel. Royal Soc. Chem, Cambridge, UK. pp. 175-197.
- [42] Romoscanu, A.I., Mezzenga, R. (2006). Emulsion-templated fully reversible protein-in-oil gels. *Langmuir*, 22(18), 7812-7818.
- [43] Romoscanu, A., Mezzenga, R. (2005). Cross linking and rheological characterization of adsorbed protein layers at the oil-water interface. *Langmuir*, 21(21), 9689-9697.
- [44] Kellerby, S.S., Gu, Y.S., McClements, D.J., Decker, E.A. (2006). Lipid oxidation in a menhaden oil-in-water emulsion stabilized by sodium caseinate cross-linked with transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10222-10227.
- [45] Cho, Y.H., Shim, H.K., Park, J., 2003. Encapsulation of fish oil by an enzymatic gelation process using transglutaminase cross-linked proteins. *Journal of Food Science*, 68(9), 2717-2723.
- [46] Lynch, S.A., Mullen, A.M., O'Neill E.E., Garcia, C.A. (2017). Harnessing the potential of blood proteins as functional ingredients: A review of the state of the art in blood processing. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 330-344.
- [47] Mezzenga, R. (2011). Protein-templated oil gels and powders. In: *Edible oleogels: structure and health implications*. Edited by A.G., Marangoni, N., Garti. AOCS Press, Urbana, Illinois, pp. 271-294.
- [48] Patel, A.R., Rajarethinem, P.S., Cludts, N., Lewille, B., De Vos, W.H., Lesaffer, A., Dewettinck, K. (2015). Biopolymer-based structuring of liquid oil into soft solids and oleogels using water-continuous emulsions as templates. *Langmuir*, 31(7), 2065-2073.

## Çay Bitkisinin (*Camellia sinensis*) Bileşimi ve Sağlık Etkileri

Cemre Elmas  ✉, Ceren Gezer 

Doğu Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Gazimağusa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

Geliş Tarihi (Received): 27.04.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 09.10.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): cemre.elmas@emu.edu.tr (C. Elmas)

☎ 0 392 630 20 72 📠 0 392 630 39 40

### ÖZ

Dünya çapında yaygın olarak tüketilen içeceklerden olan çayın sağlık üzerine etkisi çoğunlukla bileşiminde bulunan fitokimyasallar ile ilişkilendirilmektedir. Çay üretim aşamasında fermantasyon işlemi, çay içeriğinde bulunan biyoaktif bileşenlerin çeşit ve miktarlarında değişiklikler oluşturmaktadır. Çay polifenollerinden kateşinlerin antioksidan aktivite ile obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların önlenmesine katkıda bulunduğu, aynı zamanda bu bileşenlerin antiviral, antibakteriyel ve nörolojik hastalıklara karşı koruyucu etkileri olduğu belirtilmektedir. Bu derlemede çayın bileşimi ve sağlık üzerine etkilerinin irdelenmesi hedeflenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Camellia sinensis*, Çay, Flavonoid, Epigallokateşin gallat

### Composition and Health Effect of Tea Plant (*Camellia sinensis*)

#### ABSTRACT

Tea is one of the most widely consumed beverages worldwide. The effect of tea on human health is often related to phytochemicals in its composition. During tea production, fermentation may produce variations by the amount and type of bioactive components present in the tea content. Catechins in the tea polyphenols show antioxidant activity. These components contribute to the prevention of diseases such as obesity, diabetes, cardiovascular diseases and cancer. It is also stated that these components may have protective effects against viral, bacterial and neurological diseases. In this study, it is aimed to review the bioactive constituents of tea and their effect on human health.

**Keywords:** *Camellia sinensis*, Tea, Flavonoid, Epigalloatechin gallate

#### GİRİŞ

Çay, dünya çapında hem sıcak hem de soğuk olarak çok fazla tüketilen popüler içeceklerin başında gelmektedir. *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından hasat ve işleme sırasında uygulanan farklı yöntemlerle siyah çay, oolong çay, yeşil çay, beyaz çay gibi farklı çay ürünleri üretilmektedir. Bu farklılık işleme sürecindeki fermantasyon işlemine bağlı olarak, taze yapraklardaki polifenollerin oksidasyon derecesiyle ilişkilidir [1]. Siyah çay üretim basamaklarında yapraklar kıvrılarak polifenol oksidaz ile oksidasyona uğraması sağlanır. Bu işlem ile flavan-3-ol (kateşin) seviyeleri

düşmektedir. Yeşil çay ise oksidasyona uğratılmadan üretildiğinden zengin bir okside olmamış kateşin kaynağıdır. Çaylarda bulunan en önemli fenolik bileşikler kateşinlerdir [2]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda çayın bu biyoaktif bileşenleri sayesinde kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet, oksidatif ve inflamatuvar hastalıklar, bakteriyel ve viral hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir [3-5]. Bu derlemede çayın bileşimi ve sağlık üzerine etkilerinin irdelenmesi hedeflenmiştir.

## ÇAY HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Çay bitkisi *Theaceae* familyasının *Camellia* cinsine aittir (*Camellia sinensis* veya *Thea sinensis*) [6]. Çay bitkisi nemli iklimlerde yetişen, her mevsim yeşil olan, kısa boylu, çok yıllık, çalı türü bir ağaçtır. Çay bitkisi yaklaşık olarak 40 ülkede yetiştirilmekte olup iklim koşullarına bağlı olarak yarı tropik bir bitki olarak değerlendirilebilmektedir. Çay bitkisi üretiminin önemli bölümü Çin, Sri Lanka, Endonezya, Japonya, Hindistan, Tayvan ve merkez Afrika ülkelerinde yapılmaktadır [7-9].

## ÇAY ÜRETİMİ VE İŞLEME TEKNİKLERİ

Çay üretiminde, bitkinin sürgün ucundan iki yaprak ile bir tomurcuğun (iki buçuk yaprak olarak isimlendirilir) kullanılması tercih edilmektedir. Bunun nedeni kalite bakımından önemli olan farklı bileşenlerin bitkinin bu iki buçuk yaprak kısmında yoğun olarak toplanmış olmasıdır [10]. Çay bitkisinden temelde üç çeşit çay üretilmektedir. Bu çay çeşitleri; siyah çay, yeşil çay ve oolong çay'dır. Tüm bu çaylar *Camellia sinensis*'ten üretilmekte ve üretim aşamasındaki oksidasyon işlemine bağlı olarak farklılaşmaktadır [11-13].

Türk Gıda Kodeksi, Çay Tebliği, (Tebliğ No: 2015/30)'ne göre siyah çay, "*Camellia sinensis* türünün farklı çeşitlerinin genç sürgünlerinden tepe tomurcuğu ve onu takip eden taze yapraklar ve taze tek yaprak, taze iki yaprak ve taze üç yapraklı sürgünler ile bunları birbirine bağlayan taze sap kısımlarının soldurma, kıvrıma, parçalama, oksidasyon ve kurutma gibi üretim aşamaları ile işlenmesi sonucu elde edilen ürün" şeklinde tanımlanmaktadır. Yeşil çay ise "*Camellia sinensis* türünün farklı çeşitlerinin genç sürgünlerinden tepe tomurcuğu ve onu takip eden taze yapraklar ve taze tek yaprak, taze iki yaprak ve taze üç yapraklı sürgünler ile bunları birbirine bağlayan taze sap kısımlarının, enzim inaktivasyonu, kıvrıma, parçalama, kurutma gibi üretim aşamaları ile işlenmesi sonucu elde edilen okside olmamış ürün" şeklinde tanımlanmaktadır [14]. Buna göre siyah çay tam fermentasyon ile elde edilirken yeşil çay fermente edilmez. Oolong çay ise kısmen fermente edilmektedir [15].

Çayın üretim aşamalarına bakıldığında ilk olarak hasat edilen yapraklar tepsiler içinde ya da kurutma odalarındaki kurutma raflarında soldurulmaktadır. Bu işlem aynı zamanda dehidratasyonu da kapsamaktadır. Taze yaprakların nem oranı yaklaşık olarak %75'ten %55-65'e düşer ve yapraklar yumuşamaya başlar. Bu işlemle yapraklar bir sonraki aşama olan kıvrıma işlemi için uygun hale getirilmiş olup sonraki işlem olan fermentasyon için uygun ortam oluşturulur. Aroma gelişimi ve fermentasyon için enzim aktivitesi başlar. Daha sonraki aşamada soldurulmuş yapraklar kıvrılır ve fermentasyon başlar. Kıvrılan çaylar makinalarda küçük parçalar haline getirilir. Çaylarda çeşitliliği sağlayan aşama olan fermentasyon aşamasında buhar ısıyı verilerek 2-3 saatte fermentasyonun gerçekleşmesi sağlanır. Fermentasyon işlemini durdurmak için çay yaprağı kurutularak nem içeriği belirli bir seviyeye

indirilir. Hazırlanan yapraklar belirli özelliklere göre ayrılarak uygun koşullarda paketlenir [16].

Siyah çay, yeşil çay ve oolong çayı dışında çok az miktarda beyaz çay üretilmektedir. Bu çay türü bahar aylarında tomurcuklar henüz kapalıyken toplanan yaprakların, güneş altında uzun süre kurutulup, yaprak kıvrıma işlemi uygulanmadan çayın hafifçe okside edildiği türdür [1].

## ÇAYIN BİLEŞİMİ

### Besin Ögesi İçeriği

Çay ürününün kimyasal kompozisyonu çayın kökenine, yaşına ve işleme sürecine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir [16]. Tablo 1'de 15 gram çay yaprağının bir litre suya eklenip, beş dakika demlendikten sonra süzülerek tüketilen çayın 100 gramındaki bileşenlerin miktarları bulunmaktadır. Makro ve mikro besin öğelerinden çoğunu eser miktarda içerirken, bunlardan potasyum miktarının öne çıktığı görülmektedir [17].

### Polifenol İçeriği

Çay bitkisi 4000'den fazla kimyasal bileşene sahip, kuru ağırlığıyla bitkiler arasında en fazla flavonoid içeren bitkilerden biridir [18]. Taze çay yaprakları geniş oranda fenolik bileşikler içermektedir. Bunlar flavonoidlerden kateşinler, flavonoller, proantosiyanidinler ve fenolik asitlerdir. Siyah çay, oolong çay ve yeşil çay üretimine bağlı olarak kateşinlerin fermentasyonu endojen enzimlerden polifenol oksidaz ve peroksidaz tarafından gerçekleştirilir. Fermentasyon sırasında kateşinler okside olarak theaflavinler, theasitrinler, theasinensinler, theanaptokinonlar ve thearubigin'ler olmak üzere dimerik ve oligomerik bileşiklere dönüşmektedir [13, 19, 20]. Yeşil çayda kateşinler daha fazla bulunurken, siyah çayda fermentasyon işlemiyle bu kateşinler yerini theaflavinler ve thearubiginlere bırakmaktadır. Bu bileşenler aynı zamanda çaya karakteristik aroma ve renk vermektedir. Thearubiginler, siyah çayda en fazla bulunan fenolik bileşiklerdendir [1, 13, 19, 20]. Yeşil çayda ise en fazla bulunan epigallokateşin gallat (EGCG)'tir. Bunu sırasıyla epikateşin gallat (ECG), epigallokateşin (EGC) ve epikateşin (EC) izlemektedir. Bunların yanı sıra çay yaprakları fenolik asit türevlerinden hidrolize edilebilir tanenleri (ellagitanenler ve gallotanenler) içermekte olup, bu bileşenler antioksidan özellikleri ile kanser ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Bir diğer fenolik asit türevi olan striktinin özellikle alerjik hastalıklarla ilişkilendirilen önemli bir bileşendir. Striktinin yeşil ve siyah çayda bulunup konsantrasyonu yaprakların olgunluğuna göre değişmektedir. Trigalloil glikoz, theogallin, gallik asit de çayın içermiş olduğu fenolik asit türevlerindedir. Theanin ise çayda bulunan önemli bir amino asittir [13, 19, 20].

### Kafein İçeriği

Türk Gıda Kodeksi, Çay Tebliği, (Tebliğ No: 2015/30)'ne göre, kafeinsiz siyah/yeşil çay, 'kafein miktarı kuru maddede ağırlıkça %0.1'yi geçmeyen çay' olarak

tanımlanmaktadır [14]. Kafein çayda bulunan başlıca alkaloidlerden olup miktarı %1.5-5 arasında değişebilmektedir [13]. Bir fincan (237 ml) yeşil çaydaki

kafein miktarı yaklaşık olarak 30 mg, siyah çayda ise yaklaşık olarak 50 mg'dır (21).

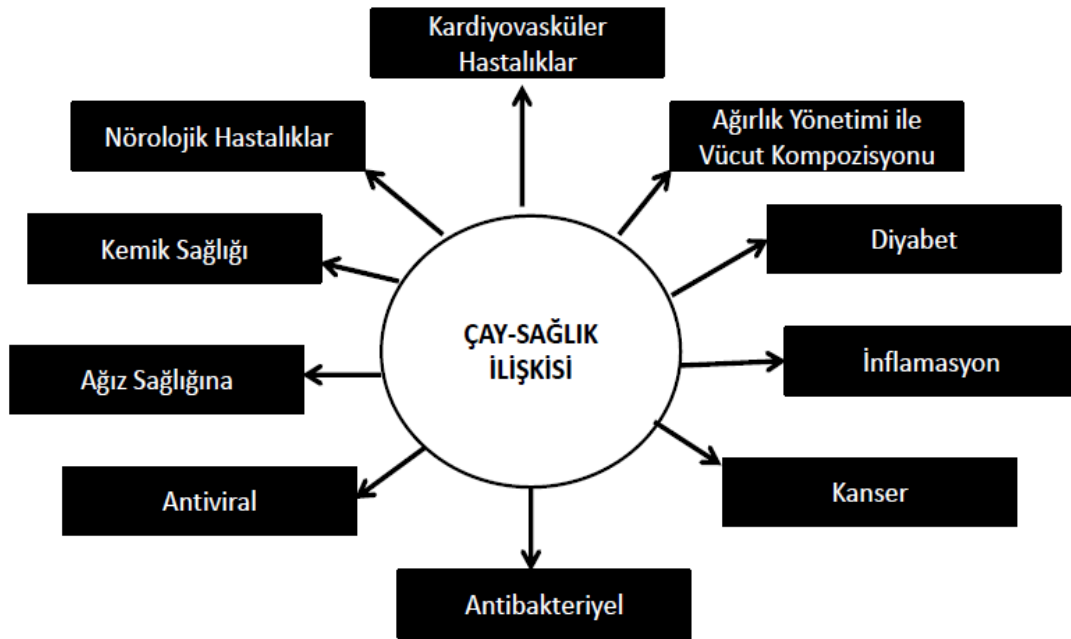
Tablo 1. Çayın tüketilebilir 100 gramının bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Protein (g)	0.1
Yağ (g)	Eser miktarda
Karbonhidrat (g)	Eser miktarda
Sodyum (mg)	Eser miktarda
Potasyum (mg)	27
Kalsiyum (mg)	Eser miktarda
Magnezyum (mg)	2
Fosfor (mg)	2
Demir (mg)	Eser miktarda
Bakır (mg)	0.01
Çinko (mg)	Eser miktarda
Klor (mg)	1
Manganez (mg)	0.15
Selenyum (mcg)	Eser miktarda
İyot (mg)	Eser miktarda
Tiamin (mg)	Eser miktarda
Riboflavin (mg)	0.02
Niasin (mg)	0.2
B6 vitamini (mg)	Eser miktarda
B12 vitamini (mcg)	0.2
Folat (mcg)	3
Pantotenat (mg)	0.04
Biotin (mcg)	1

## ÇAY VE SAĞLIK İLİŞKİSİ

Çayın sağlıkla bir ilişkisi olduğu inancı 19. yy'a dayanmaktadır. Çayın sağlık üzerine olan yararları genel olarak içerdiği çeşitli polifenoller ile ilişkilendirilmektedir [18, 22]. Kardiyovasküler hastalıklar,

obezite, diyabet, oksidatif ve inflamatuvar hastalıklar, bakteriyel ve viral hastalıklar, kanser, nörolojik hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli yere sahip olduğu öne sürülmektedir [3-5] (Şekil 1). Bunlarla ilgili çalışmalar sağlık etkileri anlatıldıktan sonra tablo 2, 3 ve 4'te özetlenmiştir.



Şekil 1. Çay ve sağlık ilişkisi



### Çayın Kardiyovasküler Hastalıklarda Etkisi

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) koroner kalp hastalıkları, inme, romatizmal kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı, hipertansif hastalıklar ve aritmiler gibi; kalbin ve kan damarlarının tüm hastalıklarını kapsayan oldukça geniş, bir hastalık grubudur [23]. Genel olarak çay tüketiminin kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı bilinmektedir [24-28]. Yapılan bir meta-analizde, çay tüketimi ile koroner kalp hastalıkları ve inme arasındaki ilişkide sonuçların kesin olmadığı ancak miyokardiyal enfarktüstten koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir [29]. Çay tüketiminin bu hastalıklar üzerindeki olumlu etkisi yapısındaki antioksidanlarla açıklanmıştır. Çaydaki flavonoidlerin riski azalttığı ancak etki mekanizmasının halen tamamen net olmadığı bildirilmektedir. Flavonoidlerin düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe ettiği, bağırsaktan kolesterol emilimini ve platelet agregasyonunu azalttığı, kan basıncında etkili olduğu bildirilmektedir [24, 30]. Bu konuyla ilgili randomize, çift kör, plasebo kontrollü 48 sağlıklı yetişkinle yapılan bir çalışmada, bireyler 4 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba 250 mg kafein, ikinci gruba 200 mg theanin, üçüncü gruba ise kafein ve theanin kapsül olarak verilmiştir. Dördüncü grup ise plasebo grubu şeklinde oluşturulmuştur. Çayda bulunan theaninin kafeinin antagonist olarak çalışıp kan basıncını düşürdüğü belirlenmiştir [31].

### Çayın Ağırlık Yönetimi ile Vücut Kompozisyonuna Etkisi

Obezite ve beraberinde getirdiği diğer sağlık sorunları dünya çapında görülen sağlık sorunlarının başında yer almaya devam etmektedir. Vücut ağırlığı kaybıyla ilgili olan iştah, besin ögesi emilimi ve termogenezisi etkileyen faktörlerden biri de çay tüketimidir. Epidemiyolojik ve randomize kontrollü müdahale çalışmaları çay tüketimi ile vücut yağ oranı ve bel çevresi arasında ters yönlü bir ilişki olduğunu göstermektedir [20, 32, 33]. Yeşil çay ve obezite ilişkisi kateşinlerin termogenezis ve substrat oksidasyonu üzerine etkileriyle ilgili olmakla birlikte iştah kontrolündeki değişiklikler, hepatik lipid metabolizmasına katılan enzimlerin düzenlenmesi ve besin maddesinin emiliminin azalması olası diğer etki mekanizmalarıdır. Sempatik sinir sistemi (SSS) enerji harcaması ve lipolizin düzenlenmesinde büyük rol oynamaktadır. SSS'nde bir anahtar olan norepinefrin (NE) enerji harcamasını ve yağ oksidasyonunu arttırmaktadır. Kateşinler, norepinefrini indirgeyen enzim olan katekol O-metil transferaz (COMT)'yi inhibe ederek sinaps boşluğuna sempatik olarak salınan NE'nin hareketini uzatabilmektedir. Bunun yanı sıra yeşil çayda bulunan kafein de SSS etki ederek benzer etkiler gösterebilmektedir. Dolayısıyla kateşin ve kafeinin birlikte alınması sinerjik bir etki ile enerji harcaması ve lipolizi etkileyebilmektedir [34-38]. Karaciğer yağ asidi oksidasyonunun düşük olması iştahı artırmaktadır. Kateşinlerin ise hepatik yağ oksidasyonunu artırabileceği ve buna bağlı olarak iştahın değişebileceği bildirilmektedir. Ancak bu konuda yapılan deneysel

çalışmalarda farklı ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir [39-42]. Bunun yanı sıra kateşinler  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz aktivitesine etki ederek glikoz emilimini engelleyebilmektedir [43]. Tüketime hazırlanan çaydaki bitki miktarı, demleme süresi ve su sıcaklığının biyoaktif bileşenlerin kompozisyonunu etkileyebileceği bildirilmektedir. Bu biyoaktif bileşenlerin çayın içecek olarak tüketilmesi veya takviye olarak alınmasına bağlı olarak farklı etkileri olabileceği belirtilmektedir. Bu nedenle, yeşil çayın biyoaktif bileşen miktarının obezite ilişkisiyle ilgili daha fazla araştırmaya gerek duyulmaktadır [20].

### Çayın Diyabete Etkisi

Günümüzde diyabet prevalansı her geçen gün artmaktadır. Ancak bu durumun sağlıklı yaşam biçimi davranışlarının geliştirilmesiyle önenebileceği bilinmektedir [44]. Kahve ve çay tüketiminin diyabet riski ile ters bir ilişkisi olduğu bildirilmektedir. Çay tüketimi düşük beden kütle indeksi (BKİ) ile ilgili olarak diyabet riskini azaltmasının yanı sıra amilaza etki etmesiyle de ilişkili olduğu belirtilmektedir. Çay polifenollerini nişastanın daha yavaş sindirilmesini sağlayarak serum glikozundaki ani yükselmeleri azaltabilmektedir [45, 46]. Singapur'da yapılan bir çalışmada düzenli olarak kahve ve siyah çay tüketiminin düşük diyabet riski ile ilişkili olduğunu gösterirken yeşil çay ile ilgili bir ilişki bulunamamıştır. Bu etkinin siyah çayda bulunan kafeinden meydana geldiği düşünülmektedir [47]. Yapılan başka bir retrospektif kohort çalışmada ise yeşil çay alımının siyah çaya kıyasla daha düşük diyabet riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [48]. Kahve ve çay tüketimi ve tip 2 diyabet riski ilişkisinin incelendiği diyabet hastası olmayan 5823 yetişkin bireyle yürütülen bir çalışmada, kahve ve çay tüketiminin diyabet insidansı ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır [49].

