

# GIDA

*THE JOURNAL OF FOOD*



E-ISSN 1309 - 6273, ISSN 1300 - 3070

CİLT / VOLUME : 45

SAYI / NUMBER : 5

YIL / YEAR : 2020

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ YAYINI**

*PUBLISHED BY THE ASSOCIATION OF  
FOOD TECHNOLOGY IN TURKEY*

**Sahibi / Owner**

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

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN

Yönetim Kurulu Başkanı / President of the Association

<b>Baş Editör/ Editor-in Chief</b>	<b>Danışma Kurulu / Advisory Board</b>
ERİNÇ. Hakan; Niğde Ömer Halisdemir University, Turkey	Akköse, Ahmet; Atatürk University, Turkey Ank, Gökşen G.; Balıkesir University, Turkey Atalar, İlyas; Bolu Abant İzzet Baysal University, Turkey Baysal, A. Handan; İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Turkey Bezirtzoğlu, Eugenia; Democritus University of Thrace, Greece Bozkır, Hamza; Sakarya Uygulamalı Bilimler University, Turkey Çilak, Gizem Ö.; Hitit University, Turkey Draughon, Ann Tennessee University, USA El Soda, Morsi University of Alexandria, Egypt Erbay, Zafer; Adana Bilim ve Teknik University, Turkey Evren, Mustafa; Ondokuz Mayıs University, Turkey Fogliano, Vincenzo University of Napoli Federico II, Italy Gerçekaslan, K. Emre; Neşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey Ghosh, Bikash C. National Dairy Research Institute, India Gollop, Natan The Volcani Center, ARO, Israel Griffiths, Mansel University of Guelph, Canada Güneşer, Onur; Uşak University, Turkey Güven, Esra Ç.; İstanbul Teknik University, Turkey Ho, Chi-Tang The State University of New Jersey, USA Hoşoğlu, Müge I.; Gebze Teknik University, Turkey Hüner, İrem D.; Trakya University, Turkey Kahraman, Kevser; Abdullah Gül University, Turkey Karaca, Hakan; Pamukkale University, Turkey Koçan, Deniz; Aksaray University, Turkey Konuskan, Dilşat B.; Mustafa Kemal University, Turkey Kuleşan, Hakan; Süleyman Demirel University, Turkey Meral, Raciye; Yüzüncü Yıl University, Turkey Mete, Aylin A.; Mersin University, Turkey Morales, Francisco J. CSIC Instituto del Fr o, Spain Muştaba, Mustafa G. Florida Gulf Coast University, USA Mutlu, Türkan K.; Çukurova University, Turkey Öztürk, Fatma; Kâtip Çelebi University, Turkey Paalme, Toomas Tallinn University of Technology, Estonia Parlar, Harun Technical University of Munich, Germany Raspor, Peter University of Primorska, Slovenia Rezessy-Szabo, Judit M. Corvinus University of Budapest, Hungary Sanı, Ferda; Cumburiyet University, Turkey Şengün, İlkin Y.; Ege University, Turkey Soyer, Yeşim; Orta Doğu Teknik University, Turkey Toğay, Sine Ö.; Bursa Uludağ University, Turkey Toker, Ömer S.; Yıldız Teknik University, Turkey Velioglu, Murat; Namık Kemal University, Turkey Yemiş, Gökçe P.; Sakarya University, Turkey Yolaçaner, Elif; Hacettepe University, Turkey Yorulmaz, Aslı; Adnan Menderes University, Turkey Zorba, Murat; Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey
<b>Editörler / Editors</b> AVCI, Ayşe; Sakarya University, Turkey DEMİROK SONCU, Eda; Ankara University, Turkey EYİLER, Esen; Akdeniz University, Turkey ÖZDEN, Özkan; İstanbul University, Turkey	
<b>Yönetim Yeri</b> <b>Adres / Address</b> Büyükelçi Sokak No: 18/1 Kavaklıdere/Ankara Turkey	
<b>Tel:</b> (+90) 0534 968 5994 • <b>Faks:</b> (+90) 312 317 8711 <b>E-posta / E-mail:</b> dergi@gidadernegi.org <b>URL:</b> http://www.gidadernegi.org	
<b>Yayın Türü:</b> Yaygın süreli ve hakemli	
<b>Hazırlayan / Prepared</b> Sim Ajans 58. Sokak No: 20/1 Bahçelievler / Ankara Tel : (+90) 312 925 25 95 e-mail: simajans@simajans.com	
<b>Yayın Tarihi / Publication Date</b> 15 10 2020	

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

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

# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Gültekin-Özgülven, M., Berktas, I., Gönül, Ö., Beraat Özçelik, B. *Development of dark chocolate enriched with matcha green tea (Camellia sinensis) / Maça yeşil çayı ile zenginleştirilmiş bitter çikolata geliştirilmesi* ..... **850-860**
- Aktop, S., Aslan Canber, H., Şentürk, E., Şanlıbaba, P. *Antibacterial activity of different essential oils on Listeria monocytogenes strains isolated from ready-to-eat foods / Çeşitli uçucu yağların tüketime hazır gıdalardan izole edilen Listeria monocytogenes suşları üzerindeki antibakteriyel aktivitesi* ..... **861-871**
- Saimati, M., Gençcelep, H. *Preventing of packaging exudation in Frankfurter sausages by using modified potato starch / Modifiye patates nişastası kullanılarak üretilen Frankfurter sosislerde ambalaja sızıntının önlenmesi* ..... **894-906**
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. *Determination extraction conditions for maximum phenolic compounds in the kiwifruit using response surface design / Yanıt yüzey tasarımı kullanılarak kivi meyvesindeki maksimum fenolik bileşikler için ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi* ..... **989-996**
- Eyiz, V., Tontul, İ., Türker, S. *Edible coating of cereal bars using different biopolymers: Effect on physical and chemical properties during storage / Tahıl barlarının farklı biyopolimerler ile yenilebilir kaplanması: Depolama süresince fiziksel ve kimyasal özellikler üzerine etkisi* ..... **1019-1029**

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Vatansever, M., Tığa, B. H., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. *Farklı oranlarda mercimek unu ve patates nişastası içeren karışımların ekstrüde çabuk erişte üretiminde kullanımının incelenmesi / Investigation of the use of lentil flour and potato starch blends in the production of extruded instant noodles* ..... **837-849**
- Uzundağ, D., Arslan, S., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. *Beyaz peynirden izole edilen Cryptococcus humicola suşlarının starter aktivitelerinin araştırılması / Investigation of starter activity of the yeast species Cryptococcus humicola isolated from white cheese* ..... **872-880**
- Çelik, İ., Pozan, K. *Kavun çekirdeği tozunun eriştenin bazı özelliklerine etkisi / The effect of melon seed powder on some properties of noodle* ..... **907-916**
- Bozkır, H. *Mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile patatesin haşlanması ve kalite özelliklerinin belirlenmesi / Blanching of potato using microwave and thermosonication blanching methods and determination of quality characteristics* ..... **917-928**
- Çolak, S., Çolak, S., Dağlı, F., Çömlekçioğlu, N., Kocabaş, Y. Z., Aygan, A. *Achillea aleppica subsp. aleppica'nın farklı organlarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi ve bazı fitokimyasal özellikleri / Antimicrobial activity and some phytochemical properties of extracts from Achillea aleppica subsp. Aleppica* ..... **929-941**
- Kara, S., Köse, Ş. *Geleneksel yöntemle üretilen otlu peynirlerin bazı kalite özelliklerinin ve biyoaktivitesinin belirlenmesi / Determination of some quality parameters and bioactivity of herby cheese produced by traditional method* ..... **942-953**
- Yücel Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. *Haşhaş (Papaver somniferum) çeşitlerinin tohum yağlarının yağ asidi kompozisyonu, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri / Fatty acid composition, total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of varieties of poppy (Papaver somniferum) seed oils* ..... **954-962**
- Altınkaynak, T., Tuncer, Y. *Fermente sucuktan izole edilen antilisterial Enterococcus mundtii YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu / Characterization of bacteriocin produced by antilisterial Enterococcus mundtii YB6.30 isolated from fermented sucuk* ..... **963-976**
- İnce, C., Çağrıncı Ö. *Beyaz ve tam buğday unlu ekmeğe eklenen beyaz dut (Morus alba) yaprak ve posasının antioksidan ve antidiyabetik aktivite üzerine etkisi / Effect of white mulberry (Morus alba) leaves and pulp on the antioxidant and antidiabetic activity of white and whole wheat bread* ..... **977-988**
- Güney, A., Alaşalvar, H., Erinç, H. *Margarin formülasyonunda konjüge linoleik asit kullanımının depolama stabilitesi üzerine etkisi / The effect of conjugated linoleic acid addition on the storage stability of margarine* ..... **997-1008**

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Çil, O., Erdem, F., Aday, M. S. *Nar (Punica granatum): Sağlığa yararı, ekonomik değeri ve hasat sonrası muhafaza metodları / Pomegranate (Punica granatum): Health benefits, economic value and postharvest preservation methods* ..... **881-893**
- Muslu, M. *Sağlığın geliştirilmesi ve sürdürülebilir beslenme için alternatif bir kaynak: Yenilebilir böcekler / An alternative source for improvement of health and sustainable nutrition: Edible insects* ..... **1009-1018**
- Bayram, H. M., Öztürkcan, S. A. *Gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisi / Effects of food additives on microbiota* ..... **1030-1046**

## DEVELOPMENT OF DARK CHOCOLATE ENRICHED WITH MATCHA GREEN TEA (*CAMELLIA SINENSIS*)

Mine Gültekin-Özgülven<sup>1\*</sup>, Ijlal Berktaş<sup>1</sup>, Özlem Gönül<sup>2</sup>, Beraat Özçelik<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Istanbul Technical University, Maslak, Istanbul, Turkey

<sup>2</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary, Istanbul University, Avcılar, Istanbul, Turkey

<sup>3</sup>BIOACTIVE Research & Innovation Food Manufac. Indust. Trade Ltd., Katar Street, Teknokent ARI-3, B110, Sarıyer, Istanbul, Turkey

Received/ Geliş: 25.02.2020; Accepted/ Kabul: 20.07.2020; Published online/ Online baskı: 15.08.2020

Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, I., Gönül, Ö., Özçelik, B. (2020). Development of dark chocolate enriched with matcha green tea (*Camellia sinensis*). *GIDA* (2020) 45(5) 850-860 doi: 10.15237/gida.GD20034

Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, I., Gönül, Ö., Özçelik, B. (2020). Maça yeşil çayı ile zenginleştirilmiş bitter çikolata geliştirilmesi. *GIDA* (2020) 45(5) 850-860 doi: 10.15237/gida.GD20034

### ABSTRACT

One of the most consumed and popular food product among consumers across the globe is chocolate and consumers are becoming evermore demanding of their chocolate all over the world. The aim of this study was to design a dark chocolate enriched with matcha green tea (2%, 3%, 4%) to enhance its antioxidant activity. The most suitable matcha addition step (mixing, refining, conching, tempering) during chocolate production process was investigated by using total phenolics and flavonoids, and antioxidant activity (ORAC and DPPH assays) since phenolics may be destructed during the production process. As expected, increase in matcha percentage in chocolate formulation resulted in an increase of phenolics and antioxidant activity. However, addition of more than 3% matcha to the chocolate formulation reduced consumer acceptability.

**Keywords:** Dark chocolate; matcha green tea; total polyphenols; antioxidant activity; sensory evaluation

## MAÇA YEŞİL ÇAYI İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BİTTER ÇİKOLATA GELİŞTİRİLMESİ

### ÖZ

Dünya genelinde tüketiciler arasında en çok popüler olarak tüketilen gıda ürünlerinden biri çikolatadır ve tüketicilerin çikolatadan beklentileri giderek artmaktadır. Bu çalışmanın amacı, antioksidan aktivitesini arttırmak için maça yeşil çayı (%2, %3, %4) ile zenginleştirilmiş bir bitter çikolata tasarlamaktır. Fenoliklerin üretim işlemi sırasında tahrip olabileceğinden dolayı çikolata üretim prosesi sırasında en uygun maça çayı ekleme aşaması (karıştırma, inceltme, konçlama veya temperleme), toplam fenolikler ve flavonoidler ve antioksidan aktivite (ORAC ve DPPH yöntemleri ile) kullanılarak araştırılmıştır. Beklenildiği gibi formülasyonda bulunan maça çayı yüzdesindeki artış, fenolik içeriğin ve antioksidan aktivitenin artmasına neden olmuştur. Ancak, % 3'ten fazla maça ilavesi tüketici beğenilirliğini ve kabul edilebilirliğini azaltmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Bitter çikolata; maça yeşil çay; toplam polifenol; antioksidan aktivite; duyu analizi

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉: gultekinmi@itu.edu.tr

☎ +90 212 285 7319

☎ +90 212 285 7333

Mine Gültekin-Özgülven ORCID ID: 0000-0002-2073-8075

Ijlal Berktaş ORCID ID: 0000-0001-9836-5881

Özlem Gönül ORCID ID: 0000-0002-4669-607X

Beraat Özçelik ORCID ID: 0000-0002-1810-8154



## INTRODUCTION

Chocolate is a popular and widely consumed product around the world. The main ingredients in chocolate are cocoa liquor, sugar and other sweeteners, cocoa butter, milk products, flavours and emulsifiers (Tanabe and Hofberger, 2005). Chocolate processing steps consist of mixing, refining, conching and tempering. The main ingredients are blended in mixing step. Then, particle size of the mass is reduced and smooth texture is obtained in refining step (Tanabe and Hofberger, 2005). In conching step, different time and temperature treatments are applied until all ingredients are homogeneously dispersed in the continuous fat phase. Consequently, crystallization of triacylglycerols in cocoa butter is provided by shearing chocolate mass at controlled temperatures in tempering step where small stable cocoa butter crystals are occurred. As the final product, chocolate has a glossy appearance, a good texture and bloom resistance (Tanabe and Hofberger, 2005; Afoakwa et al., 2008).

The cocoa (*Theobroma cacao*), raw material of cocoa liquor and cocoa butter, presents a potentially rich dietary source of flavonoids such as flavanol monomers (-)-epicatechin (EC) and (+)-catechin (C), and oligomers of these monomeric base units, which are known as the procyanidins (Andres-Lacueva et al., 2008; Mathur et al., 2002; Mursu et al., 2004). Polyphenols have gained much attention due to their possible benefits in human health such as protective effects against cardiovascular diseases, cancers and other age-related diseases arising from antioxidant activities of these compounds (Nishitani and Sagesaka, 2004; Wollgast and Anklam, 2000). However, processing parameters such as degree of alkalization treatment, temperature and time affect the flavonoid content of chocolates. Whereas, significant amounts of flavonoids can be remained in chocolate by applying appropriate processing conditions (Aachary et al., 2012). Still, consumers are becoming evermore demanding of their chocolate all over the world. Therefore, manufacturers are willing to produce value-added chocolates. For this reason, organic chocolate, chocolate containing cocoa (70%, 85%, 90%), probiotic chocolate, prebiotic chocolate, sugar-

free chocolate, etc (Özgülven, 2014) have been produced until now. In the concept of enhancing flavonoids of chocolate, dark and white chocolates enriched with matcha tea are commercially available now in the international markets. Matcha tea is finely milled or fine powdered form of green tea (*Camellia sinensis*). Unlike green tea, matcha is grown avoiding direct sunlight since sunlight affects the composition and amount of catechins in the tea leaves (Weiss and Anderton, 2003). After harvesting, leaves are chopped, rolled and heated to inactivate polyphenol oxidase enzyme. Hence, significant amount of catechins in green tea is preserved (Komes et al., 2010). The major phenolics present in tea leaves are flavan-3-ols (catechins), which compose to 30% of their dry weight (Rusak et al., 2008). The important naturally occurring catechins in tea leaves are (-)-epigallocatechingallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechingallate (ECG), (-)-epicatechin (EC), (+)-gallocatechin (GC) and (+)-catechin (C) (Manian et al., 2008, Nishitani & Sagesaka, 2004). Although catechins are dominant phenolic compounds, tea leaves also contain up to 4% various flavonols and a trace of flavones (Rusak et al., 2008).

In this study, by combining dark chocolate and matcha (2%, 3% and 4%), a chocolate presenting high phenolic content, was developed. The aims of this study were to determine the most suitable chocolate production step (mixing, refining, conching and tempering) for matcha addition, to investigate the effect of chocolate production steps on phenolics and antioxidant activity, and to optimize a recipe for consumer acceptance due to possible astringent flavor of tea. This study has a great potential to serve as the model for a new product development as a dark chocolate enriched with high polyphenol content.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Folin-Ciocalteu phenol reagent, Catechin, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azobis [2-methylpropionamide], dihydrochloride (AAPH) and fluorescein were

purchased from Sigma-Aldrich Chemical (St. Louis, MO). Matcha was obtained from Aiya Inc., America. Chocolate samples were produced by Pelit Cikolata ve Gıda Sanayi Inc., Turkey.