### Çayın İnflamasyondaki Etkisi

Akut veya kronik inflamasyon varlığı olan birçok patolojik durum, organizmada metabolik ve biyokimyasal süreçlerde önemli değişiklikler meydana getirmektedir. Beslenme, bu süreçlerin gelişmesinde ve iyileşmesinde önemli bir rol almaktadır [50]. Çayda bulunan flavonoidlerin flavonol, antosiyanin ve izoflavon alımının özellikle inflamasyonun önemli bir göstergesi olan C-reaktif protein (CRP) konsantrasyonu ile negatif ilişkili olduğu bilinmektedir [30, 51]. Omurilik hasarı olan farelerle yapılan *in vivo* çalışmada EGCG uygulamasının inflamatuvar sitokinleri baskıladığı ve bu yönde koruyucu etkisi olduğu görülmüştür [52]. Yine farelerle yapılan başka bir çalışmada 30 gün boyunca 10 mg/kg/gün EGCG tedavisinin, inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini ve oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [53].

### Çayın Kanser Üzerindeki Etkisi

Çay ve kanser ilişkisinde çayın bileşiminde bulunan ve antioksidan özellik gösteren EGCG ve theaflavin öne çıkmaktadır. Bu bileşenler özellikle çayın antioksidan özelliğinden kaynaklı olarak kanser hücrelerinin oluşumunu, büyümesini ve çoğalmasını

önleyebilmektedir [46, 54, 55]. Özellikle yeşil çayın bileşiminde bulunan polifenollerin anjiogenezi engelleyebildiği bildirilmektedir [56, 57]. Çay polifenollerinin kanser hücre döngüsünde bu şekilde etki ederken, normal hücrelerde bu etkilerinin olmadığı belirtilmektedir. EGCG'nin kanser hücrelerinde etkili olduğu yollar; mitojen aktif protein (MAP) kinazlar ve aktivatör protein-1 (AP-1), nükleer faktör-kB (NF-kB) sinyal yolu, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) aracılı yollar, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) -1 aracılı sinyal transdüksiyon yolları, proteozom aktiviteleri, matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesi, ürokinaz-plazminojen aktivatör aktiviteleri ve apoptozun indüklenerek, hücre döngüsünün durdurulması şeklinde özetlenmektedir [58]. Yeşil çay ve kanser ilişkisinin incelendiği çalışmalarda, yeşil çay tüketimi artıkkça prostat, meme, boğaz, mide kanseri gibi farklı kanser türlerinin riskinin azaldığı saptanmıştır [59-61]. İnsan prostat kanser hücresiyle (PC-3) yapılan bir çalışmada bu kanser hücrelerine 48 saat 0-50 µM EGCG uygulamasının hücre çoğalmasını önleyici etkiler gösterdiği saptanmıştır [62]. İnsan meme kanseri hücre dizisi olan MDA-MB-231 hücreleriyle yapılan bir çalışmada 24 saat 50-80 µg/mL EGCG'nin uygulanmasının MMP-9 ifadesini azaltarak hücre apoptozunu indüklediği görülmüştür [63]. Gastrik kanser hücreleriyle yapılan başka bir çalışmada da EGCG uygulamasının hücre apoptozunu indüklediği belirlenmiştir [64].

### Çayın Antiviral ve Antibakteriyel Etkileri

Çayın potansiyel sağlık etkileri daha önce de söz edildiği gibi içeriğindeki fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır [65]. Bu fenolik bileşiklerden özellikle EGCG ve EGC'den zengin yeşil çayın antimikrobiyal, antifungal ve antiviral etkilere sahip olduğu gösterilmektedir [66, 67]. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada yeşil çayın özellikle *Escherichia coli*'ye karşı potansiyel antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir [68]. Yeşil çay yaprak özlerinin, çevresel kaynaklardan izole edilen çeşitli bakterilere karşı antibakteriyel etkinliğini test etmek amacıyla yapılan bir çalışmada yeşil çayın antibakteriyel aktivitesi saptanmıştır [69]. *Camellia sinensis*'ten elde edilen yeşil, siyah ve farklı bitkisel çayların polimerik olmayan fenolik ve polimerik tanen bileşenlerinin rolünün araştırıldığı bir çalışmada bu bileşenlerin güçlü antioksidan ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu saptanmıştır [70]. Başka bir çalışmada yeşil çay kateşinlerinin influenza virüs replikasyonu inhibisyonu ile antiviral etki gösterebildiği saptanmıştır [71]. Bunun yanı sıra yeşil çay kateşinlerinin *Herpes simplex virüsü* ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonu üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu bilinmektedir [3].

### Çayın Ağız Sağlığına Etkisi

Diş çürükleri ve diğer ağız hastalıkları özellikle çocuklarda olmak üzere sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Çürük gelişmesindeki ana bakteri ajanları *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ve *Lactobacillus*'tur. Özellikle yeşil çayın, diş çürüğünün önlenmesinde etkin bir madde olduğu bildirilmektedir. Diğer sağlık sorunlarında olduğu gibi ağız sağlığında

(diş çürükleri, ağız içi mukoza) da özellikle kateşinler faydalı özelliklerin çoğundan sorumludur. Birçok çalışmada, yeşil çayın streptokok ajanının çoğalmasını inhibe etme, diş minesine bakteri yapışmasını önleme, glukozil transferaz ve amilaz inhibitörü olarak diş çürüğü oluşumunu önleyebildiği gösterilmiştir [72-75]. Yapılan bir çalışmada yeşil çayın oral peroksidaz aktivitesini artırdığı ve ağız boşluğundaki oksidatif strese karşı daha fazla koruma sağlayabildiği belirlenmiştir [76]. Sodyum florür ile yeşil çay ağız durulamasının çocuklarda tükürük *Streptococcus mutans* ve *Lactobacillus* düzeyleri üzerindeki etkisini karşılaştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada ise yeşil çay ile ağız durulaması, tükürük *S. mutans* ve *Lactobacillus* koloni sayısının önemli ölçüde azalmasına ve bunu yaparken de sodyum florüre kıyasla daha az yan etkiye sahip olduğu görülmüştür [77]. Başka çalışmalarda da benzer şekilde çay içmenin ve kahvenin diş plak oluşumunda belirgin inhibisyona neden olduğunu ve aynı zamanda diş plakasında ve tükürükte *S. mutans* ve *Lactobacillus*'u azalttığı gösterilmiştir [78, 79]. Yine başka bir çalışmada yeşil çay tüketimi ile azalmış diş kaybı oranı arasında bir ilişki olduğunu belirtmiştir [80]. Sonuç olarak birçok oral ve periodontal hastalığın önlenmesi ve tedavisinde yeşil çay ürünlerinin etkin bir şekilde kullanılabileceği bildirilmektedir [4].

### Çayın Kemik Sağlığına Etkisi

Genetik özellikler, erken yaşta adet görme, beslenme, düşük fiziksel aktivite düzeyi, kalsiyum ve D vitamini yetersizliği kemik sağlığını etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Risk faktörlerinin bilinmesi yaşam boyunca kemik sağlığı ile ilgili problemlerin önlenmesinde ve tedavi edilmesinde önemlidir. Değiştirilebilir risk faktörlerinin başında beslenme gelmektedir. Son zamanlarda beslenmeyle ilgili olarak kemik sağlığında yeşil çay üzerinde durulmaktadır. Yeşil çayın oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak kemik sağlığını olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir [81, 82]. Menopoz döneminde kemik yoğunluğunun azaldığı kadınlarda yeşil çay polifenol desteğinin ve Tai Chi uygulamasının, kemik oluşumu biyobelirteçlerini artırdığı ve kemik dönüşüm hızı oranını (bone turnover rate) geliştirdiği görülmüştür [83]. Farelerle yapılan başka bir çalışmada ise yine yeşil çay polifenol desteğinin kemik sağlığında olumlu etkiler yaptığı saptanmıştır. Yeşil çayın antioksidan kapasiteyi artırarak ve inflamasyonu baskılayarak bu etkiyi gösterdiği düşünülmektedir [84]. Başka bir çalışmada kahve ve çay tüketiminin artmasının fiziksel aktiviteden, güneşe maruz kalma, yaş, cinsiyet ve BKİ'den bağımsız olarak dolaşımdaki D vitamini seviyelerini yükselttiği saptanmıştır [85]. Oolong çayıyla ilgili yapılan bir çalışmada ise oolong çay içilmesini menopoz dönemindeki Çinli kadınlarda kemik kaybını önlemeye yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır [86].

### Çayın Nörolojik Hastalıklardaki Etkisi

Nörodejeneratif bozukluklar prevalansı gün geçtikçe artış göstermektedir. Yeşil çayda bulunan EGCG'nin çeşitli nörolojik fonksiyonlara etki edebilmektedir [87]. Dolayısıyla yeşil çay polifenollerinin Parkinson ve

Alzheimer hastalıklarına ve diğer nörodejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlayabileceği öngörülmektedir [88, 89]. Bir kohort araştırmada, çay tüketiminin Çinli yetişkinlerde düşük bilişsel bozukluk prevalansı ile ilişkili olduğu, çaylar arasında siyah ve oolong çayların en belirgin etkileri gösterdiği belirlenmiştir [90]. Diğer bir kohort çalışmada, yeşil çay

tüketimi ile ilgili olarak yaşlılarda depresif belirtilerin görülme sıklığının daha düşük olduğu saptanmıştır [91]. Bunların yanında theanine'in, kortikal nöron uyarılmasının önleyerek psikolojik ve fizyolojik stres tepkilerini azaltması sonucu anti-stres etkilerine neden olabileceği düşünülmektedir [92].

Tablo 2. Çay ile ilgili hayvan çalışmaları

Çalışma Konusu	Çalışma şekli	Denekler	Çalışma planı	Sonuç	Kaynak
	Deneysel çalışma	Yeni Zelanda siyah fareleri (erkek)	-3 grup oluşturuldu: 1. grup kontrol grubu (%0 yeşil çay ekstratı) 2. grup (%0.5 w/w yeşil çay ekstratı) verilmiştir. 3. grup (%1 w/w yeşil çay ekstratı) verilmiştir. -4 hafta boyunca bu şekilde uygulama yapılmıştır.	Doza bağlı olarak yeşil çay ekstratıyla birlikte; -Vücut yağ deposunda azalma -Besin sindirilebilirliğinde ve uzun süreli enerji emiliminde azalma -Beyaz adipozitlerde leptin ve stearoil-CoA desatüraz-(1SCD1) gen ekspresyonunda azalma olmuş, ancak kahverengi adipozitlerde değişme olmamıştır. - Lipogenezde azalma ve yağ oksidasyonunda artma görülmüştür.	[39]
Çay – Obezite	Deneysel çalışma	Yüksek yağlı beslenen Erkek Sprague-Dawley fareleri	- 3 grup oluşturuldu: 1. grup normal yağlı diyetle beslenmiştir. 2. grup yüksek yağlı diyetle beslenmiştir. 3. grup yüksek yağlı diyetle beslenen ve 20 g/kg yeşil çay ekstratı almıştır. -14 gün boyunca bu şekilde uygulama yapılmıştır.	Yeşil çay ekstratıyla, -Vücut yağ kazanımında azalma - Kahverengi adipoz dokuya bağlı termogenezis artış gözlemlenmiştir.	[40]
	Deneysel çalışma	Erkek Wistar Fareleri	-2 grup oluşturuldu: 1. gruba su (kontrol grubu) 2. gruba 3 hafta boyunca içme suyu yerine yeşil çay verilmiştir.	Yeşil çayın, -Adipoz doku ağırlığını azalttığı -Plazmadaki kolesterol ve serbest yağ asitlerini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür.	[42]
	Deneysel çalışma	Erkek yetişkin Sprague-Dawley fareleri (Omurilik hasarı olan fareler)	-4 grup oluşturuldu: 1. grup sahte ameliyatlı grup 2. grup travma grubu 3. grup EGCG tedavi grubu (50 mg/kg EGCG hasardan hemen sonra) 4. grup EGCG tedavi grubu (50 mg/kg EGCG hasardan 1 saat sonra)	EGCG tedavi gruplarında,  -İnflamatuvar sitokinlerin baskılandığı görülmüştür.	[52]
Çay-inflamasyon	Deneysel çalışma	Erkek BALB/c fareleri	-4 grup oluşturuldu: 1. grup kontrol grubu 2. grup toksin kontrolü grubu (10 mg / kg oral NaAsO <sub>2</sub> ) 3. grup (10 mg / kg oral NaAsO <sub>2</sub> ve ardından 10 mg / kg EGCG) verilen grup 4. grup (10 mg/kg EGCG) verilen grup -30 gün boyunca bu şekilde uygulama yapılmıştır.	EGCG ile, - İnflamatuvar sitokinlerin baskılandığı -Oksidatif stresin azaldığı görülmüştür.	[53]

Çay-kemik sağlığı	Deneysel çalışma	Virgin Sprague Dawley obez dişi fareler	-1. grup yüksek yağlı (enerjinin %45'i yağdan alınan) beslenen ve yeşil çay polifenolü verilen grup (%0,5 yeşil çay polifenolü içeren suya serbest erişim) 2. grup sadece yüksek yağlı beslenen grup -4 ay boyunca bu şekilde uygulama yapılmıştır.	-%0.5 yeşil çay polifenolü içeren su tüketimi ile kemik sağlığında olumlu etkiler olduğu görülmüştür.	[84]
-------------------	------------------	---	---	---	------

Tablo 3. Çay ile ilgili mikrobiyolojik çalışmalar

Çalışma Konusu	Çalışma şekli	Denekler	Çalışma planı	Sonuç	Kaynak
Çay-antimikrobiyal etki	<i>In vitro</i>	İdrar yolu enfeksiyonlarından izole edilen Escheria coli	-Farklı konsantrasyonlarda yeşil çay ekstratları (0, 2.5, 3.0, 3.5, ve 4.0 mg/ml) uygulanmıştır.	Suşlar üzerinde Yeşil çay eksrat etkisi; - ≤4.0 mg/mL 'de %99 etkili - ≤3.5 mg/mL 'de %94 etkili - ≤3.0 mg/mL 'de %76 etkili - ≤2.5 mg/mL 'de %40 etkili şeklinde bulunmuştur. - Yeşil çayın Escherichia coli'ye karşı potansiyel antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür.	[68]
	<i>In vitro</i>	6 farklı bakteri türü	-Farklı konsantrasyonlarda yeşil çay ekstratları 10 µL, 20 µL, 30 µL uygulanmıştır.	-Tüm konsantrasyonlarda anlamlı antibakteriyel aktivite olduğu görülmüştür.	[69]
	<i>In vitro</i>	Madin-Darby canine kidney (MDCK) hücrelerinde H1N1, A/H3N2 ve B virus	-120 µM EGCG, 1200 µM ECG ve 120 µM EGC ayrı ayrı uygulandı. - 8-24-36. saatlerde virüslerin kateşinler varlığında üreme miktarı kıyaslandı.	- EGCG, en etkili antiviral kateşin olduğu görülmüştür.	[71]

Tablo 4. Çay ile ilgili insan çalışmaları

Çalışma Konusu	Çalışma şekli	Denekler	Çalışma planı	Sonuç	Kaynak
Çay – KVH	Randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışma	48 sağlıklı yetişkin (18-28 yaş)	-Katılımcılar 4 gruba ayrılıp kan basınçları kıyaslandı: 1. grup 250 mg kafein verilmiştir. 2. grup 200 mg theanin verilmiştir. 3. Grup hem kafein hem theanin verilmiştir. 4. grup placebo grubu	-Theaninin kafeinin antigonesti olarak çalışıp kan basıncını düşürdüğü görülmüştür.	[31]
	Kesitsel çalışma	1210 yetişkin (≥20 yaş)	-Çay tüketimi ve diğer yaşam tarzı özellikleri anketlerle değerlendirildi. -Vücut yağ yüzdesi biyoelektrik impedans analizi ile değerlendirildi.	-10 yıldan uzun süre çay içme alışkanlığı olan bireylerin vücut yağ oranında %19.6 azalma olduğu görülmüştür.	[32]
Çay-Obezite	Meta-analiz	1243 katılımcı	-	-Yeşil çay kateşinlerinin kafein ile birlikte uygulanmasının, BKİ, vücut ağırlığı ve bel çevresinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalara neden olduğu görülmüştür. - Yeşil çay kateşinlerinin tek başına uygulanmasının antropometrik ölçümleri olumlu yönde değiştirmedığı saptanmıştır.	[33]
	Prospektif çalışma	36908 katılımcı (45-74 yaş)	-Kahve, siyah çay ve yeşil çay tüketim sıklığı ve miktarı sorgulandı.	Siyah çay tüketiminin (≥1 fincan siyah çay/gün) diyabet riskinde %14 azalma sağladığı saptanmıştır. -Yeşil çayda böyle bir etki olmadığı görülmüştür.	[47]

Çay- diyabet	Retrospektif çalışma	17413 katılımcı (40-65 yaş)	-Siyah, yeşil ve oolong çay tüketimi anket aracılığıyla belirlenmiştir.	-Bu içeceklerden alınan kafeinin diyabet riskini %33 oranında azalttığı, - Yeşil çayın ise diyabet riskini %70 oranında azalttığı görülmüştür.	[48]
	Prospektif çalışması	Erkekler (n = 4055) kadınlar (n = 1768) (35-55 yaş)	-Kahve ve çay tüketimi anket aracılığıyla sorgulanmıştır.	-Kahve ve çay tüketiminin, diyabet insidansı ile ilişkili olmadığı saptanmıştır.	[49]
Çay- kanseri	Vaka kontrol çalışması	130 kanser hastası 274 hasta olmayan katılımcı (>45 yaş)	-Çay tüketimi sorgulandı.	- Yeşil çayın prostat kanserine karşı koruyucu olduğu görülmüştür.	[59]
	Vaka kontrol çalışması	160 kanser hastası 320 kişilik kontrol grubu	-Çay tüketim alışkanlığı sorgulandı. -Mide kanser riskleri ile ilgili bilgi toplandı.	-Düzenli çay içme, -Fazla tüketme, -Düşük sıcaklıkta yeşil çay içme gibi alışkanlıkların daha düşük mide kanseri riski ile ilişkili olduğu görülmüştür.	[61]
	<i>In vitro</i>	PC-3 hücresi	0-50 µM EGCG uygulaması yapıldı.	-EGCG'ın antiproliferatif etki gösterdiği saptandı.	[62]
	<i>In vitro</i>	MDA-MB-231 insan meme kanseri hücresi	-50-80 µg/mL EGCG uygulandı	- Hücre apoptozunun indüklendiği görülmüştür.	[63]
	<i>In vitro</i>	Sağlıklı gönüllülerden toplanan tükürük	-Tükürüğe yeşil çay, siyah çay infüzyonları (50 µL / mL) ve EGCG (50 µM) ilavesi yapılmıştır.	-Bu dozlarda yeşil çay tüketimi yüksek Oral peroksidaz (OPO) aktivite, ağız boşluğunda oksidatif strese karşı ekstra koruma sağlamıştır.	[76]
Çay-ağız sağlığı	Çift kör randomize kontrollü çalışma	60 çocuk (8-12 yaş)	-Katılımcılar 2 gruba ayrıldı. - Katılımcılardan ağızlarını 2 hafta boyunca günde iki kez % 0.05'lik sodyum florür ve % 0.5'lik yeşil çay ile durulamaları istenmiştir. - Müdahaleden önce ve 2 hafta sonra, tükürük bakteri düzeyleri ölçülmüştür.	- Gruplar arasında müdahale öncesi ve sonrası ortalama bakteri kolonilerinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. - Grup içinde müdahale öncesi ve sonrası ortalama bakteri kolonileri sayısı arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. - Daha az yan etkisi olması nedeniyle, yeşil çayın çocuklara daha uygun olduğu saptanmıştır.	[77]
	Kesitsel çalışma	25 kişi (21-46 yaş)	- Tükürük ve plakta Streptococcus mutans, pH değerleri, Gingival Kanama İndeksi (GBI) ne bakıldı. - %2'lik yeşil çay solüsyonu ile durulamadan 5 dakika öncesinde ve sonrasında değerlendirme yapıldı.	- Tükürük ve plak pH değerleri ve GBI değerlerinde S. mutans ile ilgili olarak istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür.	[79]
	Prospektif çalışma	25,078 kişi (40-64 yaş)	-Katılımcıların yeşil çay tüketimi ve diş kaybı sorgulandı.	- ≥1 fincan/gün yeşil çay tüketiminin azalmış diş kaybıyla ilişkili olduğu saptanmıştır.	[80]
Çay- kemik sağlığı	Randomize plasebo kontrol lü çalışma	-171 kişi - En az 2 yıldır menopoz döneminde olan kadınlar - Osteopeni (+)	-1. gruba günlük Tai egzersizi + 500 mg nişasta uygulandı. 2. gruba günlük Tai egzersizi + 500 mg yeşil çay polifenolü uygulandı. - Tüm katılımcılara 500 mg kalsiyum (Ca) ve 200IU D vitamini günlük olarak verildi. -6 ay boyunca bu şekilde uygulama yapılmıştır.	- Yeşil çay polifenol suplementasyonunun ve tai egzersizinin kemik oluşum belirteçlerini artırdığı ve kemik oranını geliştirdiği görülmüştür. - Yeşil çay polifenol suplementasyonunun ve tai egzersizinin menopoz dönemindeki kadınlarda kas gücünü artırdığı görülmüştür.	[83]
	Kesitsel çalışma	-330 adölesan (11-14 yaş)	-Kahve ve çay tüketim durumu anket aracılığıyla sorgulandı. 1. grup 0-4 fincan/hafta kahve/çay tüketen grup, 2. grup 5-8 fincan/hafta kahve/çay tüketen grup, 3. grup 9-12 fincan/hafta kahve/çay tüketen grup şeklinde oluşturuldu.	- D vitamini düzeylerinin 9-12 kez / hafta çay tüketenlerde en yüksek olduğu görülmüştür. -Haftada 0-4 kez çay tüketen bireyler, haftada 8-12 kez tüketenlere göre daha düşük 25 (OH) D seviyesine sahip olduğu saptanmıştır.	[85]