### Production of dark chocolates with and without matcha

The recipe of bitter chocolate consisting of cocoa liquor, refined sugar, cocoa butter, soy lecithin, vanillin and matcha tea is given in Table 1. Matcha (2%, 3% and 4%) was added by replacing refined sugar instead of cocoa components in the formulation in order to prevent decreasing phenolic content that comes from cocoa. First, matcha (2%) was added in the formulation in different production steps (mixing, refining, conching and tempering) to determine the least destructive step on phenolics without disrupting

textural properties of the chocolate product. Then, chocolate samples containing 2%, 3%, 4% matcha and control chocolate samples without matcha were produced. 5 kg sample batches were produced for each run. Ingredients were mixed in a Mixer (Model UMC-5, Stephan Machinery GmbH, Hameln, Germany) and refined to  $18\pm 2$  micron particle size using a 3-roll mill refiner (Bühler SDY-200, Wohl Associates, Inc, Bohemia, Czech Republic). After conching in a Conche (Bühler, Richard Frisse GmbH ELK-02, Bad Salzflun, Germany) at  $77\pm 3$  °C for 12 hours, tempering was performed using a laboratory scale mini-temperer (Model TOP, Selmi srl, Via Statale, Santa Vittoria d'Alba, Italy). Tempered chocolate was then moulded and cooled in a cooling tunnel (Model TUN, Selmi srl, Via Statale, Santa Vittoria d'Alba, Italy).

Table 1. Recipe of bitter chocolate samples

Ingredients	Control chocolate	Chocolate containing 2% matcha	Chocolate containing 3% matcha	Chocolate containing 4% matcha
Cocoa liquor (%)	58.90	58.90	58.90	58.90
Refined sugar (%)	29.60	27.60	26.60	25.60
Cocoa butter (%)	11.10	11.10	11.10	11.10
Soy lecithin (%)	0.39	0.39	0.39	0.39
Vanillin (%)	0.01	0.01	0.01	0.01
Matcha tea (%)	0	2	3	4

### Extraction of phenolic compounds

The extraction of phenolic compounds was performed according to the method described by Gültekin-Özgüven et al. (2016). The lipid phase was removed from 10 g of the ground chocolates by extracting three times with 45 ml of hexane. Defatted sample of 1.0 g was extracted with 10 ml of 80% methanol in water for 10 minutes at 30°C in the ultrasonic bath (USC900TH, VWR ultrasonic cleaner, Radnor, PA, USA). The extracts of the samples were obtained after centrifugation at 4000 rpm for 10 min at 4°C.

### Determination of total phenolics

The amount of total phenolics (TP) in the matcha and chocolate extracts was determined using the Folin–Ciocalteu method described by Wollgast (2004). 300 µl of diluted extracts were mixed with 1.5 ml of 10-fold-diluted Folin–Ciocalteu reagent

and 1.2 ml of 7.5 g/100g of sodium carbonate. The mixture was allowed to stand for 30 minutes at room temperature before the absorbance was measured at 765 nm. Results were expressed as mg catechin equivalents (CE) per g defatted chocolate. Samples were analyzed in triplicate.

### Determination of total flavonoids

Determination of flavonoids in the matcha and chocolate extracts was performed according to the colorimetric assay of Lee et al. (2003). 1 ml of diluted extracts were mixed with 300 µl of NaNO<sub>2</sub> (5%). Then at 5<sup>th</sup> min, 300 µl of AlCl<sub>3</sub> (10%) and at 6<sup>th</sup> min, 1 ml of 1 mol/L NaOH were added. After addition of 2.4 ml of water, the absorbance of the mixtures were determined at 510 nm. Results were expressed as mg CE per g defatted chocolate sample. Samples were analyzed in triplicate.

**Determination of phenolic profile of matcha**

Phenolic profile of matcha was determined using HPLC according to the method described by Dragović-Uzelac et al. (2005). The liquid chromatographic system consisted of a Waters 2695 Separation module and Waters 2996 PDA detector fitted with a Waters Supelcosil C18 column (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4.6 mm i.d.). The injection system with 20  $\mu\text{l}$  sample loop was used. Detection was done at wavelength of 280 nm (210-360 nm). Elution was carried out at a flow rate of 1 mL/min under a linear gradient of 3% acetic acid in water (solvent A) and 3% acetic acid:25% acetonitrile:72% H<sub>2</sub>O (solvent B) from 100% A to 30% A in 40 min and then to 20% A in 45 min, to 15% A in 55 min, to 10% A in 57 min, finally 10% A in 57-75 min. Fine matcha powder was extracted using 80% methanol in water in an ultrasonic bath at 30°C for 10 min and 20  $\mu\text{l}$  of the extract was injected into the HPLC. Individual phenolic compounds were identified and quantified using curves of phenolic standards. Results were expressed as mg per g tea sample.

**DPPH radical scavenging activity assay**

DPPH assay described by Brand-Williams et al. (1995) was slightly modified and employed in this study (Sanchez-Moreno et al., 1998). The extract stock solutions were diluted with water at different ratios changing between 1/20 and 1/50. Then, an aliquot of chocolate extracts (0.1 ml) for each dilution was added to 2.9 ml of  $6 \times 10^{-5}$  M of methanol solutions of DPPH. The reaction was allowed to take place in the dark at room temperature for 30 minutes. The absorbance values were measured at 517 nm. The percentage of remaining DPPH (DPPH<sub>R</sub>%) was calculated by using the equation (1).

$$\text{DPPH}_R\% = [(\text{DPPH}_T)/\text{DPPH}_{T=0}] \times 100 \quad (\text{Equation 1})$$

where DPPH<sub>T=0</sub> is the concentration of the DPPH solution at the time of zero and DPPH<sub>T</sub> is the concentration of the DPPH after 30 min. The percentage of remaining DPPH against the sample concentration was plotted to calculate the EC<sub>50</sub> values (the amount of antioxidant necessary to decrease by 50% the initial DPPH

concentration). Samples were analyzed in triplicate.

**Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay**

The ORAC assay was performed according to method described by Huang et al. (2002). AAPH (153 mmol/L) and fluorescein stock solutions ( $4 \times 10^{-3}$  mmol/L) were prepared with 75 mmol/L phosphate buffer (pH 7.4). Fluorescein working solution ( $8.16 \times 10^{-5}$  mmol/L) was made by diluting stock solution with 75 mmol/L phosphate buffer (pH 7.4). 25  $\mu\text{l}$  of diluted chocolate extracts were mixed with 150  $\mu\text{l}$  of fluorescein working solution in wells. 75 mM phosphate buffer was used as a blank. Then, the plates were allowed to equilibrate by incubating for 15 minutes in the Synergy™ HT Multi-Detection Microplate Reader (BioTek Instruments, Winooski, VT) at 37°C. Reactions were initiated by the addition of 25  $\mu\text{l}$  of AAPH solution. The fluorescence was then monitored kinetically for 3 hours with data taken every minute. ORAC values were calculated according to Cao and Prior (1999). The area under curve (AUC) of the samples were determined using equations 2 and 3 respectively.

$$\text{AUC} = 0.5 + f_1/f_0 + \dots + f_i/f_0 + \dots + f_{34}/f_0 + 0.5(f_{35}/f_0) \quad (\text{Equation 2})$$

where f<sub>0</sub>: initial fluorescence reading at 0 min and f<sub>i</sub>: fluorescence reading at time i.

$$\text{Net AUC} = \text{AUC}_{\text{sample}} - \text{AUC}_{\text{blank}} \quad (\text{Equation 3})$$

The regression equation between net AUC and Trolox concentration was determined. ORAC values were expressed as  $\mu\text{mol}$  Trolox equivalents (TE)/g sample using the prepared standard curve. Samples were analyzed in triplicate.

**Sensory Evaluation**

Sensory attributes of dark chocolate with matcha and control without matcha were evaluated to determine bitter taste, mouthfeel, melting, brittleness, and acceptable matcha taste using a 5-point hedonic scale (1=dislike extremely,

3=moderate, 5=like extremely) by 25 panelists selected from post-graduate students and staff of the Food Engineering Department of Istanbul Technical University. Selected panelists were trained in 3 different sessions to carry out sensory analysis. They worked under the direction of the panel leader to develop the glossary of terms and their definitions and scores for references. In sensory analysis, the samples were served monadically, and the serving order of the samples was randomized. Sensory tests were carried out in individual air-conditioned booths. Crackers and taste-free water were provided for palate cleansing.

### Statistical Analysis

All analyses were repeated at least three times using triplicate samples for each chocolate sample. The data are presented as mean  $\pm$  standard deviation. The significance ( $p < 0.05$ ) of the differences between the means was determined using one-way analysis of variance (ANOVA) with Duncan's post-hoc test. The statistical analyses were performed with the SPSS v.15 statistical programme (SPSS Inc., Chicago, USA). The correlation between phenolic content, flavonoid content and ORAC were performed using the Microsoft Excel Data Analysis (Microsoft Corp., Redmond, Wash., USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Characterization of matcha

Total phenolic and flavonoid content of matcha tea extract was found to be 156.6 mg CE/g and 136.2 mg CE/g, respectively. The reverse phase HPLC analysis was used for the separation and identification of flavan-3-ols in matcha tea powder. According to the results, the most abundant bioactive constituents of green tea were EGCG (63 mg/g) and EGC (40 mg/g) followed by EC (11 mg/g) and GC (3 mg/g). The results of catechins in the matcha are comply with the study of Weiss and Anderton (2003), who determined EGCG (57.4 mg/g), EGC (12.6 mg/g), ECG (12.8 mg/g), EC (4.0 mg/g) and C (0.83 mg/g). Antioxidant activity of the matcha extract was determined to be 2116  $\mu\text{mol TE/g}$  and 0.82 mg/ml, respectively in terms of ORAC and  $\text{EC}_{50}$  values, which means that matcha green

tea showed a strong antioxidant activity due to its high phenolic content. In this case, a low  $\text{EC}_{50}$  value (0.82 mg/ml) is indicative of strong antioxidant activity.

### Incorporation of matcha into dark chocolate

The most suitable chocolate production step for addition of matcha (2%) without destroying phenolics was determined considering total phenolics, flavonoids and antioxidant activity (Figure 1A, 1B, 1C and 1D). According to the results of chocolates containing 2% matcha, addition of matcha in mixing, refining or conching steps was not statistically significant ( $P > 0.05$ ) in terms of TPC, TFC and antioxidant activity (ORAC and DPPH assays). On the contrary, a significant increase in phenolic content of chocolates was observed after addition of matcha in tempering step. As presented in Figure 1C and 1D, antioxidant activity results of dark chocolate with matcha (2%) were in agreement with those of TPC and TFC. Even though addition of matcha in tempering step was found to be more preservative method for phenolics, it was not suitable for chocolate production since matcha could not be combined with chocolate homogeneously. For these reasons, matcha was incorporated into chocolate in mixing step to ensure homogeneous chocolate samples were obtained. Therefore, chocolates with 2%, 3% and 4% matcha were produced by adding matcha in the mixing step. So, chocolate samples containing 2%, 3% and 4% matcha were produced to increase phenolic content without deteriorating sensorial properties of the products. Due to bitter and astringent flavour of phenolic compounds (Streit et al., 2007), 4% was selected as the upper limit for matcha addition in chocolate recipe.

### TPC, TFC and antioxidant activity of chocolate samples

After the decision to add matcha in the mixing step, all chocolate samples containing matcha (2%, 3% and 4%) were produced in this way. The final chocolate products were obtained after tempering step. Total phenolic and flavonoid content of control chocolate sample without matcha and chocolate samples containing matcha (2%, 3% and 4%) was shown in Figure 2A and

2B. In the final products, phenolic content of control and chocolate samples containing matcha (2%, 3% and 4%) was significantly different from each other ( $P < 0.05$ ). As expected, chocolate samples with 4% matcha exhibited the highest TPC (21.23 mg CE/g) and TFC (12.21 mg CE/g) while control chocolates contained the lowest TPC (16.28 mg CE/g) and TFC (9.49 mg CE/g). Compared to the control chocolate, TPC increased 12.32%, 23.68%, 30.41% and TFC increased 7.76%, 17.32%, 28.59% in chocolates with 2%, 3% and 4% matcha, respectively. In fact,

total phenolic and flavonoid content of chocolate samples was comply with the study of Pimentel et al. (2010) who determined TPC 62.9  $\mu\text{mol CE/g}$  (18.26 mg CE/g) and TFC 21.6  $\mu\text{mol CE/g}$  (6.27 mg CE/g) in dark chocolate containing 71% cocoa, which was similar to the results of our control chocolate but lower than the chocolate samples with matcha. Meanwhile, there was a positive and significant correlation between total phenolics and total flavonoids of the chocolate samples ( $r^2 = 0.952$ ).

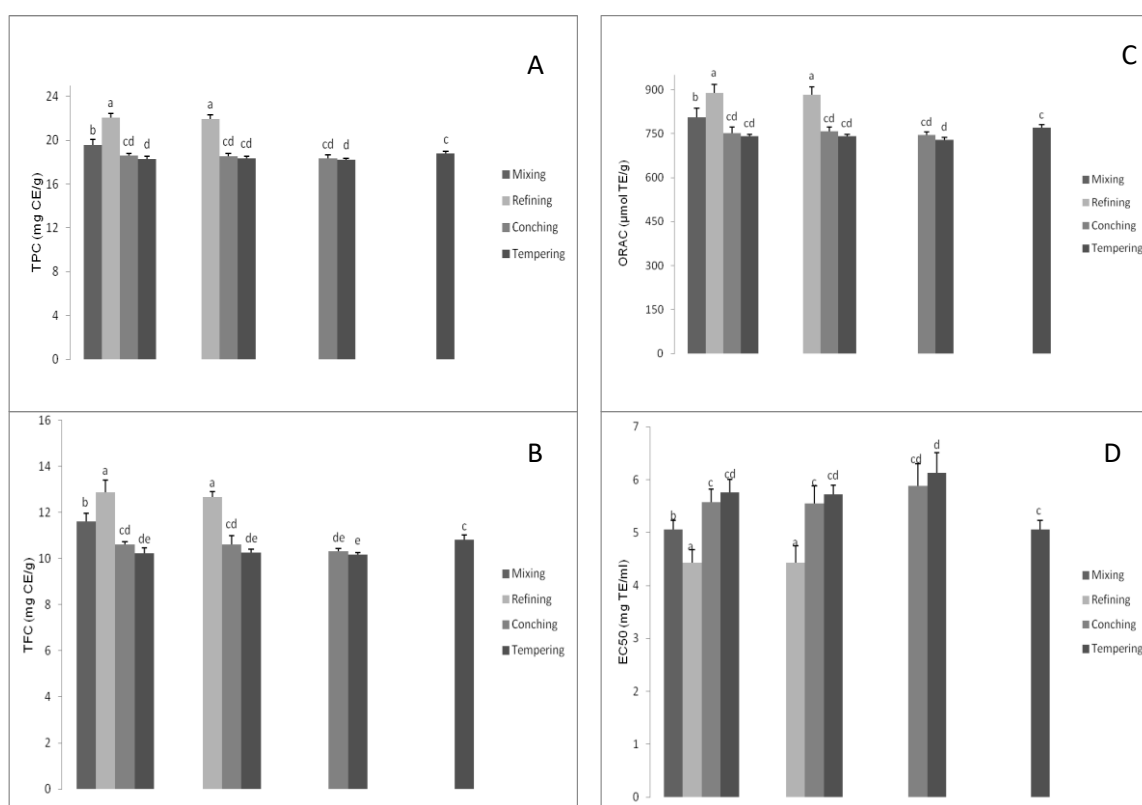


Figure 1. TPC (A), TFC (B), ORAC (C), EC<sub>50</sub> (D) of chocolate with 2% matcha after addition of matcha in mixing, refining, conching and tempering steps.