Kesitsel çalışma	- Menopoz dönemindeki kadınlar 1. grup rutinde günde en az 250 ml oolong çayı tüketen grup (n=124) 2. grup çay tüketmeyen grup (n=556)	-Anket aracılığıyla bilgiler toplandı.	-Çay içenlerde kemik yoğunluğunun çay içmeyenlere göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. -Oolong çayının menopoz sonrası kemik kaybını önlemeye yardımcı olduğu belirtilmiştir.	[86]
------------------	--	--	--	------

## SONUÇ

Çay işleme sırasındaki farklılıklara bağlı olarak bileşimindeki biyoaktif bileşen miktarları farklılık gösterebilmektedir. Siyah çayda, fermentasyon işlemi nedeniyle theaflavinler ve thearubiginler daha yoğun olarak bulunurken fermantasyon işlemi uygulanmayan yeşil çayda EGCG, ECG, EGC ve EC daha fazla bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada farkı sonuçlar bulunmakla birlikte çay birçok hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde etkili olabilmektedir. Sağlık üzerindeki en önemli etki mekanizmasının bileşiminde bulunan polifenollerin oksidatif enzim inhibisyonu olduğu söylenebilir. Böylelikle kardiyovasküler hastalıklar, farklı kanser türleri gibi hastalıklardan korunmada ve tedavide kullanılabilir. Bunun yanı sıra karbonhidrat ve lipid metabolizması üzerindeki etkisiyle diyabet ve obezite üzerine de olumlu etkiler yaratabilmektedir. Farklı çalışmalarda çayın antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antiviral etkilerinden de söz edilirken, nörolojik ve psikolojik hastalıklarda da önemli rol oynadığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Çelişkili sonuçların giderilebilmesi açısından bireysel farklılıkların göz önünde bulundurulduğu, çay miktarının, çay hazırlama şeklinin karşılaştırıldığı daha fazladeneysel insan çalışmasına ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Damiani, E., Bacchetti, T., Padella, L., Tiano, L., Carloni, P. (2014). Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 59-66.
- [2] Silva Pinto, M. (2013). Tea: A new perspective on health benefits. *Food Research International*, 53(2), 558-567.
- [3] Chacko, S.M., Thambi, P.T., Kuttan, R., Nishigaki, I. (2010). Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese Medicine*, 5(1), 13.
- [4] Arab, H., Maroofian, A., Golestani, S., Sohrabi, K., Forouzanfar, A. (2011). Review of The therapeutic effects of *Camellia sinensis* (green tea) on oral and periodontal health. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(23), 5465-5469.
- [5] Lambert, J.D. (2013). Does tea prevent cancer? Evidence from laboratory and human intervention studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98(6), 1667S-1675S.
- [6] Aykaç, G., Uzun, M.B., Özçelikay, G. (2013). Tea In Every Aspect "Camellia sinensis"-Her Yönüyle Çay "Camellia sinensis". *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 4(1), 1.
- [7] Alikılıç, D. (2016). Çay'ın Karadeniz Bölgesi İçin Önemi ve Tarihi Seyri. *Journal of Black Sea Studies*, 21, 269-280.
- [8] Lin, Y.S., Tsai, Y.J., Tsay, J.S., Lin, J.K. (2003). Factors affecting the levels of tea polyphenols and caffeine in tea leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1864-1873.
- [9] Kuo, K., Weng, M., Chiang, C., Tsaj, Y., Lin-Shiau, S., Lin, J. (2005). Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 480-489.
- [10] Vyas, D., Kumar, S. (2005). Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) clone with lower period of winter dormancy exhibits lesser cellular damage in response to low temperature. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 383-388.
- [11] Perrier, A. (2004). Book of Tea. The new tea companion, Octopus Publishing Group Ltd., London.
- [12] Heber, D., Zhang, Y., Yang, J., Ma, J.E., Henning, S. M., Li, Z. (2014). Green tea, black tea, and oolong tea polyphenols reduce visceral fat and inflammation in mice fed high-fat, high-sucrose obesogenic diets. *The Journal of Nutrition*, 144(9), 1385-1393.
- [13] Tan, J., Engelhardt, U.H., Lin, Z., Kaiser, N., Maiwald, B. (2017). Flavonoids, phenolic acids, alkaloids and theanine in different types of authentic Chinese white tea samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 57, 8-15.
- [14] Türk Gıda Kodeksi, Çay Tebliği, (Tebliğ No: 2015/30)
- [15] Besler, H.T. (2008). Çay ve Sağlık İlişkisi. Sağlık Bakanlığı Yayını, Ankara.
- [16] Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). Food Chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- [17] McCance, Widdowson's., (2002). The Composition of Foods. 6, RSH Publishing, Cambridge
- [18] Gübür, S. (2015). Basit Karbonhidrat İçeriği Yüksek Diyetle Beslenen Sıçanlarda Yeşil Çayın Antioksidan Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi.
- [19] Liu, R.H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4(3), 384-392.
- [20] Rains, T.M., Agarwal, S., Maki, K.C. (2011). Antiobesity effects of green tea catechins: a

- mechanistic review. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(1), 1-7.
- [21] Bhagwat, S., Haytowitz, D.B., Holden, J.M. (2014). USDA Database for the flavanoid content of selected foods, Release 3.1. *US Department of Agriculture: Beltsville, MD, USA*.
- [22] Cooper, R., Morr , D.J., Morr , D.M. (2005). Medical benefits of green tea: part I. review of non-cancer health benefits. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 11(3), 521-528.
- [23] T rk Kardiyoloji Derneği Ulusal Kalp Sağlığı Politikası (2006). 1-333p.
- [24] De Koning Gans, J.M., Uiterwaal, C.S., Van der Schouw, Y.T., Boer, J.M., Grobbee, D.E., Verschuren, W.M., Beulens, J.W. (2010). Tea and coffee consumption and cardiovascular morbidity and mortality. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(8), 1665-1671.
- [25] Kuriyama, S., Shimazu, T., Ohmori, K., Kikuchi, N., Nakaya, N., Nishino, Y., Tsubono, Y., Tsuji, I. (2006). Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: the Ohsaki study. *The Journal of the American Medical Association*, 296, 1255-1265.
- [26] Arts, I.C., Jacobs, D.R., Harnack, L.J., Gross, M., Folsom, A.R. (2001). Dietary catechins in relation to coronary heart disease death among postmenopausal women. *Epidemiology*, 12, 668-675.
- [27] Geleijnse, J.M., Launer, L.J., Van der Kuip, D.A., Hofman, A., Witteman, J.C. (2002). Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75, 880-886.
- [28] Hirvonen, T., Pietinen, P., Virtanen, M., Ovaskainen, M.L., Hakkinen, S., Albanes, D., Virtamo, J. (2001). Intake of flavonols and flavones and risk of coronary heart disease in male smokers. *Epidemiology*, 12, 62-67.
- [29] Peters, U., Poole, C., Arab, L. (2001). Does tea affect cardiovascular disease? A meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 154, 495-503.
- [30] Tengillođlu, M.M., B y ktuncer, Z. (2011).  ay ve sađlıklkla ilişkisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 39(1-2), 59-65.
- [31] Rogers, P.J., Smith, J.E., Heatherley, S.V., Pleydell-Pearce, C.W. (2008). Time for tea: mood, blood pressure and cognitive performance effects of caffeine and theanine administered alone and together. *Psychopharmacology*, 195(4), 569.
- [32] Wu, C.H., Lu, F.H., Chang, C.S., Chang, T.C., Wang, R.H., Chang, C.J. (2003). Relationship among habitual tea consumption, percent body fat, and body fat distribution. *Obesity Research*, 11, 1088-95.
- [33] Phung, O.J., Baker, W.L., Atthews, L.J., Lanosa, M., Thorne, A., Coleman, C.I. (2010). Effect of green tea catechins with or without caffeine on anthropometric measures: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 73-81.
- [34] Westerterp-Plantenga, M.S. (2010). Green tea catechins, caffeine and body-weight regulation. *Physiology & Behavior*, 100(1), 42-46.
- [35] Shixian, Q., VanCrey, B., Shi, J., Kakuda, Y., Jiang, Y. (2006). Green tea extract thermogenesis-induced weight loss by epigallocatechin gallate inhibition of catechol-O-methyltransferase. *Journal of Medicinal Food*, 9, 451-8.
- [36] Hodgson, J.M., Puddey, I.B., Burke, V., Croft, K.D. (2006). Is reversal of endothelial dysfunction by tea related to flavonoid metabolism? *British Journal of Nutrition*, 95, 14-17.
- [37] Hursel, R., Westerterp-Plantenga, M.S. (2009). Green tea catechin plus caffeine supplementation to a high-protein diet has no additional effect on body-weight maintenance after weight loss. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89, 822-830.
- [38] Cornelis, M.C., El-Sohemy, A., Campos, H. (2007). Genetic polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 240-244.
- [39] Klaus, S., P ltz, S., Th ne-Reineke, C., Wolfram, S. (2005). Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *International Journal of Obesity*, 29, 615-623.
- [40] Choo, J.J. (2003). Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through beta-adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 671-676.
- [41] Hasegawa, N., Yamada, N., Mori, M. (2003). Powdered green tea has antilipogenic effect on Zucker rats fed a high-fat diet. *Phytother Research*, 17, 477-480.
- [42] Ashida, H., Furuyashiki, T., Nagayasu, H., Bessho, H., Sakakibara, H., Hashimoto, T., Kanazawa, K. (2004). Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. *Biofactors* 22: 135-140.
- [43] Grove, K.A., Lambert, J.D. (2010). Laboratory, epidemiological, and human intervention studies show that tea (*Camellia sinensis*) may be useful in the prevention of obesity. *The Journal of Nutrition*, 140(3), 446-453.
- [44] Van Dieren, S., Uiterwaal, C.S.P. M., Van der Schouw, Y.T., Boer, J.M.A., Spijkerman, A., Grobbee, D.E., Beulens, J.W.J. (2009). Coffee and tea consumption and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 52(12), 2561-2569.
- [45] Greenberg, J.A., Axen, K.V., Schnoll, R., Boozer, C.N. (2005). Coffee, tea and diabetes: the role of weight loss and caffeine. *International Journal of Obesity*, 29(9), 1121.
- [46] Sharangi, A.B. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)—A review. *Food Research International*, 42(5), 529-535.
- [47] Odegaard, A.O., Pereira, M.A., Koh, W.P., Arakawa, K., Lee, H.P., Mimi, C.Y. (2008). Coffee,

- tea, and incident type 2 diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(4), 979-985.
- [48] Iso, H., Date, C., Wakai, K. Fukui, M., Tamakoshi, A. (2006). The relationship between green tea and total caffeine intake and risk for self-reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Annals of Internal Medicine*, 144, 554-62.
- [49] Hamer, M., Witte, D.R., Mosdøl, A., Marmot, M.G., Brunner, E.J. (2008). Prospective study of coffee and tea consumption in relation to risk of type 2 diabetes mellitus among men and women: the Whitehall II study. *British Journal of Nutrition*, 100(5), 1046-1053.
- [50] Baysal, A., Aksoy, M., Besler, T., Bozkurt, N., Keçecioglu, S., Pekcan, G., Mercanligil, S.M., Yıldız, E. (2011). *Diyet El Kitabı*. 6, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 425p.
- [51] Sies, H., Schewe, T., Heiss, C., Kelm, M. (2005). Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 304-312.
- [52] Khalatbary, A.R., Ahmadvand, H. (2011). Anti-inflammatory effect of the epigallocatechin gallate following spinal cord trauma in rat. *Iranian Biomedical Journal*, 15, 31-37.
- [53] Yu, N.H., Pei, H., Huang, Y.P., Li, Y.F. (2017). (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits arsenic-induced inflammation and apoptosis through suppression of oxidative stress in mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 41, 1788-1800.
- [54] Çelik, F. (2006). Çay (*Camellia sinensis*); içeriği, sağlık üzerindeki koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 26(6), 642-648.
- [55] Ögünç, A.V., Şehirli, A.Ö., Laçın, B.K., Ercan, F., Güçlü, H., Topçu, G. (2016). sıçanlarda deneysel mide ülseri modelinde yeşil çay ekstraktı ve peynir altı suyu proteinlerinin etkileri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 14(2), 111-122.
- [56] Oak, M.H., El Bedoui, J., Schini-Kerth, V.B. (2005). Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 1-8.
- [57] El Bedoui, J., Oak, M., Anglard, P., Schini-Kerth, V.B. (2005). Catechins prevent vascular smooth muscle cell invasion by inhibiting MT1-MMP activity and MMP-2 expression. *Cardiovascular Research*, 67, 317-25.
- [58] Chowdhury, A., Sarkar, J., Chakraborti, T., Pramanik, P. K., Chakraborti, S. (2016). Protective role of epigallocatechin-3-gallate in health and disease: a perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 78, 50-59.
- [59] Jian, L., Xie, L.P., Lee, A.H., Binns, C.W. (2004). Protective effect of green tea against prostate cancer: A case-control study in southeast China. *International Journal of Cancer*, 108, 130-135.
- [60] Doss, M.X., Potta, S.P., Hescheler, J., Sachinidis, A. (2005). Trapping of growth factors by catechins: A possible therapeutic target for prevention of proliferative diseases. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16, 259-66.
- [61] Wang, Y., Duan, H., Yang, H. (2015). A case-control study of stomach cancer in relation to *Camellia sinensis* in China. *Surgical Oncology*, 24(2), 67-70.
- [62] Albrecht, D.S., Clubbs, E.A., Ferruzzi, M., Bomser, J.A. (2008). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits PC-3 prostate cancer cell proliferation via MEK-independent ERK1/2 activation. *Chemico-Biological Interactions*, 171(1), 89-95.
- [63] Thangapazham, R.L., Passi, N., Maheshhwari, R.K. (2014). Green tea polyphenol and epigallocatechin gallate induce apoptosis and inhibit invasion in human breast cancer cells. *Cancer Biology & Therapy*, 6(12), 1938-1943.
- [64] Onoda, C., Kuribayashi, K., Nirasawa, S., Tsuji, N., Tanaka, M., Kobayashi, D., Watanabe, N. (2011). (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis in gastric cancer cell lines by down-regulating survivin expression. *International Journal of Oncology*, 38(5), 1403-1408.
- [65] Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(1), 116-134.
- [66] Padmini, E., Valarmathi, A., Rani, M.U. (2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(4), 772-781.
- [67] Steinmann, J., Buer, J., Pietschmann, T., Steinmann, E. (2013). Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. *British Journal of Pharmacology*, 168(5), 1059-1073.
- [68] Reygaert, W., Jusufi, I. (2013). Green tea as an effective antimicrobial for urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 4, 1-4.
- [69] Kumar, A., Kumar, A., Thakur, P., Patil, S., Payal, C., Kumar, A., Sharma, P. (2012). Antibacterial activity of green tea (*Camellia sinensis*) extracts against various bacteria isolated from environmental sources. *Recent Research in Science and Technology*, 4(1), 19-23.
- [70] Chan, E., W., Soh, E.Y., Tie, P.P., Law, Y.P. (2011). Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. *Pharmacognosy Research*, 3(4), 266.
- [71] Song, J.M., Lee, K.H., Seong, B.L. (2005). Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Research*, 68(2), 66-74.
- [72] Trevisanato, S.I., Kim, Y.I. (2000). Tea and health. *Nutrition Reviews*, 58(1), 1-10.
- [73] Hamilton-Miller, J.M. (2001). Anti-cariogenic effects of tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Medical Microbiology*, 50, 299-302.
- [74] Smullen, J., Koutsou, G.A., Foster, H.A., Zumbé, A., Storey, D.M. (2007). The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 41, 342-349.
- [75] Hassani, A.S., Amirmozafari, N., Ordouzadeh, N., Hamdi, K., Nazari, R., Ghaemi, A. (2008). Volatile components of *Camellia sinensis* inhibit growth and



- biofilm formation of oral Streptococci *in vitro*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 1336-41.
- [76] Narotzki, B., Levy, Y., Aizenbud, D., Reznick, A.Z. (2013). Green tea and its major polyphenol EGCG increase the activity of oral peroxidases. In *Respiratory Regulation-The Molecular Approach* Springer, Dordrecht, 99-104p.
- [77] Tehrani, M.H., Asghari, G., Hajiahmadi, M. (2011). Comparing *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* colony count changes following green tea mouth rinse or sodium fluoride mouth rinse use in children (Randomized double-blind controlled clinical trial). *Dental Research Journal*, 8(1), 158.
- [78] Signoretto, C., Burlacchini, G., Bianchi, F., Cavalleri, G., Canepari, P. (2006). Differences in microbiological composition of saliva and dental plaque in subjects with different drinking habits. *New Microbiologica*, 29, 293-302.
- [79] Awadalla, H., Ragab, M., Bassuoni, M., Fayed, M., Abbas, M. (2011). A pilot study of the role of green tea use on oral health. *International Journal of Dental Hygiene*, 9, 110-116.
- [80] Koyama, Y., Kuriyama, S., Aida, J., Sone, T., Nakaya, N., Ohmori-Matsuda, K., Hozawa, A., Tsuji, I. (2010). Association between green tea consumption and tooth loss: Cross-sectional results from the Ohsaki Cohort 2006 Study. *Preventive Medicine*, 50, 173-179.
- [81] Demirel, G., Kumsar, A.K., Yılmaz, F.T. (2015). Kadınlarda osteoporozun önlenmesinde yeşil çayın yeri. *Turkish Journal of Osteoporosis/Turk Osteoporoz Dergisi*, 21(2), 84-86.
- [82] Shen, C.L., Yeh, J.K., Cao, J.J., Chyu, M.C., Wang, J.S. (2011). Green tea and bone health: evidence from laboratory studies. *Pharmacological Research*, 64(2), 155-161.
- [83] Shen, C.L., Chyu, M.C., Yeh, J.K., Zhang, Y., Pence, B.C., Felton, C.K., Wang, J.S. (2012). Effect of green tea and Tai Chi on bone health in postmenopausal osteopenic women: a 6-month randomized placebo-controlled trial. *Osteoporosis International*, 23(5), 1541-1552.
- [84] Shen, C.L., Cao, J.J., Dagda, R.Y., Chanjaplamootil, S., Lu, C., Chyu, M.C., Yeh, J.K. (2012). Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet-induced obese rats. *Nutrition Research*, 32(6), 448-457.
- [85] Al-Othman, A., Al-Musharaf, S., Al-Daghri, N.M., Yakout, S., Alkharfy, K.M., Al-Saleh, Y., Kumar, S. (2012). Tea and coffee consumption in relation to vitamin D and calcium levels in Saudi adolescents. *Nutrition Journal*, 11(1), 56.
- [86] Wang, G., Liu, L.H., Zhang, Z., Zhang, F., Li, S., Chen, Y., Zhao, H. (2014). Oolong tea drinking could help prevent bone loss in postmenopausal Han Chinese women. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 70(2), 1289-1293.
- [87] Mähler, A., Mandel, S., Lorenz, M., Ruegg, U., Wanker, E.E., Boschmann, M., Paul, F. (2013). Epigallocatechin-3-gallate: a useful, effective and safe clinical approach for targeted prevention and individualised treatment of neurological diseases? *European Association for Predictive, Preventive, Personalised Medicine Journal*, 4(1), 5.
- [88] Weinreb, O., Mandel, S., Amit, T., Youdim, M.B.H. (2004). Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *The Journal of Nutrition and Biochemistry*, 15, 506-516.
- [89] Pan, T.H., Jankovic, J., Le, W.D. (2003). Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. *Drugs Aging*, 20, 711-721.
- [90] Ng, T.P., Feng, L., Niti, M., Kua, E. H., Yap, K.B. (2008). Tea consumption and cognitive impairment and decline in older Chinese adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 224-231.
- [91] Niu, K., Hozawa, A., Kuriyama, S., Ebihara, S., Guo, H., Nakaya, N., Ohmori-Matsuda, K., Takahashi, H., Masamune, Y., Asada, M. (2009). Green tea consumption is associated with depressive symptoms in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(6), 1615-1622.
- [92] Kimura, K., Ozeki, M., Juneja, L.R., Ohira, H. (2007). L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. *Biological Psychology*, 74, 39-45.