Values are expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

a-e: Means with different letters are significantly different at the level of  $P < 0.05$

TPC: Total Phenolic Content, TFC: Total Flavonoid Content

Meanwhile, the highest ORAC value was obtained in chocolates with 4% matcha (852  $\mu\text{mol TE/g}$ ), followed by chocolates with 3% matcha (808  $\mu\text{mol TE/g}$ ), chocolates with 2% matcha (741  $\mu\text{mol TE/g}$ ), and control chocolate (682  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (Figure 2C). In comparison to

control chocolate, ORAC values of chocolates enhanced by 8.65%, 18.48% and 24.93% after addition of 2%, 3% and 4% matcha, respectively. Gu et al. (2006), who determined ORAC values ranging from 516 to 444  $\mu\text{mol TE/g}$  in unsweetened chocolate with 49.5% of nonfat

cocoa solid content, which was lower than chocolate samples results in this study due to their higher nonfat cocoa solid (70%) and matcha green tea content. The EC<sub>50</sub> value of the extract of control chocolate (6.24 mg/ml) was significantly higher than that of chocolate extracts containing 2% (5.76 mg/ml), 3% (5.24 mg/ml) and 4% (4.92 mg/ml) matcha (Figure 2D). The

lower EC<sub>50</sub> value indicates a higher antioxidant activity. In terms of DPPH assay, antioxidant activity increased 7.69%, 16.01% and 21.20% after addition of matcha to chocolate samples by 2%, 3% and 4%, respectively. Therefore, antioxidant activity results measured by ORAC and DPPH assays are in agreement.

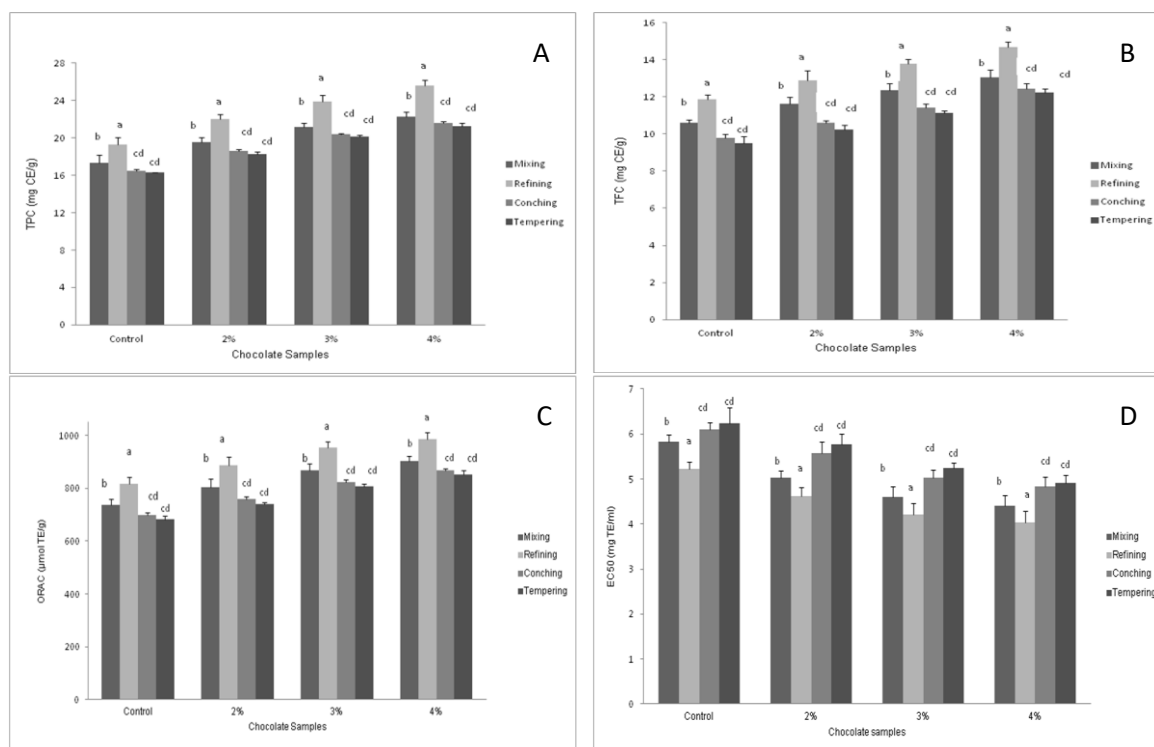


Figure 2. Changes in TPC (A) and TFC (B), ORAC (C) and EC<sub>50</sub> (D) values of control and chocolates containing 2%, 3% and 4% matcha during chocolate production steps.

Values are expressed as mean ± standard deviation.

a-d: Means with different letters are significantly different in each chocolate sample at the level of  $P < 0.05$

TPC: Total Phenolic Content, TFC: Total Flavonoid Content

### Changes in TPC, TFC and antioxidant activity during chocolate production

Figure 2 (A, B, C and D) shows the effect of chocolate production process on TPC, TFC and antioxidant activity. A significant increase was observed in refining step while a significant reduction was detected in conching step in terms of TPC, TFC and antioxidant activity. This process effect is given in Table 2 using the average results of all chocolate samples including control chocolate, chocolate samples with 2%, 3% and 4% matcha in terms of TPC, TFC and antioxidant activity. According to the results, TPC and TFC

of chocolate samples increased by 13.02% and 11.72% during refining step. However, conching caused a decrease of 15.37% in TPC and 16.94% in TFC of chocolates. Similarly, antioxidant activity measured by ORAC and DPPH assays showed an increase of 10.02% and 8.89% during refining step. In contrast, conching caused a reduction of 13.67% and 19.21% in antioxidant activity in terms of ORAC and DPPH assays. Therefore, it is possible to say that difference between the effect of chocolate production steps on phenolics was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

Table 2. The effect of refining and conching steps on the TPC, TFC, ORAC and EC<sub>50</sub> values of control and chocolates containing matcha (2%, 3% and 4%).

Percentage Increase by Refining (%)					
	Control <sup>1</sup>	Chocolate with 2% matcha	Chocolate with 3% matcha	Chocolate with 4% matcha	Average*
TPC	11.51	12.60	12.95	15.03	13.02
TFC	11.82	10.94	11.72	12.40	11.72
ORAC	10.43	10.26	9.84	9.54	10.02
EC <sub>50</sub>	10.23	8.27	8.35	8.69	8.89
Percentage Decrease by Conching (%)					
	Control <sup>1</sup>	Chocolate with 2% matcha	Chocolate with 3% matcha	Chocolate with 4% matcha	Average*
TPC	14.92	15.79	14.87	15.90	15.37
TFC	17.69	17.65	17.14	15.27	16.94
ORAC	14.40	14.55	13.66	12.05	13.67
EC <sub>50</sub>	16.83	20.56	19.24	20.20	19.21

<sup>1</sup>Control: Chocolate without matcha

TPC: Total phenolic content

TFC: Total flavonoid content

\*Standard deviation (<10%) is omitted to simplify the result

Meanwhile, there was a high negative correlation between the ORAC and EC<sub>50</sub> values ( $r^2=-0.942$ ). Antioxidant activity of chocolate samples were in accordance with the TPC, which was confirmed by a strong correlation obtained between the results ( $r^2\text{ORAC}/\text{TPC}=0.979$ ,  $r^2\text{DPPH}/\text{TPC}=-0.90$ ). Similarly, a high correlation was observed between the antioxidant activity and flavonoid compounds of chocolates ( $r^2\text{ORAC}/\text{TFC}=0.985$ ,  $r^2\text{DPPH}/\text{TFC}=-0.921$ ) as well, which implies that the antioxidant potential of chocolate was directly related to their phenolic content.

### Sensory Evaluation

The chocolate samples were evaluated for bitterness, acceptable matcha taste, brittleness, melting rate and smooth mouthfeel attributes (Figure 3). For bitterness and acceptable matcha taste, there was no significant difference among chocolates with 2% matcha and control ( $P > 0.05$ ). However, for acceptable taste of matcha, there was a significant difference between chocolates with 2% matcha and chocolates with 3% and 4% matcha. In relation to brittleness, the chocolates with 2% and 3% matcha and the control were scored the highest with no

significant difference among them ( $P > 0.05$ ). Furthermore, the melting rate and smooth mouthfeel of the chocolates significantly decreased due to addition of matcha ( $P < 0.05$ ). This study indicates that maximum 3% matcha addition was acceptable for consumer, but adding matcha more than 3% in dark chocolates reduce the consumer acceptability.

### CONCLUSIONS

In summary, matcha green tea powder may be used as a value-added ingredient besides being a beverage due to exhibiting a strong antioxidant activity. In dark chocolate product, the results were successful. As expected, a significant increase in phenolic content was obtained by adding 2%, 3% and 4% matcha ( $P < 0.05$ ). However, according to sensory test results using matcha more than 3% causes undesirable taste in bitter chocolates. Adding matcha in tempering step causes less destruction on phenolics but matcha could not be mixed with chocolate homogeneously. Therefore, it was preferred to add matcha in mixing at the beginning of the process.



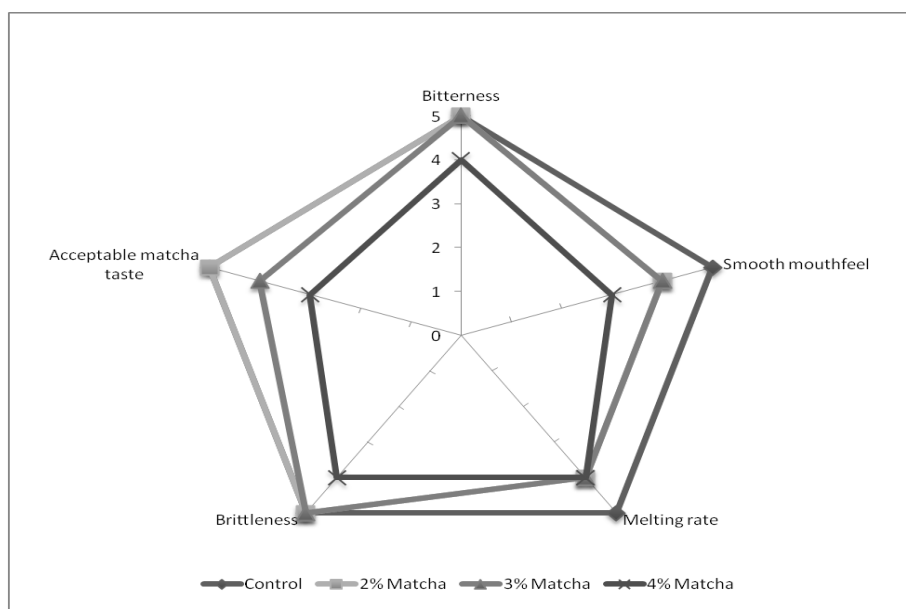


Figure 3. Spider diagram showing the sensory profile of control and chocolates with 2%, 3% and 4% matcha.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to thank to TÜBİTAK (TEYDEB 1501, Project ID: 3090322) for their support on this project. We would also like to show our gratitude to Mr. Selahattin Ayan; Chairman of the Board of Petit Chocolate Company for his inspiration and motivation during this research.

#### CONFLICT OF INTEREST

There is no possible conflict of interest among the authors.

#### AUTHOR CONTRIBUTION

Özlem Gönül was responsible for producing of bitter chocolate samples. Mine Gültekin-Özgüven and İjlal Berktas performed the chemical analyses and wrote the article. Beraat Özçelik was responsible for experimental design, interpretation and discussion of the results.

#### REFERENCES

Aachary, A. A., Thiyam, U., Eskin, N. A. M. (2012). Chocolate and cocoa: A comprehensive review on cardiovascular benefits. In: *Functional foods and Cardiovascular Disease*, Moghadasian,

M.H., Eskin N.A.M (eds.), CRC Press, USA, pp. 233–258.

Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., Vieira, J. (2008). Effects of tempering and fat crystallization behaviour on microstructure, mechanical properties and appearance in dark chocolate systems. *J Food Eng*, 89:128–136, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.04.021.

Andres-Lacueva, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo-Pulido, M., Urpi-Sarda, M., Permanyer, J., Lamuela-Raventos, R. M. (2008). Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: Influence of the manufacturing process. *J Agr Food Chem*, 56: 3111–3117, doi: 10.1021/jf0728754.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*, 28: 25-30.

Cao, G., Prior, R. (1999). Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. oxidants and antioxidants. *Methods Enzymol*, 299: 50-62, doi: 10.1016/S0076-6879(99)99008-0.

Dragovic-Uzelac, V., Delonga, K., Levaj, B., Djarkovic, S., Pospisil, J. (2005). Phenolic profiles

- of raw apricots, pumkins, and their purees in the evaluation of apricot nectar and jam authenticity. *J Agr Food Chem*, 53: 4836-43, doi: 10.1021/jf040494+.
- Gu, L., House, S. E., Wu, X., Ou, B., Prior, R. L. (2006). Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *J Agr Food Chem*, 54: 4057-4061, doi: 10.1021/jf060360r.
- Gültekin-Özgülven, M., Berktaş, İ., Özçelik, B. (2016). Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology. *Food Sci Technol*, 66: 252-259.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., Prior, R. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agr Food Chem*, 50: 4437-4444, doi: 10.1021/jf0201529.
- Komes, D., Horzic, D., Belšcak, A., Ganic, K. K., Vulic, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food Res Int*, 43: 167-176, doi: 10.1016/j.foodres.2009.09.022.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agr Food Chem*, 51: 7292-7295, doi: 10.1021/jf0344385.
- Manian, R., Anusuya, N., Siddhuraju, P., Manian, S. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chem*, 107: 1000-1007, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.09.008.
- Mathur, S., Devaraj, S., Grundy, S. M., Jialal, I. (2002). Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. *J Nutr*, 132: 3663-3667, doi: 10.1093/jn/132.12.3663.
- Mursu, J., Voutilainen, S., Nurmi, T., Rissanen, T. H., Virtanen, J. K., Kaikkonen, J., Nyssonen K., Salonen, J. T. (2004). Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radic Biol Med*, 37(9): 1351-1359, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.002.
- Nishitani, E., Sagesaka, Y. M. (2004). Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. *J Food Compost and Anal*, 17: 675-685, doi: 10.1016/j.jfca.2003.09.009.
- Özgülven, M. (2014). Functional chocolate development: enrichment of dark chocolate with nano-liposome encapsulated antioxidants, and/or pro- and pre-biotics. PhD Dissertation, Istanbul Technical University, Istanbul, Turkey, 144 p.
- Pimentel, F. A., Nitzke J. A., Klipel, C. B., Jong, E. V. (2010). Chocolate and red wine – A comparison between flavonoids content. *Food Chem*, 120: 109-112, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.078.
- Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzic, D., Kovac, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chem*, 110: 852-858, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.072.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J., Saura-Calixto, F.A. (1998). Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Agr Food Chem*, 76: 270-276.
- Streit, N. M., Hecktheuer L. H. R., Canto, M. W., Mallmann, C. A., Streck, L., Vey Parodi, T., Canterle, L.P. (2007). Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Chem*, 102: 560-564, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.05.028.
- Tanabe, N. A., Hofberger, R. (2005). Chocolate. In: *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*, Hui, Y.H. (chief ed.), Volume 4, CRC Press, USA, pp. 1-11.

Weiss, D. J., Anderton, C. R. (2003). Determination of catechins in matcha green tea by micellarelectrokinetic chromatography. *J Chromatogr A*, 1011: 173–180, doi: 10.1016/S0021-9673(03)01133-6.

Wollgast, J., Anklam, E. (2000). Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human

health? *Food Res Int*, 33: 449-459, doi: 10.1016/S0963-9969(00)00069-7.

Wollgast, J. (2004). The contents and effects of polyphenols in chocolate. PhD Dissertation, University of Gießen, Gießen, Germany, 284 p.



**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DIFFERENT ESSENTIAL OILS ON  
*LISTERIA MONOCYTOGENES* STRAINS ISOLATED FROM READY-TO-EAT  
FOODS**

**Simge Aktop<sup>1</sup>, Hacer Aslan Canberi<sup>2</sup>, Esra Şentürk<sup>1</sup>, Pınar Şanlıbaba<sup>1\*</sup>**

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

<sup>2</sup> Ankara University, Biotechnology Institute, Ankara, Turkey

Received / Geliş: 28.05.2020; Accepted / Kabul: 09.08.2020; Published online / Online baskı: 15.08.2020

Aktop, S., Aslan Canberi, H., Şentürk, E., Şanlıbaba, P. (2020). Antibacterial activity of different essential oils on *Listeria monocytogenes* strains isolated from ready-to-eat foods GIDA (2020) 45(5) 861-871 doi: 10.15237/gida.GD20072

Aktop, S., Aslan Canberi, H., Şentürk, E., Şanlıbaba, P. (2020). Çeşitli uçucu yağların tüketime hazır gıdalardan izole edilen *Listeria monocytogenes* suşları üzerindeki antibakteriyel aktivitesi. GIDA (2020) 45(5) 861-871 doi: 10.15237/gida.GD20072

**ABSTRACT**

*Listeria monocytogenes* is one of the food-borne pathogens that cause major health problems worldwide. Application of essential oils (EOs) is used to control this pathogen and reduce microbial levels. The aim of the present study was to investigate the antibacterial activity of 15 different EOs obtained from plants on *L. monocytogenes* strains from ready-to-eat foods. In this study, thyme oil (mean zone 24.850±3.714 mm) showed the highest antibacterial activity against *L. monocytogenes*. Clove oil (mean zone 12.383±2.215 mm) and sage oil (mean zone 11.117±3.170 mm) were also determined high antibacterial activity. Ginger oil and garlic oil did not have any antibacterial activity against *L. monocytogenes* strains. This study shows that using of EOs against food-borne pathogens in food systems could be useful.