## Denetimli Örüntü Tanıma ve Gıda Analizlerinde Uygulamaları

Bahar Demircan , Yeşim Elmacı  

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

Geliş Tarihi (Received): 13.07.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 27.09.2019

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [yesim.elmaci@ege.edu.tr](mailto:yesim.elmaci@ege.edu.tr) (Y. Elmacı)

☎ 0 232 311 13 16 📠 0 232 342 75 92

### ÖZ

Denetimli örüntü tanıma, sınıflandırma için örnek kategorisi üyeliği hakkında bir ön bilginin kullanıldığı teknikleri ifade etmektedir. Sınıflandırma modeli, kategorileri olan örneklerin bir eğitim seti üzerinde geliştirilmektedir. Kimya, biyoloji, ilaç ve gıda bilimi içinde denetimli örüntü tanıma uygulaması giderek daha önemli hale gelmektedir. Denetimli örüntü tanıma yöntemleri çok çeşitlidir ve asıl önemli nokta en uygun yöntemi seçmektir. Gıda analizlerinde gıda kalite değerlendirmesi, veri yorumlama gibi çeşitli amaçlarla farklı verilere uygulamaları bulunmaktadır. Denetimli örüntü tanıma teknikleriyle incelenen gıdalara örnek olarak şarap, yağ, bal, süt ürünleri, et, meyveler, içecekler, tahıllar ve balık verilebilir. Bu teknikler kullanılarak gıdalarda doku analizi, aroma analizi, gıda doğrulaması, gıda kalitesinin değerlendirilmesi, çoklu element analizi, coğrafi ve botanik kökene göre sınıflandırma gerçekleştirilebilmektedir. Bu derlemede, denetimli örüntü tanıma tanımlanmış, uygulama teknikleri özetlenmiş ve gıda analizlerinde kullanılan örüntü tanıma teknikleri konusunda yapılan çalışmalar ile örneklendirilerek bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Denetimli örüntü tanıma, Gıda analizi, Çok değişkenli veri analizi, Görüntü işleme, Sınıflandırma

### Supervised Pattern Recognition and its Applications in Food Analyses

#### ABSTRACT

Supervised pattern recognition is a technique for classification that the prior knowledge is used regarding member of sample category. Classification model is improved by using samples separated into category as training set. Supervised pattern recognition is getting more important for chemistry, biology, pharmacology and food science. There are many supervised pattern recognition methods. The main part is to select the most appropriate method. There are implementations to different inputs for various purposes such as food quality assessment and data interpretation. Wine, oil, honey, dairy products, meat, fruits, beverages, cereals and fish could be given as examples analyzed by supervised pattern recognition techniques. Also by using this techniques, texture and aroma analyses, food verification, food quality assessment, multiple element analysis, classification based on geographical and botanical origins can be performed. In this review, supervised pattern recognition is defined, its application techniques are summarized, and information is provided by exemplifying studies on pattern recognition techniques used in food analysis.

**Keywords:** Supervised pattern recognition, Food analysis, Multivariable data analysis, Image processing, Classification

## GİRİŞ

Günümüzde, modern analitik araçlar, nispeten kısa sürede analiz edilebilecek çok sayıda örnek (nesne) için çok miktarda bilgi (değişken veya özellik) üretmeye izin vermektedir. Bu durum verilerin maksimum yararlı bilgisini verimli bir şekilde çıkarmak için matematiksel ve istatistiksel yöntemlerin kullanılmasını gerektiren çok değişkenli veri matrislerinin kullanılabilirliğine yol açmaktadır. Denetimli örüntü tanıma teknikleri, bilinen sınıflardan birinde bilinmeyen örneklerin ölçüm modeline göre sınıflandırılması için örneklerin sınıf üyeliği hakkındaki bilgileri belirli bir gruba dahil etmede (sınıf veya kategori) kullanılmaktadır [1, 2]. Denetimli örüntü tanıma prosedürleri, algoritmanın uygulandığı, aşağıdaki adımlardan oluşan ortak bir strateji kullanarak yürütülmektedir:

- I. Değişkenlerin ölçüldüğü bilinen sınıf üyeliği nesnelere ilişkin bir eğitim, kalibrasyon ve test seti seçimi,
- II. Değişken seçimi,
- III. Eğitim setini kullanarak model oluşturulması,
- IV. Elde edilen sınıflamanın güvenilirliğini değerlendirmek için, bu yöntemin geçerliliğinin onaylanması [2, 3].

Gıda bilimlerinde birkaç çeşit örüntü tanıma yöntemi uygulanmış olup bunlar, sınıflandırmaya ulaşma yolunda esas olarak farklılık göstermektedir [2]. İki tip yöntem genellikle ilk yaklaşımda ayrılır. Bu ayrım doğrusal tanımlayıcı analiz (LDA), k-en yakın komşular (kNN), sınıflandırma ve regresyon ağaçları (CART), kısmi en küçük kareler tanımlayıcı analiz (PLS-DA) gibi sınıflar arasında sınıflandırma üzerine odaklananlar ile yapay sinir ağları (YSA), sınıf analogunun esnek bağımsız modellemesi (SIMCA), eşit olmayan dağıtık sınıfların esnek bağımsız modellemesi (UNEQ) gibi modelleme sınıflarına yönelik olanlar şeklinde [4]. Sınıflandırma teknikleri, sınıflandırma ile ilgili tüm kategorilere dayalı modeller oluşturmak için kullanılırken, ayrık sınıf modelleme yöntemleri, her bir kategori için ayrı bir model oluşturmaktadır. Ayırıcı yöntemlerin dezavantajlarından biri, örneklerin, bunlardan herhangi birine ait olmaları bile, her zaman verilen kategorilerden biri olarak sınıflandırılmasıdır. Sınıf modelleme yöntemleri, modelin bir parçası olarak modele uygun olan nesnelere göz önünde bulundurmada ve olmayan üyeler olarak sınıflandırmaktadır. Ancak, sınıflandırma yetenekleri ile ilgili olarak, yakın zamandaki ampirik inceleme, SIMCA'nın daha önce düşünüldüğü kadar güçlü olmadığını göstermektedir; sınıflandırma ve etki matrisi analizi (CAIMAN), CART ve tanımlayıcı analizin varyantlarının daha iyi olduğu ifade edilmektedir [4, 5].

Denetimli örüntü tanıma teknikleri parametrik/parametrik olmayan [2], belirleyici/olasılıksal veya doğrusal/doğrusal olmayan yöntemler olarak gruplandırılabilir. LDA, PLS-DA, SIMCA ve UNEQ gibi parametrik teknikler, karar fonksiyonunun türetilmesinde nesnelere dağılımının istatistiksel parametrelerini kullanmaktadır (genellikle çok değişkenli normal dağılım varsayılır). KNN ve CART gibi

parametrik olmayan yöntemlere ait istatistikler, doğru sınıflandırma olasılıklarının tahminini zorlaştıran dağıtım varsayımına dayanmamaktadır. Doğrusal/doğrusal olmayan sınıflandırma, sınıflar arasında ayırım yapmak için kullanılan, sırasıyla doğrusal/doğrusal olmayan tanımlayıcı fonksiyonlarının doğasına dayanır [6].

Bu derlemede günümüzde otomotiv, astronomi, tıp ve güvenlik gibi sektörlerde yaygın olarak kullanılan denetimli örüntü tanıma tekniklerinin gıda analizlerinde kullanımı hakkındaki çalışmalar incelenmiş ve söz konusu tekniklerin gıda analizlerinde doğru bir şekilde kullanımının pratik ve faydalı sonuçlar elde etmeye olanak sağlayabileceği düşünülmüştür. Derlemede kapsamlı olarak denetimli örüntü tanıma uygulamasının amacı, teknikleri, işlem basamakları ve sonuçlarının yorumlanması gıda analizlerinde kullanım örnekleriyle birlikte incelenmiştir.

## DENETİMLİ ÖRÜNTÜ TANIMA

Nesnelerin ve olayların tespiti ve sınıflandırılması olarak tanımlanan örüntü tanıma, özellikle nesnelere makinalar ile kategorilere ayrılmasını ifade eder. Ölçüm ve nitelikler, nesnelere sınıflandırılmasında özellik olarak adlandırılırken, tip ve kategoriler ise nesnelere gruplandırılmasında sınıf olarak adlandırılmaktadır. Sınıflandırmadaki bireysel parçalar nesne olarak, durumlar da örnek veya örüntü olarak adlandırılmaktadır. Denetimli (eğitilmiş) öğrenme; eğitime uygulamalarında bulunan giriş vektörlerinin ve bunlara uyan hedef vektörlerinin verildiği örnekler olarak tanımlanırken, denetimsiz (eğitici) öğrenme ise örüntü tanıma problemlerinde eğitim verisinin herhangi bir hedef vektörü olmadan bir x giriş vektörü dizisinden oluşması olarak tanımlanmaktadır. Endüstride kalite kontrol, işlem kontrolü ve nesne tanımda kullanılan örüntü tanıma uygulamaları otomotiv, astronomi, biyoloji, tıp, finans ve güvenlik gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bu uygulamalar son dönemlerde gıda analizlerinde de kullanılmaya başlanmıştır [7]. Günümüzde en yaygın kullanılan örüntü tanıma uygulamasının örnekleri:

- Tıbbi görüntülerin, fotoğrafların otomatik olarak analiz edilmesi,
- İnsan konuşmasının bilgisayarla tanınması,
- Petrol ve mineral araştırmaları ve deprem tespiti için sismik sinyallerin sınıflandırılması,
- Parmak izinden, el şeklinden, retinadan, ses karakteristiğinden, el yazısından kimlik tespiti,
- Çizilmiş desenlerin ve basılmış karakterlerin otomatik olarak tespiti ve el yazısı tanıma,
- Hava durumu, kar ve su rezervleri, mineralleri tespit etmek için kullanılan uydu görüntülerinin analizi,
- Montaj bandındaki parçaların otomatik denetimi,
- Kalp hastalarının tıbbi kategorilerde sınıflandırılması, dalgaların tespiti ve analizi olarak sıralanabilmektedir [7]

Bu örnekler uygulama alanı, uygulama, giriş örüntüsü ve örüntü sınıfları şeklinde detaylandırılabilir. Bu şekilde günümüzde yapılan çalışmalara:

- Optik karakter tanıma uygulamalarının doküman analizinde karakter ve kelimelerin sınıflandırılmasında giriş örüntüsü olarak doküman görüntüsünün kullanılması,
- Tıpta teşhis amacıyla kanserli ve sağlıklı hücrelerin sınıflandırılmasında giriş örüntüsü olarak mikroskobik görüntülerin kullanılması,
- Otomatik hedef tanıma amacıyla askeriyede hedef tiplerinin sınıflandırılmasında giriş örüntüsü olarak optik ya da infrared fotoğrafların kullanılması,
- Giriş örüntüsü olarak yürüyen bant üzerinden alınan meyve görüntülerinin, meyve sınıflandırma uygulamalarıyla endüstriyel otomasyonda kalite derecelerine göre sınıflandırılması
- DNA dizilerinin giriş örüntüsü olarak kullanıldığı biyoenfeksiyon uygulamalarında dizi analizleri amacıyla bilinen gen tiplerine göre sınıflandırma yapılması örnek olarak verilebilir [7].

### Örüntü Tanıma Süreci

Örüntü tanıma sürecinin ilk basamağında algılama işlemini gerçekleştirmek için fiziki çevreden veriler toplanmakta, ardından bir ön işleme basamağı ile özellik çıkarım işlemleri gerçekleştirilmektedir. Sınıflandırmak üzere özellikler belirlenmekte ve bu süreçle birlikte eğitim verilerinin özellikleri de ön işleme ve özellik çıkarma basamaklarından geçirilerek belirlenmektedir. Alt yapı oluşturduktan sonra seçilen özellikler, model öğrenmede elde edilen model ile diğer özelliklerin sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Karar verme basamağında ise sonuçlar üzerinde gerekli düzenlemeler yapılarak işlem sonlandırılmaktadır [8].

Sembolik (örnek: renk) ve nümerik (örnek: uzunluk) olarak belirtilen "öznitelik", herhangi bir ayırt edici durum, nitelik ya da karakteristik özellik olarak tanımlanabilir. "Örüntü" ise bireye ait karakteristik özellik ya da özniteliklerin bileşimi olarak tanımlanmaktadır. Öznitelik vektörü  $X$ , gözlemler ya da özniteliklerden oluşurken,  $W$  ise gözlemlerin arkasındaki kavram veya etiket olarak ifade edilmektedir. Örüntü " $\{X, W\}$ " şeklinde gösterilmekte, sınıflandırma ise öznitelik uzayını sınıf etiketli karar bölgelerine ayırmak olarak tanımlanmaktadır. Sonuç olarak, öznitelik vektörü olarak ifade edilen  $X$  hangi karar bölgesine ait ise örnek o sınıfa atanmaktadır [8].

### Görüntü İşleme Teknikleri

Son yıllarda kullanımı oldukça artan görüntü işleme ve bilgisayar kullanımı ile görüntü tanıma uygulamalarının özellikle araç içi otomasyon, güvenlik sistemleri, gezgin robot uygulamaları, askeri alanlarda dost ve düşman kuvvetlerinin gözetilmesi, tarım uygulamaları, biyomedikal ve tıp alanlarında, coğrafi bilgi sistemlerinde, tasarım ve imalat uygulamaları gibi geniş kullanım alanları bulunmaktadır [9, 10].

Görüntü işleme teknikleri uygulamalarında önce kameradan görüntüler alınmakta ve bu görüntüler üzerinde görüntü ön işleme basamakları gerçekleştirilerek ilgili nesnelere ait özellik çıkarımı yapılmaktadır. Bu aşamada ortamdaki nesnelere doğru

tanınması önem taşımaktadır. Nesne tespit veya tanınmasında farklı yöntemlerin kullanımı önerilmektedir. Bu amaçla hızlı ve etkili sonuç almak için nesnelere basit özellikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda [11], karmaşık arka plan çıkarımı ile tanıma [12], şekil tanıma, renk tanıma, kenar ve köşe tanıma, istatistiksel örüntü tanıma, şablon eşleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır [10, 13].

Bilgisayar kullanımı ile görüntü tanımının yaygınlaşmasıyla, tarım alanında, ürün kalitesinin gözlenmesi [14], ürün sulama [15], ilaçlama, hasat, ürün sınıflandırma, ürün gelişmelerinin gözlenmesi gibi çalışmalar yapılmaktadır [16]. Yine tarım alanında, görüntü işleme tekniklerinin kullanılması ile yapılan çeşitli çalışmalarda şeftali [17, 18], elma [18, 19], buğday [20], fındık [21], kiraz [22, 23], ceviz [24], badem [25] vb. meyveler sınıflandırılmakta ve özellikleri belirlenmektedir. Bu özellikler saptanırken sayısal görüntü analizi, sınıflama, kümeleme gibi yöntemler kullanılmakta ve incelenen nesnelere boyut, cins veya kalite bakımından sınıflandırılması yapılabilmektedir.

Araştırılan ortamda bulunan aynı nesnelere tespiti ve sınıflandırılmasıyla ilgili yapılan çalışmalarda 3 aşamalı bir yöntem uygulanmaktadır [10]. Bu aşamalar;

#### Aşama 1 – Görüntü Ön İşleme

Bu aşamada ilk olarak kameradan elde edilen görüntüye filtreleme işlemi uygulanmakta, böylece istenmeyen görüntülerin giderilmesi ve gereksiz detayların minimuma indirilmesi sağlanmaktadır. Daha sonra renkli olan görüntü grileştirilerek eşikleme işlemiyle yalnız ilgili nesnelere ait kısımlar elde edilmektedir. Bu işlemden sonra siyah ve beyaz görüntü oluşturulmakta ve siyah olan yerlerde beyaz, beyaz olan yerlerde ise siyah renkte istenmeyen noktalar bulunmaktadır. Oluşan ikili görüntüdeki istenmeyen görüntüleri silmek amacıyla morfolojik işlem uygulanmakta, ikili görüntüdeki beyaz bölgeleri daraltmak ve siyah bölgelerdeki beyazlıkları gidermek için aşındırma işlemi uygulanmaktadır. Beyaz bölgenin sınırlarını genişletmek ve bu bölgedeki siyahlıkları gidermek için ise genişleme işlemi uygulanmaktadır.

#### Aşama 2 – Nesne Bulma ve Özellik Çıkarımı İşlemi

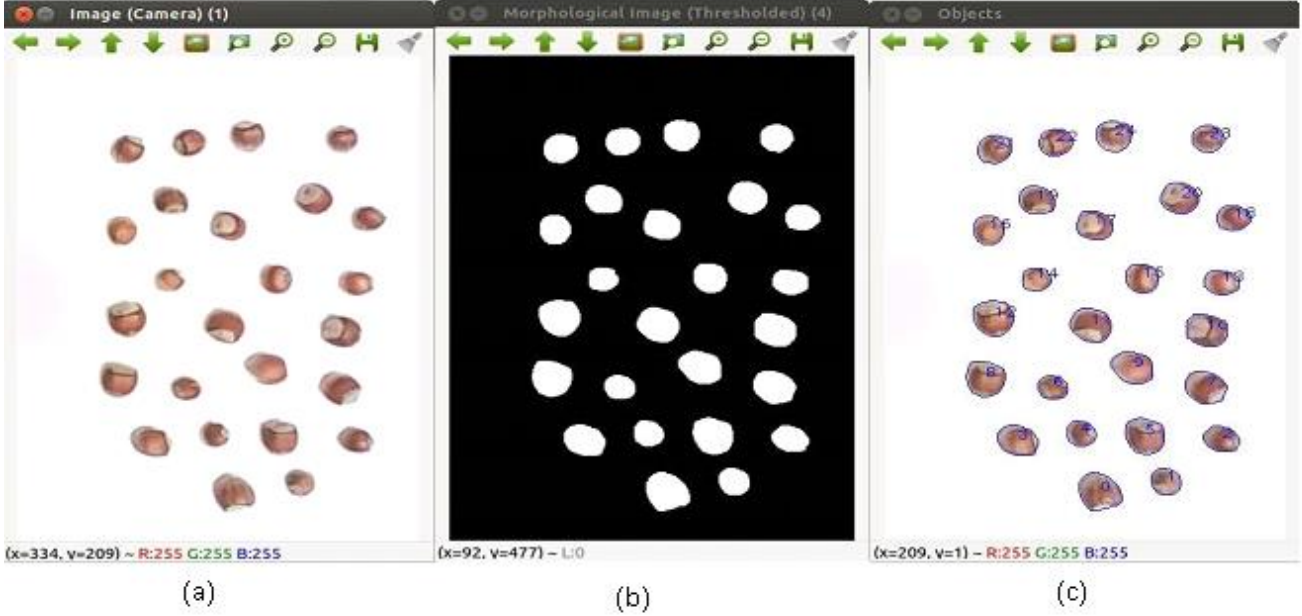
Bu aşamada görüntü, ön işleme aşamasından geçirilerek elde edilen ikili görüntü üzerinde nesnelere bulunması ve her bir nesneye ait özelliklerin çıkarımı işlemleri gerçekleştirilmektedir. Özellik çıkarım vektörlerinde nesnelere görüntü düzleminde kaplanmış olduğu alan, nesne boyları ve nesne merkezine ait koordinatlar yer almaktadır.

#### Aşama 3 – Sınıflandırma İşlemi

Sınıflandırma işlemiyle fiziksel veya soyut nesnelere benzer nesne sınıfları içerisinde gruplandırılmaktadır. Bu işlem nesnelere birbirleri ile benzer olup olmamasına göre gerçekleştirilmektedir. Sınıflandırma analizinde desen, nokta veya nesnelere doğal olarak gruplandırılması yapılmakta ve bu analizle çok

değişkenli özellikler içeren veriler kümelendirilmektedir. Kümeleme yöntemi görüntü tanıma, veri analizi, görüntü işleme, market araştırmaları vb. gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Ortamdaki nesnelere genellikle; nesnelere alan, çap, yarıçap, genişlik, yükseklik gibi özellikleri esas alınarak sınıflandırılmaktadır.

Görüntü işleme teknikleri ve kümeleme yöntemleri kullanılarak fındık meyvesinin tespit ve sınıflandırılmasının yapıldığı bir çalışmada bu 3 aşamaya ait görüntüler Şekil 1'de gösterilmektedir [10].



Şekil 1. Görüntü işleme teknikleri ve kümeleme yöntemleri kullanılarak fındık meyvesinin tespit ve sınıflandırılmasının yapıldığı deneysel bir çalışmadan alınan örnek görüntü, (a) Kameradan alınan görüntü, (b) Ön işleme aşamasından sonra elde edilen görüntü, (c) Nesne bulma ve özellik çıkarım işleminde elde edilen görüntü [10].

Şekil 1 a'da kameradan alınan ilgili kısmın görüntüsü çalışma alanı dışında kalan kısım kesilerek verilmektedir. Şekil 1 b'deki görüntü, ön işleme aşamasında üzerinde filtreleme, grileştirme, eşikleme ve morfolojik işlem basamakları uygulandıktan sonra elde edilen görüntüdür. Bu görüntü nesne bulma ve özellik belirleme aşamasına girdi olarak verilmektedir. Şekil 1 c'de ise ortamdaki ilgilenilen nesnelere dış hatları ve indis numaraları sunulmakta, çalışmada kullanılacak alan, çap, yarıçap ve merkez noktasına ait koordinatlar elde edilmektedir [10].

## GIDA ANALİZLERİNDE DENETİMLİ ÖRÜNTÜ TANIMA TEKNİKLERİ

Denetimli örüntü tanıma teknikleri, bilinen sınıflardan birinde ölçüm modeline dayanarak yeni bilinmeyen örnekleri sınıflandırmak için örneklerin sınıf üyeliği hakkındaki bilgileri belirli bir gruba (sınıf veya kategori) atamada kullanılmaktadır [1, 2]. Söz konusu teknikler, profil oluşturma, parmak izi, kimlik doğrulama, tahakkuk tespiti, gıda kalite değerlendirmesi, veri yorumlama gibi çeşitli amaçlarla çok çeşitli kimyasal verilere (kromatografik, spektrometrik, spektrofotometrik, spektroskopik, duyu vb.) uygulanabilmektedir [26].