**Keywords:** Essential oils, antibacterial activity, *Listeria monocytogenes*, disc diffusion method

**ÇEŞİTLİ UÇUCU YAĞLARIN TÜKETİME HAZIR GIDALARDAN İZOLE  
EDİLEN *LISTERIA MONOCYTOGENES* SUŞLARI ÜZERİNDEKİ  
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİ**

**ÖZ**

*Listeria monocytogenes* dünya çapında önemli sağlık sorunlarına neden olan gıda kaynaklı patojenlerden biridir. Uçucu yağların (EOs) uygulanması, patojenlerin kontrol edilmesi ve mikrobiyel seviyelerin azaltılması amacıyla kullanılan yöntemlerden biridir. Bu çalışmanın amacı, bitkilerden elde edilmiş olan 15 farklı EOs'un tüketime hazır gıdalardan izole edilmiş olan *L. monocytogenes* suşları üzerindeki antibakteriyel aktivitesini araştırmaktır. Bu çalışmada, kekik uçucu yağının (ortalama zon çapı 24.850±3.714 mm) *L. monocytogenes*'e karşı en yüksek antimikrobiyel aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir. Karanfil uçucu yağı (ortalama zon çapı 12.383±2.215 mm) ve adaçayı uçucu yağı (ortalama zon çapı 11.117±3.170 mm) ise, diğer yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip uçucu yağlardır. Zencefil uçucu yağı ve sarımsak uçucu yağının, *L. monocytogenes* suşlarına karşı antibakteriyel etkisi saptanamamıştır. Bu çalışma, gıda sistemlerinde gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı EO'ların kullanılmasının yararlı olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Uçucu yağlar, antibakteriyel aktivite, *Listeria monocytogenes*, disk difüzyon yöntemi

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉ : sanlibab@ankara.edu.tr

☎ : (+90) 312 203 0333 / 3617

☎ : (+90) 312 317 8711

Simge Aktop ORCID ID: 0000-0002-6257-7767

Hacer Aslan Canberi ORCID ID: 0000-0002/7312/7852

Esra Şentürk ORCID ID: 0000-0001-5710-6947

Pınar Şanlıbaba ORCID ID: 0000-0003-4638-6765

## INTRODUCTION

Food safety is becoming an important part of consumers lives from farm to fork (Kuan et al., 2017). Foods may become contaminated with microorganisms at any stage of production, processing, distribution, storage or preparation. Nowadays, recent food trends have focused on unprocessed or natural foods that do not contain chemical preservatives (Oggiano, 2015). Essential oils (EOs) obtained from plants promise as alternative substances for food safety (Sakkas and Papadopoulou, 2017; Imane et al., 2020). Moreover, EOs are also a good alternative to chemical or synthetic preservation agents in food industry (Moreira et al., 2005; Paparella et al., 2008; Gouveia et al., 2016).

EOs are volatile secondary metabolites that can be extracted from all parts of plants such as buds, gums, blossoms, flowers, leaves, stems, twigs, seeds, fruits, roots, wood, or bark depend on the growing species (Wińska et al., 2019; Cho et al., 2020; Jarzębski et al., 2020). EOs are generally recognized as safe (GRAS) by the US Food and Drug Administration (FDA) (Trinetta et al., 2017; USFDA, 2019). EOs are commonly used in areas such as food, medicine and cosmetics with their properties such as antibacterial, antimycotic, antifungal, antiviral, antiparasitic, antitoxigenic, anticancer, anti-inflammatory and antioxidant activity. These characteristics may be related to the function of parts of plants (Vázquez-Sánchez et al., 2015; Moussaoui and Alaoui, 2016; dos Santos et al., 2018). EOs are complex mixtures containing about 500 compounds, such as alcohols, esters, ethers, terpenoids, aldehydes, phenol and phenol ethers (Stefanakis et al., 2013; Vázquez-Sánchez et al., 2018). However, the chemical composition of EOs may differ. The chemical composition responsible for the antimicrobial properties of EOs is influenced by climate and geographical conditions such as harvesting, storage and isolation techniques (Alexopoulos et al., 2011). There have been more than 3000 EOs, with approximately 300 of which are commercial (Stefanakis et al., 2013; Sakkas and Papadopoulou, 2017). These EOs can be extracted from different parts of the aromatic plants using various methods such as water or

steam distillation, solvent extraction, expression under pressure, supercritical fluid and subcritical water extractions. Among of these methods, distillation is the most commonly used (Viuda-Martos et al., 2011; Yagi et al., 2016; Fancello et al., 2020; Imane et al., 2020).

EOs exhibit significant antimicrobial activity against food-borne pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Bacillus cereus* (Ozogul et al., 2015; Guo et al., 2019; Al-Nabulsi et al., 2020). EOs can also be evaluated against various fungal species (Viuda-Martos et al., 2011; Sakkas and Papadopoulou, 2017). This antibacterial activity can be explained by the damage of EOs to the cell membranes, genetic materials and enzyme systems of bacteria and degradation of phospholipid double layers (Moreira et al., 2005; Viuda-Martos et al., 2011; Güneş and Tihminlioğlu, 2017). Moreover, many EOs are reported to contain antimicrobial compounds such as thymol, carvacrol, eugenol and cinnamaldehyde (Herman et al., 2016; Tariq et al., 2019; Cho et al., 2020; Xiao et al., 2020). Gram positive bacteria are more sensitive to EOs than Gram-negative bacteria because Gram negative bacteria are composed of two layers that protect the cell and give it a hardness to the cell. Therefore, this outer membrane gives the bacterial surface a strong hydrophilic property (Viuda-Martos et al., 2011; Sakkas and Papadopoulou, 2017).

*L. monocytogenes* is one of the most important foodborne pathogens (Guo et al., 2019) and can cause an important public health problem with high mortality and morbidity rates (Lee et al., 2018; Stratakos, et al., 2020). *L. monocytogenes* infection entitled listeriosis can lead to disease during vulnerable stages of life such as newborn, pregnant woman, elderly and persons with immunocompromising conditions individuals (Gomez et al., 2014). Listeriosis can cause important health problems such as gastroenteritis, septicemia, meningitis, meningoencephalitis, endocarditis, and fetal losses (Zhu et al., 2017; Desai et al., 2019; Nichols et al., 2020). *L. monocytogenes* can be found in various food groups

such as milk and dairy products, meat and meat products, seafood, vegetables and ready-to-eat foods (Lee et al., 2018). *L. monocytogenes* grows between 0.4 and 50 °C (Zhu et al., 2017; Guo et al., 2019). Therefore, the development of this pathogen in refrigerator conditions makes food preservation difficulties. As an alternative to the cooling process for controlling *L. monocytogenes* in foods, non-thermal processing methods can be used as well as traditional methods. Adding natural antimicrobial agents such as bacteriocin, EOs, enzyme, organic acids to foods is one of the most remarkable effective applications in recent years (Nichols et al., 2020).

The purpose of this paper was to provide an overview of the antibacterial activity of EOs considered suitable for application in or on foods. Based on this idea, antibacterial activity of 15 different EOs against *L. monocytogenes* strains previously isolated from ready-to-eat food in Ankara was determined using disc diffusion method.

### MATERIALS AND METHODS

#### Essential Oils

Fifteen different herbal EOs (purity  $\geq 98\%$ , Balen™, Ankara) purchased from herbalists in Ankara were used in this study. All of the EOs used in this study were produced by distillation method by the manufacturer. In addition, the purity and chemical composition of EOs were determined by the manufacturer. Essential oils used in this study were: rosemary (*Rosmarinus officinalis* L), peppermint (*Mentha x piperita*), eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), thyme (*Thymus vulgaris* L), laurel (*Laurus nobilis* L), juniper (*Juniperus communis* L), St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L), ginger (*Zingiber officinale*), black seed (*Nigella Sativa* L), clove (*Syzygium aromaticum*), sage (*Salvia officinalis*), pine turpentine (*Pinus terebenthinae*), garlic (*Allium sativum* L), dill (*Anethum graveolens* L), and cumin (*Cuminum cyminum* L). All of these EOs were stored at room temperature in the dark condition.