## Doğrusal Tanımlayıcı Analiz (Linear Discriminant Analysis, LDA)

LDA ayırım yapılacak sınıfların doğrusal olduğu bir çeşit tanımlayıcı analizdir. En çok kullanılan denetimli örüntü tanıma yöntemi olan LDA lineer tanımlama fonksiyonlarının belirlenmesinde kullanılır. Söz konusu yöntemde sınıflar arası varyans (veri setindeki değerlerin ortalamaya göre dağılımı ve değişimi) oranı en üst düzeyde olurken, sınıf içi varyans oranı en alt düzeyde olmaktadır. LDA'da sınıfların çok değişkenli normal dağılımı takip etmesi ve doğrusal olarak ayrılması gerekmektedir. LDA, temel bileşen analizinin (PCA) daha küçük boyutlu bir hiper düzlem belirlemesi anlamında bir özellik azaltma yöntemi olarak da düşünülmektedir. Bununla birlikte LDA, verilen sınıflar arasında maksimum ayrışmayı sağlayan bir yön seçmektedir. Düzenli tanımlayıcı fonksiyonun (RDA) alt durumları olan kuadratik tanımlayıcı fonksiyonu (QDA) ve Bayes sınıflandırma fonksiyonu gibi çeşitli başka yöntemler de kullanılabilir. QDA parabolik sınıflar oluşturmada, böylece uzaydaki nesnelere LDA'ya göre dağılımdaki kısıtlamalara daha az maruz kalmaktadır, ancak benzer şekilde örneklerin sayısının değişken sayısından daha yüksek olmasını gerektirmektedir. Daha fazla nesne gerektirmeden kısıtlamalara daha az maruz kalan RDA, LDA ve QDA'ya kıyasla daha avantajlıdır. Bayes yaklaşımı, her bir sınıfın üyeliğinin önceki bir olasılığa sahip olması prensibine dayanmaktadır. Kanonik değişken/korelasyon analizi

(CVA/CCA) de LDA'dan farklı olan diğer bir tanımlama tekniğidir ve LDA üyelik bilgisi içeren bir vektör kullanırken CVA bir matris kullanmaktadır [1, 2, 6, 27].

### **Kısmi En Küçük Kareler Tanımlayıcı Analizi (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA)**

LDA tekniğinde, değişken sayısının nesnelere sayısını geçmemesi gerekliliği teknik açısından bir kısıtlamaya neden olmaktadır. Bu problemin giderilmesi çözümün reddedilmesi, veya kısmi en küçük kareler (PLS) gibi yöntemlerin uygulanması ile mümkün olmaktadır. Kısmi en küçük kareler modellemesi, çok değişkenli bir yöntem olup bu değişkenler giriş değişkenlerindeki ilgili varyasyonları olabildiğince açıklayan ve Y'deki hedef değer ile maksimum korelasyona sahip olan giriş matrisindeki bileşenleri (X) bulma ilkesine dayanmaktadır. PLS analizi X ve Y matrisleri arasındaki kovaryansı (iki değişkenin birbiriyle ilişkisi) en üst düzeye çıkararak değişkenleri ve yönleri bulmayı amaçlamaktadır. En uygun değişken sayısı, çapraz doğrulama veya harici test kümeleri kullanılarak tahmin edilmektedir. PLS-DA'da 1 ve 0'lar ile sahte bir Y matrisi oluşturulurken, X matrisi orijinal verilerden oluşmakta ve her sınıf için bir model geliştirilmektedir. Y'deki belirli bir sütunun ögesi 1'e ve diğer sütunların öğeleri 0'a ne kadar yakınsa o nesne belirli bir sınıfın üyesi olarak kabul edilmektedir. Sadece X'in bilgilerini kullanan PCA'nın aksine PLS'de X ve Y'deki bilgiler birlikte değerlendirilmekte, hatalar hesaba katılmakta ve eşit olarak dağıtıldığı varsayılmaktadır. Söz konusu yöntemin az objesi olan veri kümeleri için uygun olduğu ifade edilmektedir. PLS için her biri çalışılan duruma bağlı olarak belirli avantajları olan çeşitli algoritmalar mevcut bulunmaktadır. Bunlar arasında doğrusal olmayan yinelemeli kısmi en küçük kareler algoritması (NIPALS) temel bileşenlerin tek tek hesaplanmasını sağlamaktadır. PLS'de kullanılan algoritmalar hakkında daha fazla bilgi literatürde yer almaktadır [2, 6, 28, 29].

### **K-En Yakın Komşular (K-Nearest Neighbor, kNN)**

kNN yöntemi bilinmeyen bir nesne ile eğitim setinin her bir nesnesi arasındaki mesafelerin belirlenmesine dayanmakta ve genellikle öklid mesafesi kullanılmaktadır. Ancak ilişkili olmayan değişkenler için korelasyon temelli yöntemler tercih edilmektedir. Nesnenin belli bir sınıfa üyeliği için eğitim seti olarak kabul edilen gruplara olan en düşük mesafe seçilmektedir. Bilinmeyen numuneye k-en yakın nesnelere seçilerek çoğunluk kuralı uygulanmakta ve böylece bilinmeyen nesne, k nesnesinin çoğunluğuna ait olduğu grupta sınıflandırılmaktadır. K seçimi farklı k değerleri ile tahmin yeteneğinin hesaplanmasıyla optimize edilerek sıklıkla 3 ve 5 gibi küçük k değerleri tercih edilmektedir. Yöntemin matematiksel basitliğinden dolayı sınıflandırma sonuçları diğer örüntü tanıma tekniklerinden daha iyi elde edilebilmektedir. Ayrıca değişkenlerin normal dağılımı gibi istatistiksel varsayımlardan bağımsız olması, etkinliğinin sınıfların uzay dağılımına bağlı olmaması gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Söz konusu yöntemin LDA ile benzer sınıflamaları olmakla beraber eğer örnek sayısında

büyük farklılıklar var ise kNN iyi çalışmamaktadır. Çok sayıda örnek olduğunda hesaplamaların aşırı derecede yavaşlayabilme olasılığı bulunmaktadır. Bu nedenle sonuçlar grafiksel olarak ifade edilememektedir [6].

### **Sınıf Analogunun Esnek Bağımsız Modellemesi (Soft Independent Modelling of Class Analogy, SIMCA)**

SIMCA, sınıf modelleme tekniklerinden en çok kullanılan yöntem olup her kategori bağımsız olarak PCA kullanılarak modellenmekte ve farklı sayıda ana bileşenlerle açıklanabilmektedir. Eğitim setindeki her bir sınıf için ana bileşenlerin sayısı çapraz doğrulama ile belirlenmektedir. Bu şekilde her bir sınıftaki varyasyonun çoğunu hesaba katarak yeterli sayıda temel bileşen korunurken, sınıf modelinde sözde ikincil veya gürültü yüklü ana bileşenler dahil edilmemiş olmaktadır. SIMCA ile sınıf mesafesi, modelleme ve ayırıcı güçler belirlenmektedir. Sınıf mesafesi ana bileşen modellerine olan geometrik uzaklık olarak hesaplanmaktadır. Ayırıcı güç ise bir değişkenin sınıfları ne kadar iyi ölçtüğünün göstergesidir. Bu yöntem ile elde edilen sonuçlar grafiksel olarak görselleştirilebildiğinden aykırı değerler, alt gruplamalar ve sınıf içi yapı hakkında bilgi sağlanmaktadır. Alan üzerinde sınıf 1, sınıf 2, sınıf 1 ve 2'nin üst üste gelmesi ve aykırı bölge (sınıf 1, 2 ve 1-2 kısımlarının dışında kalan) olmak üzere 4 bölge oluşturularak bir sınıflandırmanın ne kadar kesin olduğunun görselleştirilmesi mümkün olmaktadır [1, 2, 3, 6].

### **Çok Değişkenli Normal Dağılıma Dayalı Basit Sınıf Modelleme Tekniği (Unequal Dispersed Classes, UNEQ)**

UNEQ, çok değişkenli normal dağılmış grupların varsayımına dayanan sınıf modelleme tekniğidir. Bu yöntem değişken sayısı düşük olduğunda uygulanabilmektedir. UNEQ kullanılarak bir sınıf içindeki nesnelere arasındaki benzerliklere dayanarak ayrı ayrı eğitim sınıflarının her biri için sınıflandırma fonksiyonları geliştirilmektedir. Bu nedenle eğitim sınıflarının her biri için örüntü alanında bir hiper düzlem tanımlanarak yeni bir nesnenin belirli bir sınıfa ait olup olmadığına karar vermek için bir aykırı test grubu kullanılmaktadır. UNEQ, sınıfın merkezindeki Mahalanobis mesafesine veya genelleştirilmiş mesafeye dayanmakta ve bu mesafe kritik bir değeri aştığında nesne aykırı olarak kabul edilmekte, yani sınıfın bir parçası olmamaktadır. Yöntem dengesiz veri kümelerine çok duyarlı olduğundan homojen popülasyon gerektirmektedir [2, 6, 30].

### **Sınıflandırma ve Regresyon Ağaçları (Classification and Regression Trees, CART)**

CART, verilerin tekrar tekrar gruplara ayrıldığı bir ağaç oluşturma yöntemidir. CART'ın amacı en büyük olan X değerleri kümesinden bağımsız değişkenleri seçerek Y yanıtını açıklamaktır. Ağaç, dallara bağlı düğümlerle sonuçlanan özyinelemeli bir şekilde inşa edilmektedir. "İkili" terimi, bir karar ağacında bir "düğüm" ile temsil edilen her nesne grubunun yalnızca iki gruba

ayrılabilirliğini ifade etmektedir. Daha sonra iki yeni düğüme ayrılan bir düğüm, ana düğüm olarak adlandırılmakta ve iyi yeni düğümlere ise çocuk düğüm denilmektedir. Çocuk düğümleri olmayan düğümler ise terminal düğüm olarak adlandırılmaktadır. CART yöntemi temel olarak 3 adımdan oluşmaktadır. İlk olarak veri kümesi oluşturulmakta ve tüm örnekleri içeren bir kök düğümden başlanarak her ebeveyn düğüm en iyi ayırıcı tarafından iki çocuk düğüme ayrılmaktadır. Burada bölme işlemi tüm terminal düğümler bazı kriterleri karşılayana kadar devam etmektedir. İlk adımda elde edilen karar ağacı fazlalık verme eğiliminde olabildiğinden bilinmeyen örnekler için zayıf tahminler yapılabilmektedir. Bu problem ikinci adım olan budama işlemi ile çözülebilmekte ve bu işlem ile birlikte alt ağaçlar oluşturulmaktadır. Üçüncü aşamada ise, çapraz doğrulama gerçekleştirilerek veya harici bir test seti kullanılarak en iyi budanmış alt ağaç, yeni veriler için temel olarak seçilmektedir [6, 31, 32].

### **Destek Vektör Makinesi (Support Vector Machine, SVM)**

SVM, istatistiksel öğrenme teorisine dayanan hem sınıflandırma hem de regresyon problemleriyle başa çıkmak için uygulanan denetimli bir öğrenme tekniğidir. SVM'nin amacı, her iki sınıfı tam olarak ayıran ve sadece eğitim setini değil, aynı zamanda bilinmeyen örnekleri de sınıflandırarak her iki sınıfı da ayrı ayrı birleştirmektedir. En uygun sınır her iki kümeden en uzak hiper düzlem olarak yani bu kümeler arasındaki orta nokta olarak tanımlanmaktadır. Kümelerin dağılımı bilinmemekle birlikte, bu sınırın kümelerin en uygun sınıflandırması olması beklenmektedir, çünkü bu sınır her iki kümeden en izole olanıdır. Sınırlara en yakın eğitim vektörleri destek vektörleri olarak adlandırılmaktadır. Sınıflar doğrusal olmayan bir sınırla ayrıldığında, sınırı bulmak için çekirdek yöntemi kullanılmaktadır. Çekirdek yönteminin temel kavramı, vektör uzayının sınıfların doğrusal olarak ayrılabilirliği daha yüksek boyutlu bir alana dönüştürülmesinden oluşmaktadır ve regresyon durumunda küçük hatalar dikkate alınmadan doğrusal regresyon oluşturulmaktadır. [6, 33-35].

### **Yapay Sinir Ağları (Artificial Neural Networks, ANN)**

ANN, büyük ölçüde veri işleme ve bilgi temsili için hesaplamalar yapabilen yapay nöronlar veya düğümler adı verilen birbirine bağlı, uyarlamalı basit işlem elemanlarından oluşan yapılar olarak tanımlanmaktadır. İleri beslemeli ANN paralel bir yapıya yerleştirilmiş çok sayıda yapay nörondan oluşmaktadır. Nöronlar, her bağımsız değişken (X) için bir nöron içeren giriş katmanında sıralanmakta ve verinin işlendiği bir veya daha fazla gizli katman ile her bağımlı değişken (Y) için bir nöron içeren çıkış katmanı bulunmaktadır. Giriş katmanından gelen veriler, ağlar yoluyla ağırlık (W) olarak adlandırılan bağlantı katsayıları ile ilişkili olan sinapslar ile yayılmaktadır. En popüler, çok yönlü ve yaygın olarak kullanılan ağ türü, geri yayımlı ANN'lerdir. Geri yayılım terimi, çıktı tarafında hesaplanan hatanın çıkış katmanından gizli katmana ve

son olarak da giriş katmanına doğru yayılma şekli ifade etmektedir. Geri yayılma ANN'lerinde nöronlar kısmen veya tamamen birbirine bağlanabilmektedirler. Geri yayılımın öğrenme stratejisi, bir önceki katmandan elde edilen hatayla orantılı olarak ağırlık bazında ölçümler yapılmasına dayanmaktadır. Bir ağın başlatılması, nöronlar arasındaki bağlantıların ağırlıklarına ve eşiklerine rastgele başlangıç değerlerinin atanmasını içermekte ve ağırlığın düzeltilmesi yinelemeli olarak gerçekleşmektedir. Eğitim aşamasında, öğrenme sürecine dahil olan tüm parametreler için değerler, net tahmin edilen çıktı ile doğru çıktı arasındaki hata hesaplanmaktadır. Gizli katmanların boyutu ve sayısı ile eğitim döngülerinin farklı değerleri test edilerek ve sonuç tahmininin doğruluğu kontrol edilerek değerlendirilmektedir. Bir ANN için optimal sayıda döngü, test setindeki hata minimum seviyeye ulaştığında elde edilmektedir. ANN'lerin büyük bir avantajı, girdi ve çıktı değişkenleri arasındaki ilişkinin nedensel bilgisinin gerekli olmamasıdır. Ayrıca, ANN'ler doğrusal olmayan yani aralarında nedensellik bulunmayan verilerin de değerlendirilmesini sağlama, ölçüm hatalarının varlığında doğru tahmin sağlayan gürültü duyarsızlığı, hızlı işleme ve donanım hatası toleransı anlamına gelen yüksek paralellik, değişen çevreye tepki olarak sistemin kendi yapısını güncellemesine (değiştirmesine) izin veren öğrenme ve uyarlanabilirlik, yapılan genellemenin modelin kazanılmamış veriye uygulanmasını sağlaması gibi önemli ve pratik bilgi işleme özellikleri de sunmaktadır [36-39].

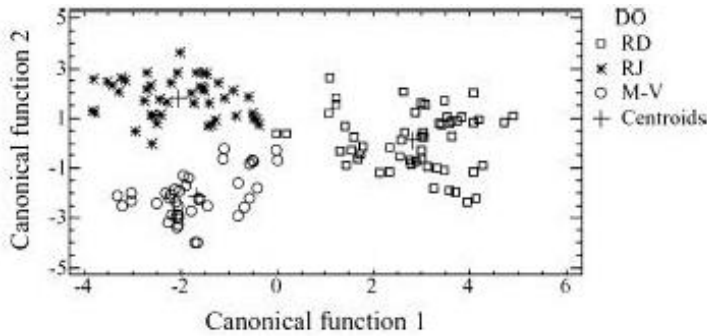
### **DENETİMLİ ÖRÜNTÜ TANIMA TEKNİKLERİNİN GIDA ANALİZLERİNDE UYGULANMASI İLE İLGİLİ ÖRNEKLER**

Gıda analizlerinde kemometri (istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanarak kimyasal verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplini) uygulamaları ile ilgili gıda ürünlerine genel bakış [40], balık [41], et [42], şarap [43, 44], bira [45] veya bal [46] gibi belirli gıdalar üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bunların dışında örüntü tanıma teknikleriyle ilgili olarak elektronik burun veya dil [47, 48], süt ürünlerinde doku tayini [49], şarap aroması [50], orta kızılötesi spektrometri (MIR) kullanılarak gıda doğrulaması [51], duyu analizi [52], bilgisayar görüntüsü ile gıda kalitesinin değerlendirilmesi [53], et bozulmalarının tespiti [54], çoklu element/izotop analizi [55] ve çeşitli gıdaların coğrafi kökenlerinin belirlenmesi üzerine literatürde çalışmalar bulunmaktadır [6].

Berrueta ve ark. [6] tarafından 2004-2006 yılları arasında bibliyografide bulunan gıda analizlerinde denetimli örüntü tanıma uygulamalarının ayrıntıları; girdi verileri, veri ön işleme yöntemleri, değişken seçimleri, denetimsiz/denetimli örüntü tanıma teknikleri ve sınıflandırma kriterleri şeklinde incelenmiştir. Şarap analizlerinde veri girişi olarak e-burun, e-dil, kimyasal veriler, renk bileşenleri, antosiyanin kompozisyonu gibi değişkenler seçilerek çeşitli denetimli örüntü tanıma teknikleri uygulanarak şaraplar coğrafi orijin, üzüm kültürü, depolama zamanı, yapım tekniği gibi kriterlere göre sınıflandırılmıştır. Yenilebilir yağ analizlerinde yağ

asit içeriği, duyu verileri, spektra verileri kullanılarak yağlar botanik orijin, coğrafi orijin, kaliteli veya kusurlu şeklinde kriterlere göre sınıflandırılmıştır. Bal analizlerinde nem, pH, iletkenlik, HMF içeriği, renk bileşenleri verileri kullanılarak bal ürünlerinde genelde çiçek kökenine göre sınıflandırılma yapılmıştır. Süt ürünleri analizlerinde veri girişi olarak duyu verileri, peptit ve aminoasit profilleri seçilerek ürünler marka, ürün çeşidi, olgunlaşma zamanı gibi kriterlere göre sınıflandırılmıştır. Et analizlerinde protein içerikleri, multispektral görüntüler, dioksin ve dibenzofuranlar veri girişi olarak seçilerek et ürünleri dondurulmuş saklama zamanı, hayvan kökeni ve asit oranı şeklinde sınıflandırılmıştır. Meyve ürünleri analizlerinde ise polifenol, prosiyanidin, e-burun giriş verileri kullanılarak meyveler çeşit, coğrafi orijin, olgunluk durumu, kalite gibi kriterlere göre sınıflandırılmıştır [6]. Tüm bu denetimli örüntü tanıma teknikleri ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde gıda örneklerini farklı kriterlere göre sınıflandırmak için çeşitli modellerin kullanılabilirliği görülmektedir. Bu modeller kullanılarak coğrafi köken, hayvansal köken, botanik köken, teknolojik süreç, kalite durumu, taşıma tespiti gibi kategorilerde ayrımların yapılabileceği çeşitli sınıflar oluşturulmaktadır.

P'erez-Magari'no ve ark. [56] 70 örnekten oluşan gül şaraplarını coğrafi kökenlerine göre sınıflandırmışlardır.

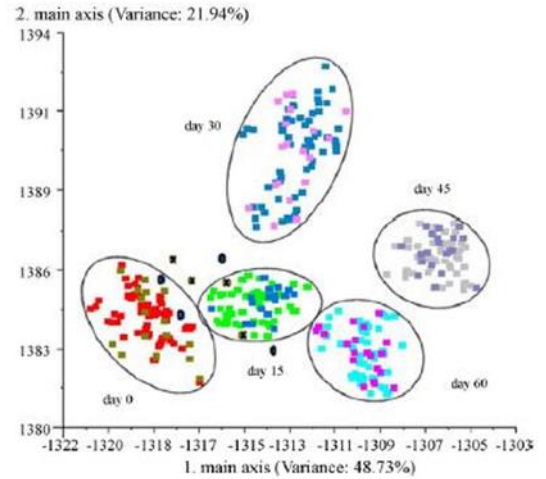


Şekil 2. Coğrafi kökenli (RD, Ribera del Duero; RJ, Rioja; M-V, La Mancha ve Valdepeñas) gül şaraplarının sınıflandırılması için oluşturulan kanonik değişkenler (kökler) çizimi [56]

Cozzolino ve ark. [58] tarafından ham ve ikinci türev vis-NIR (200-2500 nm) spektral verileri kullanılarak iki botanik kökene ait beyaz şaraplar (Riesling çeşidinin 144 numunesi ve Chardonnay çeşidinin 125 numunesi) arasında ayırım yapılmıştır. PCA kullanılarak veri boyutunun azaltılması gerçekleştirilmiştir. En iyi sınıflandırma yetenekleri, 400 ve 1100 nm arasındaki spektrallerin ikinci türev verileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (çapraz doğrulama ile isabetlerin %100'ü). Şekil 4'te Riesling ve Chardonnay şarapları için doğru tahminlerin sırasıyla %100 ve %98,4'ünü

Başlangıçtaki 19 başlangıç girişi değişkeninden (Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile 7 metal, geleneksel kimyasal yöntemlerle 6 polifenolik bileşik ailesinin toplam içeriği, 2 renk parametresi ve 4 klasik oenolojik parametre), sadece 10 değişken LDA ile seçilmiştir. Çalışmada 4 farklı köken belirlenmiştir (Ribera del Duero (RD), Rioja (RJ), La Mancha (M) ve Valdepeñas (V)). Valdepeñas ve La Mancha'dan alınan örnekler bir sınıf (M-V) olarak kabul edilmiştir. Bu bölgelerin coğrafi olarak yakın olması nedeniyle benzer iklimoloji ve detaylandırma uygulamaları göstermektedir. Şekil 2'de, numunelerin ilk iki kanonik varyasyon tarafından tanımlanan alan üzerindeki grafiği görülmektedir. LDA modelinin tanıma yetenekleri RD için %98.2 ve RJ ile M-V için %100 iken tahmin yetenekleri RD için %95.3, RJ için %98.1 ve M-V için %98.0 olarak belirtilmiştir [56].

Hernandez-Gomez ve ark. [57] 10 sensör ile donatılmış bir e-burun kullanarak mandalinaların farklı olgunluk durumlarını (400 örnek) karakterize etmişlerdir. Bu amaçla, mandalinaları beş farklı toplama tarihinde (her 15 günde bir) hasat etmişlerdir. LDA, bir dış doğrulama kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sırasıyla %98 ve %92'lik küresel tanıma ve öngörü yeteneklerine ulaşılmıştır. Şekil 3'te ilk iki kanonik varyasyonun çizimi, 0 ve 15 günlüklerden sadece bazı örneklerin yanlış sınıflandırıldığını göstermektedir [57].



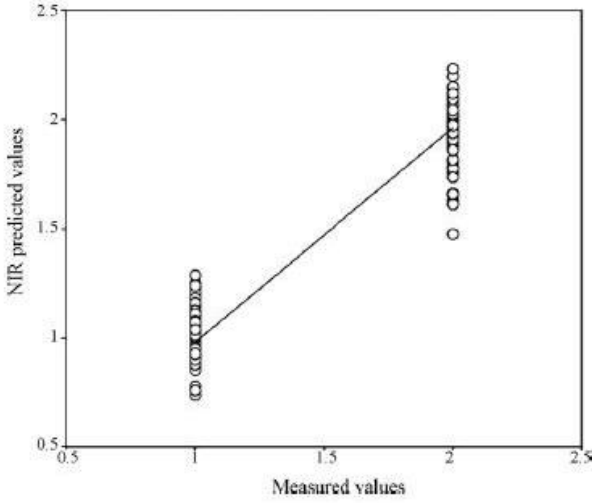
Şekil 3. E-burun verileri kullanılarak mandalina farklı olgunluk durumlarının sınıflandırılması için hazırlanan LDA grafiği. Eğitim seti: kırmızı, yeşil, açık mavi, turkuaz mavi ve gri kareler. Harici test seti: koyu yeşil, koyu mavi, pembe, fuşya, mor [57].

sağlayan, modelin harici doğrulaması ile ilgili sonuçlar görülmektedir [58].

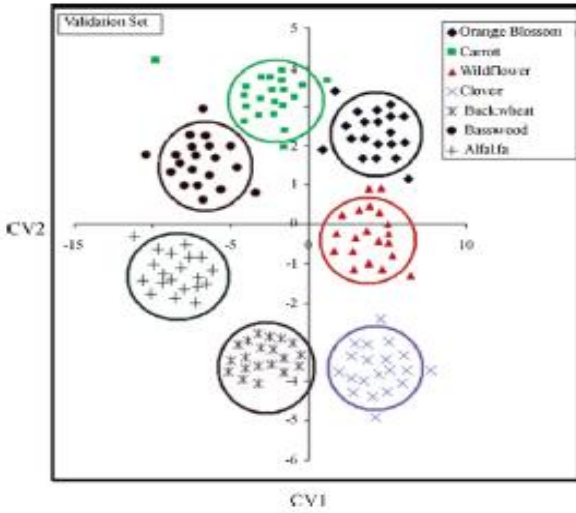
Tewari ve Irudayaraj [59], FT-IR ve z-burnu ile yedi farklı botanik kökene (yonca, karabuğday, ıhlamur, kır çiçeği, portakal çiçeği, havuç ve yonca) ait balları (350 örnek) karakterize etmişlerdir. Veriler SD'ye bölünmesinden sonra normalleştirilmiş ve daha sonra bir PCA değişken indirgemesi gerçekleştirilmiştir. İlk altı veya yedi PC'nin skorları, CVA için giriş verileri olarak seçilmiştir. Şekil 5'te elde edilen tanıma ve tahmin yeteneklerinin



sırasıyla %97 ve %96'dan (yedi köken ortalamaları) daha yüksek olarak elde edildiği görülmektedir [59].



Şekil 4. İki farklı üzüm çeşidinden elde edilen beyaz şaraplar arasındaki ayırım grafiği: PLS-DA (sınıf 1, Riesling şarapları ve sınıf 2, Chardonnay şarapları) tarafından elde edilen validasyon setine yönelik tahmin edilen değerlere karşı ölçülen değerler [58]



Şekil 5. Farklı çiçeklerden elde edilen bal örneklerinin sınıflandırılması için ilk iki kanonik varyasyonun (CV1 ve CV2) CVA grafiği [59]

Bu çalışma örnekleri incelendiğinde, denetimli örüntü tanıma tekniklerinin doğru bir şekilde kullanıldığında faydalı sonuçlar elde etmeye olanak sağlayan yöntemler olduğu görülmektedir. Bu anlamda, her bir kategorideki değişkenliği doğru temsil etmeyen az sayıda örnek kullanılması gibi yetersiz uygulamalardan kaçınmaya özel önem verilmelidir. Dengesiz örnek kümelerinin kullanılması ve modellerin doğrulamasını yapmak ta önem taşımaktadır [6].

## SONUÇ

Analitik kimyada, modern analitik araçların sağladığı yüksek miktarda analitik bilgi nedeniyle veri analizi uygulamaları temel bir basamak haline gelmiştir.

Denetimli örüntü tanıma, ölçülen özelliklerin modeline dayanarak, önceden tanımlanmış bir örnek sınıfına bilinmeyen örnekler atamak amacıyla deneysel verilere dayanan bir sınıflandırma modeli oluşturmayı amaçlamaktadır. Gıda analizlerinde denetimli örüntü tanıma kullanımı, bu alanın birçok yönünü kapsayarak ve kullanım oranı gün geçtikçe katlanarak artmaktadır. Mevcut çalışmalar ve araştırmalar gözden geçirildiğinde, çok değişkenli tekniklerin istatistiksel temellerinin anlaşılmasının hala gerekli olduğu sonucuna varılabilir. Denetimli örüntü tanıma teknikleriyle incelenen gıdalara örnek olarak şarap, yenilebilir yağ, bal, süt ürünleri, et, meyveler, içecekler, tahıllar, balık, katkı maddeleri vb. ürünler verilebilir. Özetlenen örnek çalışmalar, gıda kimyasında denetimli örüntü tanıma yöntemlerinin potansiyel yararlılığını ve çok çeşitli yöntemlerin rutin olarak uygulandığını göstermektedir. Ana bileşen analizinin, herhangi bir denetimli örüntü tanıma tekniğini kullanılmadan önce yapılması denetimsiz örüntü tanıma uygulamasının temelini oluşturmaktadır ve yapılan çalışmalarda bu uygulamanın yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. LDA en sık kullanılan denetimli örüntü tanıma tekniğidir. Elde edilebilecek iyi sonuçları sunmasına rağmen ise QDA ve CART nadiren kullanıldığı saptanmıştır.

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, dikkate alınan sınıfların geçerliliği, araştırmacıların temsili bakış açısı ve belirli noktalara aşırı takılmaları nedeniyle eksiklikler olduğu görülmektedir. Çalışmaların amacına ulaşması, gıda analizlerinde en çok kullanılan denetimli örüntü tanıma tekniklerinin temellerinin gözden geçirilerek, ölçülen verilerin pratik gereksinimlerine özel bir vurgu yapılması ile söz konusu olabilecektir. Bu uygulamanın, gıda analizleri konusunda hızlı, pratik ve güvenilir sonuç olanağı vermesinden dolayı önümüzdeki yıllarda kullanım olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Lavine, B.K. (2000). Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, New York.
- [2] Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers-Verbeke, J. (1997). Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A, Elsevier, Amsterdam, 207p.
- [3] Brereton, R.G. (2003). Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant. Wiley, Chichester, 119p.
- [4] Mazzatorta, P., Benfenati, E., Lorenzini, P., Vighi, M. (2004). QSAR in ecotoxicity: an overview of modern classification techniques. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44(1), 105-112.
- [5] Todeschini, R., Ballabio, D., Consonni, V., Mauri, A. Pavan, M. (2007). CAIMAN (Classification And Influence Matrix Analysis): A new approach to the classification based on leverage-scaled functions. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 87(1), 3-17.
- [6] Berrueta, L.A., Alonso-Salces, R.M., Héberger, K. (2007). Supervised pattern recognition in food

- analysis. *Journal of Chromatography A*, 1158(1-2), 196-214.
- [7] Koyuncu, İ. (2016). İleri Örüntü Tanıma Teknikleri ve Uygulamaları. <http://docplayer.biz.tr/3182643-İleri-oruntu-tanima-teknikleri-ve-uygulamaları-icerik.html>.
- [8] Anonim (2014). Örüntü Tanıma. [http://ehm.kocaeli.edu.tr/dersnotlari\\_data/kgullu/Oruntu%20Tanima/Sunu1\\_2.pdf](http://ehm.kocaeli.edu.tr/dersnotlari_data/kgullu/Oruntu%20Tanima/Sunu1_2.pdf).
- [9] Samtaş, G., Gülesin, M. (2011). Sayısal Görüntü İşleme ve Farklı Alanlardaki Uygulamaları. *Electronic Journal of Vocational Colleges*, 2(1), 85-97.
- [10] Solak, S., Altınışik, S. (2018). Görüntü işleme teknikleri ve kümeleme yöntemleri kullanılarak fındık meyvesinin tespit ve sınıflandırılması. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(1), 56-65.
- [11] Viola, P., Jones, M. (2001). Rapid object detection using a boosted cascade of simple features. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 2001. CVPR 2001. Proceedings of the 2001 IEEE Computer Society Conference on* (Vol. 1). IEEE.
- [12] Hussin, R., Juhari, M.R., Kang, N.W., Ismail, R.C., Kamarudin, A. (2012). Digital image processing techniques for object detection from complex background image. *Procedia Engineering*, 41, 340-344.
- [13] Sonka, M., Hlavac, V., Boyle, R. (2014). *Image Processing, Analysis, and Machine Vision*. Cengage Learning, Stamford, USA, 37p.
- [14] Wu, D., Sun, D.W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 5-20.
- [15] Hof, A., Wolf, N. (2014). Estimating potential outdoor water consumption in private urban landscapes by coupling high-resolution image analysis, irrigation water needs and evaporation estimation in Spain. *Landscape and Urban Planning*, 123, 61-72.
- [16] Latha, M., Poojith, A., Reddy, B.A., Kumar, G.V. (2014). Image processing in agriculture. *International Journal of Innovative Research In Electrical, Electronics, Instrumentation and Control Engineering*, 2(6), 1562-1565.
- [17] Kurtuluş, F., Vardar, A., Kavdır, İ. (2013). Bahçe Koşullarında Alınmış Renkli Görüntülerde Doku ve Şekil Özellikleriyle Genç Şeftali Meyvelerinin Saptanması. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 9(2), 141-148.
- [18] Sert, E., Taşkın, D., Suçsuz, N. (2010). Görüntü İşleme teknikleri ile şeftali ve elma sınıflandırma. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2), 82-88.
- [19] Sofu, M., Er, O., Kayacan, M.C., Çetişli, B. (2013). Elmaların görüntü işleme yöntemi ile sınıflandırılması ve leke tespiti. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8(1), 12-25.
- [20] Demirbaş, H.Y., Dursun, İ. (2007). Buğday tanelerinin bazı fiziksel özelliklerinin görüntü işleme tekniğiyle belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(3), 176-185.
- [21] Bayrakdar, S., Çomak, B., Başol, D., Yücedağ, İ. (2015). Determination of type and quality of hazelnut using image processing techniques. In *Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)*, May 2015, 616-619p.
- [22] Balcı, M., Altun, A.A., Taşdemir, Ş. (2016). Görüntü işleme teknikleri kullanılarak Napolyon tipi kirazların sınıflandırılması. *Selçuk-Teknik Dergisi*, 15(3), 221-237.
- [23] Beyer, M., Hahn, R., Peschel, S., Harz, M., Knoche, M. (2002). Analysing fruit shape in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 96(1), 139-150.
- [24] Ercisli, S., Sayinci, B., Kara, M., Yıldız, C., Ozturk, I. (2012). Determination of size and shape features of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars using image processing. *Scientia horticulturae*, 133, 47-55.
- [25] Antonucci, F., Costa, C., Pallottino, F., Paglia, G., Rimatori, V., De Giorgio, D., Menessati, P. (2012). Quantitative method for shape description of almond cultivars (*Prunus amygdalus* Batsch). *Food and bioprocess technology*, 5(2), 768-785.
- [26] Lavine, B.K. (2006). Pattern recognition. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36, 153-161.
- [27] Héberger, K., Csomós, E., Simon-Sarkadi, L. (2003). Principal component and linear discriminant analyses of free amino acids and biogenic amines in hungarian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8055-8060.
- [28] Hörchner, U., Kalivas, J.H. (1995). Simulated annealing type optimization algorithms: fundamentals and wavelength selection applications. *Journal of Chemometrics*, 9, 283-308.
- [29] Rogers, D., Hopfinger, A.J. (1994). Application of genetic function approximation to quantitative structure-activity relationships and quantitative structure-property relationships. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 34(4), 854-866.
- [30] Derde, M.P., Massart, D.L. (1986). UNEQ: a disjoint modelling technique for pattern recognition based on normal distribution. *Analytica Chimica Acta*, 184, 33-51.
- [31] Breiman, L., Friedman, J.H., Olshen, R.A., Stone, C.J. (1984). *Classification and Regression Trees*. Wadsworth International Group, Belmont, CA, 131-156p.
- [32] Zhang, M.H., Xu, Q.S., Daeyaert, F., Lewi, P.J., Massart, D.L. (2005). Application of boosting to classification problems in chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 544, 167-176.
- [33] Burges, C.J.C. (1998). A tutorial on support vector machines for pattern recognition. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 2, 121-167.
- [34] Cortes, C., Vapnik, V. (1995). Support-Vector Networks. *Machine Learning*, 20, 273-297.
- [35] Xu, Y., Zomer, S., Brereton, R.G. (2006). Support Vector Machines: A Recent Method for Classification in Chemometrics. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36(3-4), 177-188.
- [36] Barile, D., Coisson, J.D., Arlorio, M., Rinaldi, M. (2006). Identification of production area of

- Ossolano Italian cheese with chemometric complex approach. *Food Control*, 17(3), 197-206.
- [37] Basheer, I.A., Hajmeer, M. (2000). Artificial neural networks: fundamentals, computing, design, and application. *Journal of Microbiological Methods*, 43(1), 3-31.
- [38] Gonçalves, E.C., Minim, L.A., Coimbra, J.S.R., Minim, VPR. (2005). Modeling sterilization process of canned foods using artificial neural networks. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 44(12), 1269-1276.
- [39] Jain, A.K., Mao, J., Mohiuddin, K.M. (1996). Artificial neural networks: A tutorial. *Computer*, 29(3), 31-44.
- [40] Tzouros, N.E., Arvanitoyannis, I.S. (2001). Agricultural produces: synopsis of employed quality control methods for the authentication of foods and application of chemometrics for the classification of foods according to their variety or geographical origin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 287-319.
- [41] Arvanitoyannis, I.S., Tsitsika, E.V., Panagiotaki, P. (2005). Implementation of quality control methods (physicochemical, microbiological and sensory) in conjunction with multivariate analysis towards fish authenticity. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 237-263.
- [42] Arvanitoyannis, I.S., van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (2003). Implementation of chemometrics for quality control and authentication of meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 173-218.
- [43] Arvanitoyannis, I.S., Katsota, M.N., Psarra, E.P., Soufleros, E.H., Kallithraka, S. (1999). Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). *Trends in Food Science & Technology*, 10(10), 321-336.
- [44] Gishen, M., Damberg, R.G., Cozzolino, D. (2005). Grape and wine analysis - enhancing the power of spectroscopy with chemometrics. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 296-305.
- [45] Siebert, K.J. (2001). Chemometrics in Brewing-A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 59(4), 147-156.
- [46] Arvanitoyannis, I.S., Chalhoub, C., Gotsiou, P., Lydakis-Simantiris, N., Kefalas, P. (2005). Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(3), 193-203.
- [47] Ampuero, S., Bosset, J.O. (2003). The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 94(1), 1-12.
- [48] Vlasov, Y., Legin, A., Rudnitskaya, A., di Natale, C., Amico, A.D. (2005). Nonspecific sensor arrays (electronic tongue) for chemical analysis of liquids. *Pure and Applied Chemistry*, 77(11), 1965-1983.
- [49] Karoui, R., Mazerolles, G., Dufour, É. (2003). Spectroscopic techniques coupled with chemometric tools for structure and texture determinations in dairy products. *International Dairy Journal*, 13(8), 607-620.
- [50] Noble, A.C., Ebeler, S.E. (2002). Use of multivariate statistics in understanding wine flavor. *Food Reviews International*, 18(1), 1-20.
- [51] Downey, G. (1998). Food and food ingredient authentication by mid-infrared spectroscopy and chemometrics. *Trends in Analytical Chemistry*, 17(7), 418-424.
- [52] Sundberg, R. (2000). Aspects of statistical regression in sensometrics. *Food Quality and Preference*, 11, 17-26.
- [53] Du, J.C., Sun, D.W. (2006). Learning techniques used in computer vision for food quality evaluation: a review. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 39-55.
- [54] Ellis, D.I., Goodacre, R. (2001). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 414-424.
- [55] Kelly, S., Heaton, K., Hoogewerff, J. (2005). Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 16(12), 555-567.
- [56] Perez-Magarino, S., Ortega-Heras, M., Gonzalez-San Jose, M.L., Boger, Z. (2004). Comparative study of artificial neural network and multivariate methods to classify Spanish DO rose wines. *Talanta*, 62(5), 983-990.
- [57] Gómez, A.H., Wang, J., Hu, G., Pereira, A.G. (2006). Electronic nose technique potential monitoring mandarin maturity. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 113(1), 347-353.
- [58] Cozzolino, D., Smyth, H.E., Gishen, M. (2003). Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7703-7708.
- [59] Tewari, J.C., Irudayaraj, J.M.K. (2005). Floral classification of honey using mid-infrared spectroscopy and surface acoustic wave based z-nose sensor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 6955-6966.

## Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M<sub>1</sub>

Cesur Mehenktaş  

Ege Üniversitesi, Tire Kutsan Meslek Yüksekokulu, Tire, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 09.03.2018, Kabul Tarihi (Accepted): 28.12.2018

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): cesur.mehenktaş@ege.edu.tr (C. Mehenktaş)

☎ 0 232 512 86 16 📠 0 232 512 86 16

### ÖZ

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* gibi küfler tarafından üretilen, gerek insanlar gerekse hayvanlarda toksik etkiler gösteren maddelerdir. Bu maddeler, uygun sıcaklık ve nem koşullarında çeşitli bitkisel ürünlerde ve tahıllarda oluşabilmektedir. Aflatoksinlerin süt ve ürünlerinde en sık rastlanan türü aflatoksin M<sub>1</sub>'dir. Bu çalışmada aflatoksinlerle ilgili genel bilgiler, aflatoksin M<sub>1</sub>'in toksisitesi, süt ve ürünlerine geçiş yolları, süt ve ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyinin azaltılması ve çeşitli süt ürünlerindeki miktarları gibi konular incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoksin M<sub>1</sub>, Süt, Süt ürünleri

### Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk and Dairy Products

#### ABSTRACT

Aflatoxins are produced by fungi including *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus nomius*, and they are toxic to both humans and animals. These substances may occur in various crops and cereals under suitable temperature and moisture conditions. The type of aflatoxin most commonly found in milk and dairy products is aflatoxin M<sub>1</sub>. In this study, general information about aflatoxins, the toxicity of aflatoxin M<sub>1</sub>, various ways of its transition into milk and dairy products, reduction of aflatoxin M<sub>1</sub> level in these products, and its presence in various dairy products are discussed.

**Keywords:** Aflatoxin M<sub>1</sub>, Milk, Dairy products

#### GİRİŞ

Süt büyüme ve insan sağlığının korunması için elzem olan birçok makro ve mikro besin öğelerini içeren, oldukça besleyici bir gıdadır [1]. Ancak, süt aynı zamanda çevresel ve gıda kontaminantlarının taşıyıcısı olabilmekte ve tüketen bireylerde çeşitli fizyolojik değişikliklere yol açabilmektedir. Sütte bulunan mikroorganizmalar ve bunların metabolitleri doğum yapan memelilerin sıvılarına ve dokularına geçebilmekte ve ardından sağlıklarına zarar verebilmektedir [2]. Süt ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdaların insanların diyetine aflatoksin M<sub>1</sub> gibi sağlıklı tehdit edici unsurları taşıma potansiyeli bulunmaktadır [3]. Sütte (özellikle

inek sütünde) aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunması, yetişkinler ve özellikle çocuklar için bir gıda maddesi olarak önemi nedeniyle onu insanlar için önemli bir risk haline getirmektedir. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemli bir sorundur [4].

Nüfus artışı, gerek insanlar gerekse hayvanlar için gıda gereksiniminin artmasına neden olmuş, bu da geleneksel üretim sistemlerinin yoğun üretim sistemlerine dönüşmesine yol açmıştır. Bu durum, büyük miktarlarda tahıl üretimine ve aceleyle depolanmasına, sonuç olarak da bazen mikotoksin

üreten küflerin gelişimini destekleyen koşulların oluşumuna neden olmaktadır [5].

Aflatoksinler yaklaşık 20 adet küf metabolitinden oluşan bir gruptur ve tahıllar, kabuklu meyşler, baharatlar, incir ve kurutulmuş meyveler gibi çok çeşitli gıdalarda bulunabilmektedir. En yüksek konsantrasyonları dünyadaki sıcak bölgelerde yetiştirilen ve depolanan gıda ürünlerinde oluşmasına karşın, bu ürünlerin uluslararası ticareti aflatoksinlerin sadece üretici ülkeler için değil, aynı zamanda ithalatçı ülkeler için de bir sorun olmasına yol açmaktadır [4]. Bu maddeler, insanlar ve hayvanlar için hem akut hem de kronik olarak toksiktirler. Aflatoksinler bağışıklık sistemini baskılayıcı, mutajen, teratojen ve karsinojen bileşiklerdir. Toksikite ve karsinojenitenin başlıca hedef organı karaciğerdir [6]. Pek çok araştırmaya göre, çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinde en sık saptanan aflatoksin, aflatoksin M<sub>1</sub>'dir [5].

### AFLATOKSİNLERE İLİŞKİN GENEL BİLGİLER

Aflatoksinler büyük ilgi çeken bileşiklerdir, çünkü bunlar tüketicilerin diyetine hayvan yemi, dolayısıyla hayvansal gıda ürünleri aracılığıyla ulaşabilmektedir [7]. Aflatoksinlerin keşfinden kısa bir süre sonra, araştırmacılar bunların kalıntılarının kontamine yemle beslenen hayvanlardan elde edilen sütte ve diğer hayvansal ürünlerde bulunabileceğini öne sürmüşlerdir [1].

Aflatoksinler esas olarak *Aspergillus* türlerince üretilirler [8]. Bunlar, yaygın şekilde bulunan küfler olan *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius*'un metabolizmalarınca üretilen son derece toksik mikotoksinlerdir [9]. *Aspergillus nomius* bitkileri ve bitkisel ürünleri kontamine eder ve nadir bulunur. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* ise üreme ortamı olarak yağlı tohumlara özel bir ilgi gösteren sık rastlanan küflerdir [4]. Bu organizmalar tarımsal ürünleri kontamine ederler ve özellikle aflatoksin B<sub>1</sub>, aflatoksin B<sub>2</sub>, aflatoksin G<sub>1</sub> ve aflatoksin G<sub>2</sub> üretirler. Aflatoksin B<sub>1</sub> ve aflatoksin B<sub>2</sub> ile kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanlar bu aflatoksinleri hidrolize edebilirler ve aflatoksin M<sub>1</sub> ve aflatoksin M<sub>2</sub> ile kontamine olmuş süt ürünleri verirler [8]. Hayvanlar aflatoksin B<sub>1</sub> içeren yemlerle beslendiğinde, bu toksinler metabolize edilerek aflatoksin M<sub>1</sub> olarak süte salgılanmaktadır ve bu aflatoksin B<sub>1</sub>'in aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüşümü için tek yoldur [10]. Aflatoksin B<sub>1</sub>'in aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüşümü genellikle bir detoksifikasyon işlemi olarak kabul edilir, çünkü aflatoksin M<sub>1</sub>'in canlıdaki kanser yapıcı etkisi aflatoksin B<sub>1</sub>'inkinin yaklaşık %10'u kadardır [1].

Aflatoksinler yer fıstığı, kurutulmuş hindistan cevizi içi ve soya fasulyesi gibi çeşitli bitkisel ürünlerde ve mısır, pirinç ve buğday gibi tahıllarda bulunur. Uygun sıcaklık ve nem koşullarında hasat, depolama, nakliye ve işleme gibi üretimin herhangi bir aşamasında oluşabilmektedirler [9]. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarlalardaki bitkilerde kolonize olur (en riskli coğrafi bölgeler tropik veya subtropik iklime sahip olanlardır), ancak eğer yeterince kurutulmazsa hasat sonrasında ürünlerde de gelişebilir. Bu küflerin gelişme

sıcaklığı 12-48°C'dir, fakat en uygun koşullar 36-38°C'de oluşmaktadır. Aflatoksin üretimi 20 ve 30°C arasındaki sıcaklıklarda meydana gelmektedir ve üst sınır aynı zamanda en uygun sıcaklık gibi görünmektedir [4].

Aflatoksin B<sub>1</sub> aflatoksinlerin en toksik, karsinojen, teratojen ve mutajen türüdür [1]. Aflatoksin M<sub>1</sub> aflatoksin B<sub>1</sub>'in hidroksillenmiş metabolitidir ve süt veren hayvanlar kontamine yemlerle beslendiğinde sütte ve diğer süt ürünlerinde bulunabilmektedir. Aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontamine olmuş yiyeceklerle beslenen memeliler sütlerine aflatoksin M<sub>1</sub> olarak bilinen 4-hidroksillenmiş metabolit salgırlar [4]. Yemdeki aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyi hayvanın metabolik kapasitesinin üzerinde olursa, hem aflatoksin M<sub>1</sub> hem de aflatoksin B<sub>1</sub> sütte bulunabilmektedir [11].

### TOKSİSİTESİ

Aflatoksin M<sub>1</sub> hem insanların hem de süt veren hayvanların süt bezlerinde süte salgılanır [12]. Hayvanların genetik yapısı, mevsimsel değişimler, sağım işlemi ve çevresel koşullar gibi faktörlere bağlı olarak aflatoksin B<sub>1</sub>'in yaklaşık %0.3-6.2'si metabolize edilmiş aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüştürülür ve süte salgılanır [13]. Birçok ülkede her yaş grubunun düzenli olarak günlük beslenmelerinde süt ve süt ürünlerini tüketmeleri nedeniyle, yapılan çalışmalar bu ürünlerde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığının bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir [12].

Aflatoksinler hem akut hem de kronik olarak toksiktirler [4]. Hayvanlarda, aflatoksinlerle belirli bir düzeyde kontamine olmuş yemlerin tüketilmesi teratojeni (doğum kusurları) ile sonuçlanmakta, özellikle ilk embriyonik evrede fetusta sakatlıklar ve embriyonun vücut tarafından emilmesi (bir düşük türü) görülmektedir [2]. Aflatoksin B<sub>1</sub> gerek toksisite gerekse bulunma bakımından değerlendirildiğinde en toksik alt türdür ve en yoğun ilgi bunun metaboliti olan aflatoksin M<sub>1</sub>'e yönelmiştir [1]. Aflatoksin B<sub>1</sub> Grup 1 (insanlarda kanser yapıcı) olarak sınıflandırılırken, aflatoksin M<sub>1</sub> Grup 2B (insanlarda olası kanser yapıcı) olarak sınıflandırılmaktadır [2]. Aflatoksin B<sub>1</sub> bilinen en güçlü karaciğer karsinojenlerinden birisidir. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in *in vitro* koşullarda insan karaciğer hücrelerinde sitotoksik olduğu ortaya konmuştur ve çeşitli canlılardaki akut toksisitesi aflatoksin B<sub>1</sub>'inkine benzerdir. Aflatoksin M<sub>1</sub> ayrıca *in vitro* koşullarda memeli hücrelerinde DNA hasarına, gen mutasyonuna, kromozom anomalilerine ve hücre dönüşümüne yol açabilmektedir. Bununla birlikte, aflatoksin M<sub>1</sub> aflatoksin B<sub>1</sub>'den daha az mutajenik ve genotoksiktir [4].

Aflatoksin M<sub>1</sub>'in tolere edilebilir günlük alım düzeyi 0.2 ng/kg vücut ağırlığı olarak hesaplanmıştır [4]. Avrupa Topluluğu ve Codex Alimentarius içme süttünde aflatoksin M<sub>1</sub> için maksimum düzeyi 50 ng/L olarak belirlemiştir. Diğer taraftan, ABD yasalarına göre sütteki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyi 500 ng/L'den yüksek olmalıdır. Sütteki aflatoksin sınırları ülkelerin koşullarına bağlıdır ve bir ülkeden diğerine değişiklik gösterebilmektedir [9].

Dünya Sağlık Örgütü potansiyel riski azaltmak için süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin minimuma indirilmesini tavsiye etmektedir [2]. Genç hayvanların aflatoksin B<sub>1</sub>'e (ve muhtemelen aflatoksin M<sub>1</sub>'e) yetişkinlerden daha duyarlı olduğu belirlenmiştir [4]. Dolayısıyla, süt ve süt ürünlerini yüksek miktarda tüketmeleri, düşük vücut ağırlıkları ve aflatoksinlere yüksek hassasiyetleri göz önünde bulundurulduğunda, çocukların sağlığına ilişkin büyük bir endişe söz konusu olmaktadır [2]. Aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı bir risk olarak değerlendirilmeli, iklimsel ve çevresel koşulların öngörülebilmesi ve belirli tarımsal sistemlerin yetersizliği (zayıf ekonomik koşullar ve/veya bilgi eksikliği) gibi nedenlerle kesinlikle hafife alınmamalı veya ihmal edilmemelidir [4].

### SÜT VE ÜRÜNLERİNE GEÇİŞ YOLLARI

Süt ürünlerinde mikotoksinlerin bulunması şunlardan kaynaklanabilmektedir:

#### İndirekt Kontaminasyon (Yemden Geçiş)

İneklerin beslenmesinde kontamine yemler kullanılırsa, yem tüketiminden sonraki 2-3 gün boyunca sütte aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmaktadır. Aflatoksin içermeyen yem verildiğinde sütteki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyi azalarak 2-3 gün içerisinde sifıra inmektedir [4]. Başka bir çalışmada aflatoksin M<sub>1</sub>'in sütte aflatoksin B<sub>1</sub>'in ilk tüketiminden 12-24 saat sonra gözlemlendiği bildirilmektedir [9].

Tüketilen hayvan yemindeki aflatoksin B<sub>1</sub>'in %0.3-6.2'si salgılanan sütte aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüştürülmektedir [8, 10]. Çiftlik hayvanlarının yeşil yemle beslendiği sıcak mevsimlere kıyasla, hayvan yemiyle beslendiği soğuk mevsimlerde aflatoksin M<sub>1</sub> kontaminasyonunun daha yüksek oranda meydana geldiği belirtilmektedir [14].

#### Direkt Kontaminasyon

Süt ürünlerinin mikotoksinlerle direkt kontaminasyonu, fermentasyon için kullanılan küflerin gelişimi veya istenmeyen küf gelişimi sonucunda olabilmektedir. Peynirde isteyerek geliştirilen küfler Fransız Roquefort ve Camembert peynirlerindeki *Penicillium* türleri gibi peynir starter kültürleridir. Belirli koşullar altında starter kültürlerin toksin üreten suşlarla kontaminasyonu veya çevresel kontaminasyon durumunda ürünlere bulaşan küfler mikotoksin üretebilmektedir. Süt ürünlerinin diğer bir olası kontaminasyonu, iyi üretim uygulamaları çoğunlukla süt ürünlerinin küflenmesini engellemesine rağmen ürünlere kazara küf bulaşmasıdır [4].

Aflatoksin M<sub>1</sub> ile kontamine olmuş süttten peynir yapıldığında, toksin pıhtıya geçebilmektedir [15]. Süt ürünlerinin üretimi sırasında aflatoksin M<sub>1</sub>'in yağda çözünmemesi ve pıhtıda tutulması nedeniyle, aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyi süt ürünü bileşenlerinin özelliklerine, ekstraksiyon tekniğine, işleme yöntemine, süt kontaminasyonunun türüne ve derecesine ve süt kalitesindeki farklılıklara göre değişiklikler göstermektedir [9].

### SÜT VE ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN M<sub>1</sub> DÜZEYİNİN AZALTILMASI

Bazı çalışmalarda ısı işlem sırasında aflatoksin M<sub>1</sub>'de %32'ye varan azalmalar olduğu belirlenirken [16], bazılarıda aflatoksin M<sub>1</sub>'in ısıya dayanıklı olduğu ortaya konmuştur [1]. Ancak genellikle aflatoksinler ısı işlem sırasında stabildir [4]. Aflatoksin M<sub>1</sub> ısı inaktivasyona, pastörizasyona, sterilizasyona, soğukta muhafazaya, dondurmaya, fermentasyona, konsantre etmeye ve kurutmaya karşı dirençlidir [17].

Yapılan bir çalışmada, bentonitlerin inek sütünde bulunan aflatoksin M<sub>1</sub>'i uzaklaştırmada çok etkili olduğu ve yaklaşık 80 ng/L düzeyine kadar kontamine olmuş inek sütlerinin, sütün besin değerinde yalnızca hafif bir değişiklik oluşurmak koşuluyla güvenli düzeylere (yetişkinler için 50 ng/L, süt emen bebekler için 25 ng/L) kadar temizlenebildiği belirlenmiştir [18]. Bir başka çalışmada, aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyini azaltmak amacıyla yoğurta farklı laktik asit bakterileri kullanılmış, depolama periyodunun sonunda aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyindeki en büyük azalma %50 yoğurt kültürü (*S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*) ve %50 *L. plantarum* karışımından oluşan kültürle fermente edilen yoğurta belirlenmiştir [19].

Gıdalarda mikotoksin detoksifikasyon işlemleri gıda güvenliği, besin öğelerinin korunumu ve maliyet açılarından halen yeterli değildir [9]. Aflatoksin M<sub>1</sub>'i tamamen ortadan kaldırmak için, bu ölümcül toksinin detoksifikasyonu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına gereksinim bulunmaktadır. Bu nedenle, bu toksinlerle ilgili sağlık risklerini en düşük seviyeye indirebilmek amacıyla, çoğu ülkeler yasal düzenlemeler getirmişlerdir [20]. Gerek insanlar gerekse hayvanlarda aflatoksinlere maruz kalma riskini azaltmak için günümüzdeki en önemli strateji izleme programlarıdır [21].

### ÇEŞİTLİ SÜT ÜRÜNLERİNDEKİ MİKTARLARI

Unusan [13], Türkiye'nin Orta Anadolu bölgesinden toplanan UHT süt örneklerindeki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemiştir. Toplam 129 adet ticari, tam yağlı UHT süt örneği incelenmiş ve ortalama değer 108.17 ng/L düzeyinde bulunmuştur. 75 süt örneğinin (%58.1) aflatoksin M<sub>1</sub> ile kontamine olduğu, 68 örneğin (%53) Avrupa Birliği'nce izin verilen sınırın altında, kalan 61 örneğin (%47) sınırın üzerinde olduğu saptanmıştır. Dört örnek ABD yasalarının belirlenen sınırı aşmıştır. Gürbay ve ark. [22] Ankara'da tüketilen süt örneklerinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini floresans dedektörlü HPLC sistemiyle belirlemiştir. İncelenen 27 süt örneğinin 24'ü UHT, 3'ü pastörize süt örneğidir. Örneklerin %59.3'ünde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmıştır. Ancak, yalnızca bir örneğin kontaminasyon düzeyi Avrupa Birliği ve Türkiye'de aflatoksin M<sub>1</sub> için kabul edilen maksimum izin verilen sınırın (50 ng/l) üzerinde çıkmıştır. Heshmati ve Milani [23] Tahran, İran'daki süpermarketlerden elde edilen 210 UHT süt örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. Örneklerin 116'sında (%55.2) aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmış, 70 örneğin (%33.3) aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin bazı Avrupa ülkelerince kabul edilen sınırın (0.05 µg/l) üzerinde olduğu, ancak hiçbir örneğin

ABD yasalarınca belirlenen sınırın üzerinde olmadığı ortaya konmuştur. Zheng ve ark. [24] Temmuz ve Eylül 2010'da toplanan 153 UHT süt örneğinde ve Eylül 2010'da toplanan 26 pastörize süt örneğinde aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. UHT süt örneklerinin %54.9'unda 0.006-0.160 µg/L düzeyinde, pastörize süt örneklerinin %96.2'sinde 0.023-0.154 µg/L düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> belirlenmiştir. UHT süt örneklerinin %20.3'ünde, pastörize süt örneklerinin %65.4'ünde aflatoksin M<sub>1</sub> içeriğinin Avrupa Birliği'nin yasal sınırı olan 0.05 µg/L düzeyini geçtiği ortaya konmuştur. Oliveira ve ark. [25] tarafından yapılan bir çalışmada Minas Gerais, Brezilya'da Temmuz-Kasım 2009 ayları arasında 75 ticari UHT süt örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyleri HPLC ile belirlenmiştir. Sonuçlar 23 örnekteki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin (1000-4100 ng/l), Brezilya yasalarınca kabul edilen sınırın üzerinde olduğunu göstermiştir. Silva ve ark. [26] Maringá'da (Paraná eyaleti, Brezilya) ticari olarak mevcut UHT sütlerde aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin mevsimsel değişimlerini belirlemek amacıyla 152 adet UHT tam yağlı inek sütü örneği toplamış ve HPLC ile analiz etmişlerdir. Örneklerin %87.5'inin ortalama 19.6 ng/l düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> ile kontamine olduğu ve %2.6'sının Avrupa Topluluğu'nca belirlenen sınırın (50 ng/l) üzerinde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiği belirlenmiştir. En yüksek muhtemel günlük alım düzeyi (0.07 ng/kg vücut ağırlığı/gün) sonbaharda gözlenmiştir. Farklı mevsimlerde toplanan örneklerde toksin konsantrasyonlarının farklı olduğu, bunun da iklim koşullarının etkisini ortaya koyduğu belirlenmiştir.

Ardıç ve ark. [27] Erzurum'da satışa sunulan 193 adet beyaz peynir örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. Örneklerin %82.4'ünde saptanabilir düzeyde (50 ng/kg) aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmuş, örneklerdeki aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonlarının 52-860 ng/kg arasında değiştiği ortaya konmuştur. Örneklerin %26.4'ünün Türk Gıda Kodeksi'nce belirlenen yasal sınır olan 250 ng/kg düzeyini aştığı gözlenmiştir. Yaroğlu ve ark. [28] Türkiye'nin bazı illerinden toplanan 600 adet peynir örneğinin (200 beyaz peynir, 200 kaşar peyniri, 200 eritme peyniri) aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. En yüksek aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonu kaşar peynirinde (800 ng/kg) saptanmıştır. Örneklerin %5'inde (10'u beyaz peynir, 12'si kaşar peyniri ve 8'i eritme peyniri olmak üzere toplam 30 örnekte) aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmuş, örneklerin %1'inin (6 örnek) aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi'nce belirlenen 250 ng/kg sınırını aştığı belirlenmiştir. Tekinşen ve Tekinşen [29] Van ve Hakkari piyasasından topladıkları 60 Van otlı peyniri ve 50 beyaz peynir örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini belirlemişlerdir. Van otlı peyniri örneklerinin %86.7'sinde, beyaz peynir örneklerinin %62'sinde saptanabilir düzeyde (0.1 µg/kg) aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmuştur. Söz konusu toksinin düzeyi Van otlı peyniri örneklerinde 0.16-7.26 µg/kg, beyaz peynir örneklerinde 0.10-5.20 µg/kg arasında değişmiştir. Van otlı peyniri örneklerinin %80'i, beyaz peynir örneklerinin %40'ı Türkiye'de geçerli olan 0.25 µg aflatoksin M<sub>1</sub>/kg peynir sınırını aşmıştır.

Iqbal ve ark. [20] tarafından yapılan bir çalışmada, Pakistan'ın Pencap eyaletinin merkez bölgelerinden kış ayları boyunca (Kasım 2011-Şubat 2012) 221, yaz ayları boyunca (Mayıs-Ağustos 2012) 212 süt ve süt ürünü numunesi toplanmış ve floresans dedektörü ile donatılmış HPLC sistemi ile aflatoksin M<sub>1</sub> içerikleri belirlenmiştir. Kış sezonuna ait süt ve süt ürünü numunelerinin yaklaşık %45'inin (çiğ sütlerin %40'ı, UHT sütlerin %51'i, yoğurtların %37'si, tereyağlarının %60'ı ve dondurmaların %43'ü) aflatoksin M<sub>1</sub> ile kontamine olduğu ve numunelerin sırasıyla %27, %24, %25, %34 ve %17'sinin önerilen limitin üzerinde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiği belirlenmiştir. Yaz sezonuna ait numunelerin ise %32'sinin (çiğ sütlerin %36'sı, UHT sütlerin %31'i, yoğurtların %29'u, tereyağlarının %40'ı ve dondurmaların %24'ü) kontamine olduğu, numunelerin sırasıyla %23, %23, %18, %20 ve %5'inin izin verilen limitin üzerinde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiği saptanmıştır. Kış sezonuna ait süt ve süt ürünlerinde kontaminasyon düzeylerinin yaz sezonuna ait ürünlerden önemli düzeyde yüksek olduğu ( $\alpha \leq 0.05$ ) ortaya konmuştur. Tekinşen ve Eken [30] tarafından yapılan bir çalışmada İstanbul, İzmir, Konya, Tekirdağ ve Edirne piyasasından toplanan 100 UHT süt ve 132 kaşar peyniri örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. UHT süt örneklerinin %67'sinin 10-630 ng/kg düzeyinde, kaşar peyniri örneklerinin %82.6'sının 50-690 ng/kg düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiği saptanmıştır. UHT süt örneklerinin %31'inin (31 örnek), kaşar peyniri örneklerinin %27.3'ünün (36 örnek) Avrupa Topluluğu ve Türk Gıda Kodeksi'nce belirlenen sınırı aştığı ortaya konmuştur. Tekinşen ve Uçar [31] İstanbul, İzmir, Kayseri, Konya ve Tekirdağ piyasasından elde ettikleri 92 tereyağı ve 100 krem peynir örneğinin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. Tereyağı örneklerinin %100'ünde 10-7000 ng/kg düzeyinde, krem peynir örneklerinin %99'unda 0-4100 ng/kg düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlanmıştır. Tereyağı örneklerinin %28'inin, krem peynir örneklerinin %18'inin aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi'nce belirlenen sınırı aştığı saptanmıştır.

## SONUÇ

Süt ürünlerinde bulunması muhtemel Aflatoksin M<sub>1</sub>'in tamamen ortadan kaldırılması için küf ve doğrudan toksin kontaminasyonun engellenmesi ile ilgili önlemler alınmalıdır. Bu konuda çiftçilerin ve üreticilerin bilgilendirilmesi son derece önemli görülmektedir. Toksinin detoksifikasyonu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına gereksinim bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Iqbal, S.Z., Jinap, S., Pirouz, A.A., Ahmad Faizal, A.R. (2015). Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 46, 110-119.
- [2] Scaglioni, P.T., Becker-Algeri, T., Drunkler, D., Badiale-Furlong, E. (2014). Aflatoxin B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> in milk. *Analytica Chimica Acta*, 82, 68-74.
- [3] Akkaya, L., Birdane, Y.O., Oguz, H., Cemek, M., (2006). Occurrence of aflatoxin M1 in yogurt

- samples from Afyonkarahisar, Turkey. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 50, 517-519.
- [4] Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 984-991.
- [5] Raul, O.M., Valvidia-Flores, A., de Luna-Lopez, M.A.C., Quezada-Tristan, T., Martinez-de Anda, A. (2012). Occurrence of aflatoxin B1 in diets of dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk. *Abstracts/Toxicology Letters*, 211, S43-S216.
- [6] Kocabas, C.N., Sekerel, B.E. (2003). Does systemic exposure to aflatoxin B1 cause allergic sensitization? *Allergy*, 58, 363.
- [7] Khayoon, W.S., Saad, B., Lee, T.P., Salleh, B. (2012). High performance liquid chromatographic determination of aflatoxins in chilli, peanut and rice using silica based monolithic column. *Food Chemistry*, 133, 489-496.
- [8] Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127, 19-28.
- [9] Hassan, H.F., Kassaify, Z. (2014). The risks associated with aflatoxins M1 occurrence in Lebanese dairy products. *Food Control*, 37, 68-72.
- [10] Bakirci, I. (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
- [11] Gurbay, A., Sabuncuoğlu, A., Girgin, G., Sahin, G., Yigit, S., Yurdakok, M., Tekinalp, G. (2010). Exposure of newborns to aflatoxina M1 and B1 from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 314-319.
- [12] Fallah, A.A., Jafari, T., Fallah, A., Rahnama, M. (2009). Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1872-1875.
- [13] Unusan, N. (2006). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1897-1900.
- [14] Decastelli, L., Manco, A., Sezian, A. (2006). Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Control*, 18, 1263-1266.
- [15] Manetta, A.C., Giammarco, M., Di Giuseppe, L., Fusaro, I., Gramenzi, A., Formigoni, A., Vignola, G., Lambertini, L. (2009). Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. *Food Chemistry*, 113, 595-599.
- [16] Kabak, B. (2012). Aflatoxin M1 and ochratoxin A in baby formulae in Turkey: occurrence and safety evaluation. *Food Control*, 26, 182-187.
- [17] Park, D.L. (2002). Effect of processing on aflatoxin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 504, 173-179.
- [18] Carraro, A., Giacomo, A.D., Giannossi, M.L., Medici, L., Muscarella, M., Palazzo, L., Quaranta, V., Summa, V., Tateo, F. (2014). Clay minerals as adsorbents of aflatoxin M1 from contaminated milk and effects on milk quality. *Applied Clay Science*, 88-89, 92-99.
- [19] Elsanhoty, R.M., Salam, S. A., Ramadan, M.F., Badr, F.H. (2014). Detoxification of aflatoxin M1 in yogurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*, 43, 129-134.
- [20] Iqbal, S.Z., Asi, M.R., Jinap, S. (2013). Variation of aflatoxin M1 contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food Control*, 34, 714-718.
- [21] Lopez, C.E., Ramos, L.L., Ramadan, S.S., Bulacio, L.C. (2003). Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, 14, 31-34.
- [22] Gürbay, A., Aydın, S., Girgin, G., Engin, A.B., Şahin, G. (2006). Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control*, 17, 1-4.
- [23] Heshmati, A., Milani, J.M. (2010). Contamination of UHT milk by aflatoxin M1 in Iran. *Food Control*, 21, 19-22.
- [24] Zheng, N., Sun, P., Wang, J.Q., Zhen, Y.P., Han, R.W., Xu, X.M. (2013). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk and pasteurized milk in China market. *Food Control*, 29, 198-201.
- [25] de Oliveira, C.P., Ferreira Soares, N. de F., de Oliveira, T.V., Baffa Júnior, J.C., da Silva, W.A., (2013). Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. *Food Control*, 30, 90-92.
- [26] Silva, M.V., Janeiro, V., Bando, E., Machinski Jr, M. (2015). Occurrence and estimative of aflatoxin M1 intake in UHT cow milk in Paraná State, Brazil. *Food Control*, 53, 222-225.
- [27] Ardic, M., Karakaya, Y., Atasever, M., Adiguzel, G. (2009). Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. *Food Control*, 20, 196-199.
- [28] Yaroglu, T., Oruc, H.H., Tayar, M. (2005). Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control*, 16, 883-885.
- [29] Tekinşen, K.K., Tekinşen, O.C. (2005). Aflatoxin M1 in white pickle and Van otlu (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. *Food Control*, 16, 565-568.
- [30] Tekinşen, K.K., Eken, H.S. (2008). Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3287-3289.
- [31] Tekinşen, K.K., Uçar, G. (2008). Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control*, 19, 27-30.



## Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

**Akademik Gıda** dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com) web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com) e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve

tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

### Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makale yayınlanması için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

### Etik Beyanı

Dergi yayın politikası, makalelerin değerlendirilmesi ve etik hususlar ile ilgili detaylı bilgilere Etik Beyanı kısmından ulaşılabilir.

### Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz,

Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekiyorsa Şekiller) \*.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

## Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

## Kitap

- [2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

## Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

## Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Editörler tarafından belirtilen süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

## Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, [www.academicfoodjournal.com](http://www.academicfoodjournal.com). Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at [ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com).

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

### Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

### Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

### Ethics Statement

Detailed information about journal publication policy, evaluation of manuscripts and ethical issues can be found in the Ethics Statement section.

### Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international

system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

**8.** Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as \*.jpg format.

**9.** References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

**10.** Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

**11.** References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

#### **Article**

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on

physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

#### **Book**

[2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

#### **Book Chapter**

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

#### **Proceedings of the Congress-Symposium**

[4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

**12.** A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office.

**13.** Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

## Etik Beyanı

Akademik GIDA®, gıda bilimi ve teknolojisi alanında orijinal araştırma ve derleme makalelerinin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Dergi üç ayda bir Sidas Medya Ltd. Şti. (Çankaya, İzmir, Türkiye) tarafından yayınlanmaktadır. Derginin genel bilimsel kalitesini iyileştirmek için yayıncı tarafından aşağıdaki yönergeler belirlenmiştir.

### Yayın Politikası

Akademik Gıda dergisine gönderilen tüm makaleler Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları için Davranış Kurallarında ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) belirtilen Genel Kılavuzlara uygun olarak değerlendirilmektedir. Bilimsel yazılar dergiye gönderilmeden önce derginin Yazım Kurallarının okunmasını önemle tavsiye ederiz. Yazarlar aynı zamanda Avrupa Bilim Editörleri Birliği'nin (EASE) ([European Association of Science Editors](#)) İngilizce olarak basılacak makaleler için "Bilimsel Makalelerin Yazarları ve Çevirmenleri İçin Rehber"e uymalıdır. Yazarlar, insan veya hayvan verilerini içeren araştırmaları için Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([International Committee of Medical Journal Editors](#)) önerilerini takip etmelidir.

### Makalelerin Değerlendirilmesi

Dergiye gönderilen tüm makaleler, bilimsel içeriklerinin özgünlüğü ve kalitesi ölçütlerine göre değerlendirilir.

- Dergiye gönderilen tüm yazılar, ilk olarak yayın ofisindeki (teknik ve genel kalite değerlendirilmesi açısından) eleme işleminden geçer ve ardından teknik ve bilimsel editörler tarafından değerlendirilir.
- İlk değerlendirmeden sonra, editörler (i) dergi kapsamı dışında kalan bir konu hakkında hazırlanmış makaleleri (ii) teknik olarak eksik/yetersiz makaleleri, (iii) kısmi ve marjinal artan sonuçları içeren makaleleri veya (iv) kötü yazılmış makaleleri reddetme hakkına sahiptir.
- İlk inceleme sonucunda makalenin ileri değerlendirme için uygun olduğuna karar verilirse, dergide yayımlanmak üzere kaliteli makalelerin seçimini yapmak amacıyla, makaleler çift-körlü (hakemin ve yazar/yazarların birbirlerini görmedikleri) değerlendirme sistemi ile en az iki bağımsız hakemden oluşan bir değerlendirme sürecinde bilimsel incelemeye alınır.
- Hakemler tarafından talep edilirse, makalenin hakem görüşleri doğrultusunda yazarlar tarafından revize edilmiş versiyonu orijinal hakemler tarafından tekrar değerlendirilir. Değerlendirmelerin ardından

editörler hakem önerileri doğrultusunda makale hakkındaki nihai kararlarını verirler. Gerekirse editörler, hakemlerin istedikleri tüm şartların yerine getirilmesi için yazarlardan ilave revizyon isteyebilir.

- Kabul edilen makalelerin son versiyonu, yayın öncesi taslağın (galley proof) hazırlanması için teknik editörlere gönderilir. Yazarlardan, makalelerinin dizgisi hazırlanmış taslaklarını son kontrol için yayın öncesinde incelemeleri istenir.
- Tüm makaleler, nihai formlarında DOI numarası almış ve çevrimiçi olarak pdf dosyaları halinde yayımlanır. İlgili veritabanlarında bu şekilde indekslenir.

### Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makalelerin yayınlanması için herhangi bir yayın ücreti talep edilmemektedir.

### Gizlilik

Editörler, Akademik Gıda'ya gönderilen tüm makaleleri tam bir gizlilikle ele alır. Editörler, hakemler haricinde, COPE tavsiyelerine uyulmadığı takdirde, üçüncü şahıslara makale ile ilgili hiçbir bilgi vermezler. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen makaleler hakemler için de gizlidir ve bilimsel değerlendirme için aldıkları makalelerin herhangi bir bölümünü üçüncü şahıslarla paylaşmalarına veya dağıtmalarına izin verilmez. Suiistimal şüphesi olduğunda, hakemlerin derhal gizli bir şekilde yayın ofisine başvurmaları önerilir. Hakemler ayrıca, Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kuralları ile Dergi Yayıncıları için Davranış Kuralları'nı ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederek editöre gizli yorumlarında belirli bir eylem önerebilirler.

Akademik Gıda, çift-kör bir hakem inceleme süreci yürütür, yani çalışmanın eleştirel değerlendirmesini sağlamak için hakemlerin isimleri gizlidir. Hakemlerden, raporlarında adlarını veya irtibat bilgilerini açıklamamaları istenir. Hakem raporları yazarlara gönderilemeden önce bu açıdan kontrol edilir.

### Yazarlık

Bir yazar, bir araştırmanın fikrine veya tasarımına, verilerin elde edilmesine, verilerin analizine veya yorumlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan, makalenin hazırlanmasında, yazılmasında veya gözden geçirilmesinde entelektüel içeriğe eleştirel katkı yapan bireydir. Katkıda bulunanlar diğer kişiler makalenin Teşekkür bölümünde belirtilmelidir ve çalışmanın yazarı olarak kabul edilemez. Tüm yazarların doğru ve tam isimleri ile ORCID kimlikleri dergiye gönderilen

makalenin başlık sayfasında yer almalıdır. Yazarların isimlerinin yanında çalıştıkları kurumlar ve yazışmalardan sorumlu yazarın geçerli bir adresi verilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazarın telefon ve faks numaraları ile e-posta adresi makalenin ilk sayfasında belirtilmelidir. Tüm yazarlar, gönderilen makalenin daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını ve makale hakkında Akademik Gıda dergisi nihai bir karar vermeden önce makaleyi başka bir dergiye göndermeyeceklerini garanti etmelidir.

### Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

Araştırmanın tüm finans kaynaklarına ilişkin detaylar, Teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar, resmi finansman kurum/larının tam isimlerini ve proje/hibe numaralarını belirtmelidir.

### Yazarlarda Değişiklik

Makalenin Akademik Gıda'ya sunulmasından sonra yazar isimlerinde değişiklik ancak revizyon sırasında gerekli olan ek çalışmalar durumunda olabilir. Makalenin yayına kabul edilmesinden sonra herhangi bir değişikliğe izin verilmez. Yazarlıktaki değişiklik, hakem görüşlerine verilen cevaplar sırasında yazışmalarda belirtilmeli ve tüm yazarlar tarafından kabul edilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazar, yazarların sırası da dahil olmak üzere makalenin revize edilmiş versiyonundaki değişikliklerden sorumludur.

### Çalışma Verilerinde Düzeltme

Yayınlanan verilerin doğruluğundan tüm yazarlar sorumlu olmalıdır. Verilerin düzeltilmesi için, yazışmalardan sorumlu yazardan yayın öncesi taslağı (galley proof) incelemesi ve makalenin yayınlanmasından 4 gün önce dikkatlice düzeltilmesi istenir.

### Makalenin Geri Çekilmesi

Bir makalenin geri çekilmesi, gönderim veya yayın hatalarını düzeltmek için kullanılır. Yazarlar makaleyi geri çekebilir ve bu durumda Yayın Etiği Komitesi (COPE) Geri Çekme Kurallarına [(COPE) retraction guidelines] uymalıdır. Tekrarlanan veya benzerlik oranı yüksek bir yayın, verilerin hileli kullanımını, intihal veya etik dışı araştırma yapılması durumunda, makale editör tarafından geri çekilecek ve geri çekilen makale linklerine bağlantı korunacak ancak elektronik veri tabanına (makale sayfasına) bir geri çekme bildirimi eklenecektir.

### Etik Hususlar

#### Çıkar çatışması:

- Yazar/lar başvuru sırasında herhangi bir çıkar çatışması varsa beyan etmelidir. Yazar/ların başvuru sırasında bilimsel değerlendirme için en az üç potansiyel hakem önermeleri istenir. Önerilen hakemler çalışma arkadaşları, ortak çalıştıkları kişiler veya çalıştıkları kurumların üyeleri olamazlar.
- Hakemler makaleyi değerlendirmelerini önleyen herhangi bir çıkar çatışması olması durumunda

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

- Editörler Kurulu üyeleri veya kurul üyelerinin ortak çalıştıkları kişiler tarafından dergiye gönderilen makaleler için, değerlendirme sırasındaki önyargıları en aza indirmek amacıyla, değerlendirme süreci ilgili kurul üyelerini dışarıda tutacak şekilde değiştirilerek uygulanır.
- Düzeltmeler (revizyonlar) sırasında, editörler Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzu ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip ederler.

### İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

- Araştırmanın insan denekleri veya hayvanları içermesi durumunda, yazarların Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin (the International Committee of Medical Journal Editors) yönergelerini izlemeleri önerilir.
- İnsan denekleri içeren çalışmalarda, deneklerin çalışmaya katılmak için imzaladıkları onamlar yazarlar tarafından sağlanmalıdır. 18 yaşın altındaki deneklerin çalışmaya katılmaları için ebeveyn veya velileri tarafından izin verilmelidir.
- Test edilen tüm denekler için, makalenin, ilgili kurallara ve/veya uygun izinlere veya lisanslara uyumunu gösteren belgelerin sunulması gerekir.
- Hayvanlar üzerinde yapılacak her türlü araştırma kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalı ve etik kurul tarafından onaylanmalıdır.
- Bitki materyallerinin toplanması dahil, bitkiler üzerinde yapılan deneysel araştırmalar, kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalıdır.
- Saha çalışmaları yerel mevzuata uygun olarak yapılmalı ve uygun izinleri ve/veya lisansları belirten bir açıklama makalede yer almalıdır.

### Yayın suistimali

- Akademik Gıda dergisi, Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını (Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers) takip eder.
- Makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi, intihal, yayınlanmış makalenin yeniden yayınlanması, etik kuralların ihlali vb. şüpheli bir suistimal durumunda, araştırmacılar, hakemler veya okuyucular Yayın Ofisi (ogursoy@yahoo.com) ile iletişime geçmeye teşvik edilir.
- Makaledeki benzerlik oranı tek bir kaynaktan %10'dan fazla olmamak üzere en fazla %25 ile sınırlandırılmıştır. Bu koşula uymayan makaleler reddedilir. Bu şartların ihlal edilmesi durumunda, COPE (COPE recommendations) tavsiyeleri izlenecek ve ilgili tüm taraflara bildirilecektir.

## Telif Hakkı

Akademik Gıda, yayınlanan bütün makalelere orijinal eserin uygun şekilde belirtilmesi ve ticari amaçlarla kullanılmaması şartıyla, herhangi bir ortamda kullanılmasına, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin veren "Creative Commons Attribution 4.0 CC BY-NC" lisansını ([Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)) tüm yayınlanmış makalelere uygular. Yayınlanmadan önce, Telif Hakkı Devir Formu yazışmalardan sorumlu yazar tarafından imzalanmalı ve derginin yayın ofisine gönderilmelidir. Yayınlanan yazıların telif hakkı Sidas Medya Limited Şirketi'ne (Çankaya, İzmir) aittir. Yazarlar, yayınladıkları makaleleri serbestçe ve ticari olmayan amaçlarla, bütünlüğü korunduğu ve yazarları, alıntı detaylarını ve yayıncıları açıkça belirtildiği sürece kullanma hakkına

sahiptir. Bireysel kullanıcılar, yazarların fikri ve ahlaki haklarının, saygınlığının ve bütünlüğünün tehlikeye atılmaması şartıyla, Akademik Gıda'da yayınlanan yazılara erişebilir, indirebilir, kopyalayabilir, görüntüleyebilir ve uyarlayabilir. Kullanıcılar herhangi bir yeniden kullanım, sahiplerin telif hakkı politikalarına uygun olmasını sağlamalıdır. Yayınlanan yazıların içeriği, ticari olmayan araştırma ve eğitim amaçlı kopyalanır, indirilir veya başka bir şekilde yeniden kullanılırsa, uygun şekilde bir atıf yapılmalı ve ilgili makaleye bir link [yazarlar, dergi unvanı, el yazması adı, cilt, yıl ve sayfa numaraları ve yayınlanan link] Derginin web sitesinde sürüm] sağlanmalıdır. Telif hakkı bildirimleri ve feragatnameler silinmemelidir.

## Ethics and Publication Malpractice Statement

Akademik GIDA® is a peer-reviewed journal where original research and review articles are published quarterly by Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey) in the field of food science and technology. In order to improve the overall scientific quality of the journal, following guidelines have been established by the publisher.

### Editorial Policy

General Guidelines stated in the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#) are followed by all papers submitted to Academic GIDA. Prior to submission, authors are highly recommended to read the [Journal's Instructions to Authors](#). Authors should also follow the [European Association of Science Editors \(EASE\) Guidelines for Authors and Translators of Scientific Articles to be Published in English](#). For any research involving human or animal data, the recommendations of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) should be followed by the authors of the manuscripts.

### Peer Review

All contributions are evaluated according to the criteria of originality and quality of their scientific content.

- All manuscripts pass through an initial screening process (technical and overall quality evaluation) in the editorial office followed by an internal review by the technical and scientific editors.
- After the first evaluation, editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.
- If the manuscript is considered suitable for further evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication.
- If requested, the revised version is evaluated by the reviewers, and editors make a decision about final acceptance based on their suggestions. If necessary, further revision can be asked for to fulfil all the requirements of the reviewers.
- The final version is then sent to the technical editor in order to produce a galley proof, and the authors receive this proof for final check before publishing.
- All manuscripts are posted online as pdf files in their final form, indexed in databases with the assigned DOI numbers.

### Publication Fee

Akademik GIDA welcomes article submissions and does not charge any publication fee.

### Confidentiality

Editors handle all papers submitted to Akademik GIDA in strict confidence. With the exception of reviewers, they do not disclose any information regarding submissions to third parties, unless in case of a suspected misconduct, where COPE recommendations are followed. Submissions are also confidential for reviewers and they are not allowed to share or distribute any part of the manuscripts which they receive for evaluation to third parties. For a case of suspected misconduct, reviewers are encouraged to contact the editorial office immediately in a confidential manner. Reviewers can also recommend a particular course of action in their confidential comments to the editor, following [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

### Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

### Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide



the full official funding agency name(s) and grant number(s).

### **Alteration in Authorship**

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

### **Correction of Data**

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

### **Retraction of an Article**

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

### **Ethical Considerations**

#### ***Conflict of interest:***

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

#### ***Research involving human subjects, animals or plants:***

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

#### ***Publication misconduct:***

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office ([ogursoy@yahoo.com](mailto:ogursoy@yahoo.com)).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

### **Copyright**

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page

numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

---

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR  
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: [sidasmedya@gmail.com](mailto:sidasmedya@gmail.com)

**SIDAS MEDYA**