#### Bacterial Strains

In this study, 29 different *L. monocytogenes* strains isolated from ready-to-eat foods in Ankara

previously and one reference strain (*Listeria monocytogenes* ATCC 7644) were obtained from the culture collection of Food Microbiology Laboratory, Department of Food Engineering, Ankara University, Ankara, Turkey. These strains inoculated on Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck™, Germany) and Brain Heart Infusion (BHI) broth (Merck™, Germany) and incubated at 35°C for 24 h. All of the strains were stored at -20°C in 30% (v/v) glycerol (Merck™, Germany) until tested.

#### Determination of antibacterial activity

Antibacterial activity of the EOs against *L. monocytogenes* strains was performed using the agar diffusion method as recommended by de Aguiar et al., 2018. As a preliminary step, EOs were sterilized by passing through 0.22  $\mu\text{m}$  pore-size membrane filters as described by Cava et al. (2007) and then sterile discs (6 mm diameter white disc) (Oxoid Ltd, ES) were impregnated with approximately 15  $\mu\text{L}$  of each steril EOs. All of the discs were soaked for 18 h at room temperature under aseptic condition. For preparation of the bacterial suspension from overnight culture, turbidity was visually adjusted to that of a 0.5 McFarland turbidity standard ( $\sim 1.5 \times 10^8$  CFU/mL) using sterile TSB. Ten mL of the bacterial suspensions were added to 90 mL Tryptic Soy Agar (TSA) (Sigma™, Germany). Then, this medium was mixed with a shaker and poured into each sterile petri dishes. After solidification, the discs impregnated with 15  $\mu\text{L}$  of different EOs were placed on the surface of petri dishes. Disks with gentamicin (10 mg) were used as positive control. Negative control discs were soaked with the sterile distilled water. The plates containing discs were kept at room temperature for at least 30 minutes before incubated at 37°C for 24 h. At the end of the incubation times, the inhibition zone diameters were measured by a clean ruler. The sensitivity to the different EOs was classified as follows: not sensitive (-) for diameter less than 8 mm; sensitive (+) for diameter 9–14 mm; very sensitive (++) for diameter 15–19 mm and extremely sensitive (+++) for diameter larger than 20 mm (Ponce et al., 2003). All tests were performed in duplicate.

**Statistical analysis**

In our study, measurements related to quantitative variables are summarized with mean and standard deviation. The comparisons between groups in terms of measurement averages were tested with variance analysis (ANOVA). When the ANOVA test is found to be significant, sub-sets related to the groups were created with the Post Hoc (Tukey b) test. The significance level was accepted as 5%. The analyzes were carried out using SPSS (Version 25) software.

**RESULTS AND DISCUSSION**

In this study, the antibacterial effects of 15 different commercially purchased EOs on *L. monocytogenes* strains were investigated. When

making measurements, completely transparent diameters formed around the discs were taken into account as the inhibition zone. The formation of the inhibition zone around the disc was shown in Figure 1. The average values of antibacterial inhibition zones for different EOs against *L. monocytogenes* were showed in Table 1. As can be seen in Table 1, when the zone measurement averages were compared, a statistically significant difference was found between the types of EO ( $F=234,629$ ;  $p<0,001$ ). The susceptibility of 30 different *L. monocytogenes* strains to EOs was in Table 2. Moreover, zone measurement averages for EO types were shown in Figure 2 with 95% confidence intervals.

Table 1. Average zone diameters (mm) and standard deviation values of herbal EOs\*

Essential oils	Mean
Ginger	0.000±0.000 <sup>a</sup>
Garlic	0.000±0.000 <sup>a</sup>
St. John's Wort	0.100±0.548 <sup>a</sup>
Cumin	0.133±0.730 <sup>a</sup>
Laurel	0.150±0.822 <sup>a</sup>
Juniper	0.267±1.015 <sup>a</sup>
Eucalyptus	2.767±2.932 <sup>b</sup>
Pine turpentine	3.950±3.687 <sup>b</sup>
Black seed	4.233±3.586 <sup>b</sup>
Dill	7.433±2.511 <sup>c</sup>
Rosemary	8.450±1.936 <sup>c</sup>
Peppermint	8.450±3.749 <sup>c</sup>
Sage	11.117±3.170 <sup>d</sup>
Clove	12.383±2.215 <sup>d</sup>
Thyme	24.850±3.714 <sup>e</sup>

F: 234.629; p<0.001

\*The difference between the mean values of essential oil types was statistically significant ( $F=234.629$ ;  $p<0.001$ ). The smallest significant difference test (LSD: Least Significant Difference) was performed for multiple comparisons to determine the source of the differences. In case of no significant difference between the groups, the mean values were indexed with the same letter.



## Antibacterial activity of essential oils against *L. monocytogenes* strains

Table 2. EOs susceptibility of *Listeria monocytogenes* strains

Essential Oils	- <sup>a</sup>		+ <sup>b</sup>		++ <sup>c</sup>		+++ <sup>d</sup>	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Ginger	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Garlic	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
St. John's Wort	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Cumin	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Laurel	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Juniper	30	100	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Eucalyptus	28	93.3	2	6.7	0	0.0	0	0.0
Pine turpentine	26	86.7	4	13.3	0	0.0	0	0.0
Black seed	24	80.0	6	20.0	0	0.0	0	0.0
Dill	14	46.7	16	53.3	0	0.0	0	0.0
Rosemary	12	40.0	18	60.0	0	0.0	0	0.0
Peppermint	10	33.3	20	66.7	0	0.0	0	0.0
Sage	4	13.3	24	80	2	6.7	0	0.0
Clove	2	6.7	22	73.3	6	20.0	0	0.0
Thyme	0	0.0	0	0.0	3	10.0	27	90.0

- : ≤8 mm ( not sensitive)

+ : between 9 mm and 14 mm ( sensitive)

++: between 15 mm and 19 mm (very sensitive)

+++ ≥20 mm (extremely sensitive)

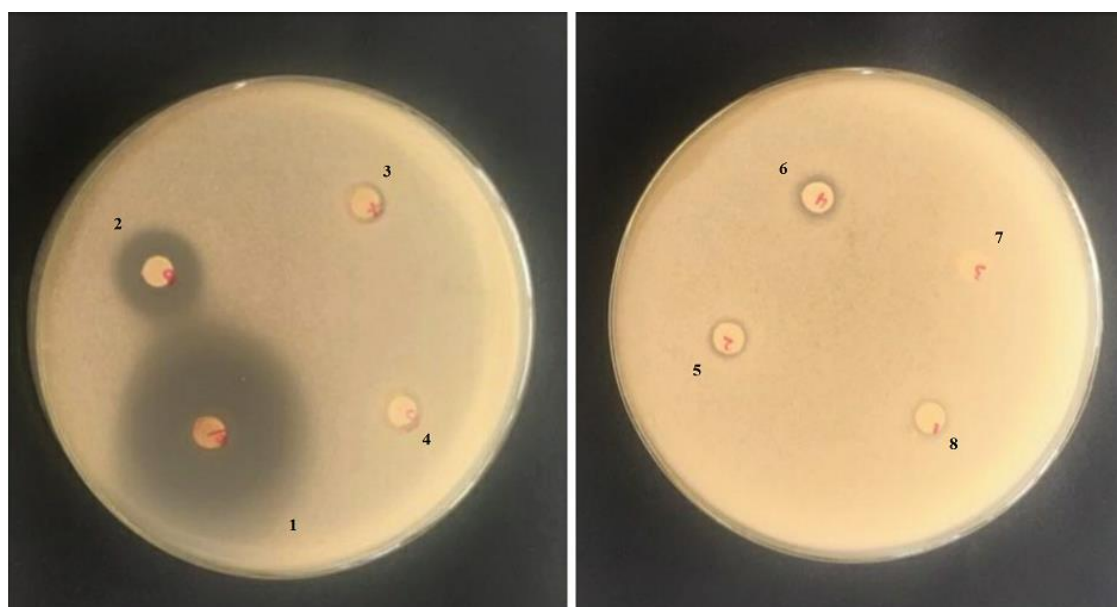


Figure 1. The formation of the inhibition zone around the disc (*Listeria monocytogenes* ATCC7644) (Disc 1: thyme oil, disc 2: clove oil, disc 3: St. John's Wort oil, disc 4: cumin oil, disc 5: laurel oil, disc 6: Pine turpentine oil, disc 7: garlic oil, disc 8: eucalyptus oil).

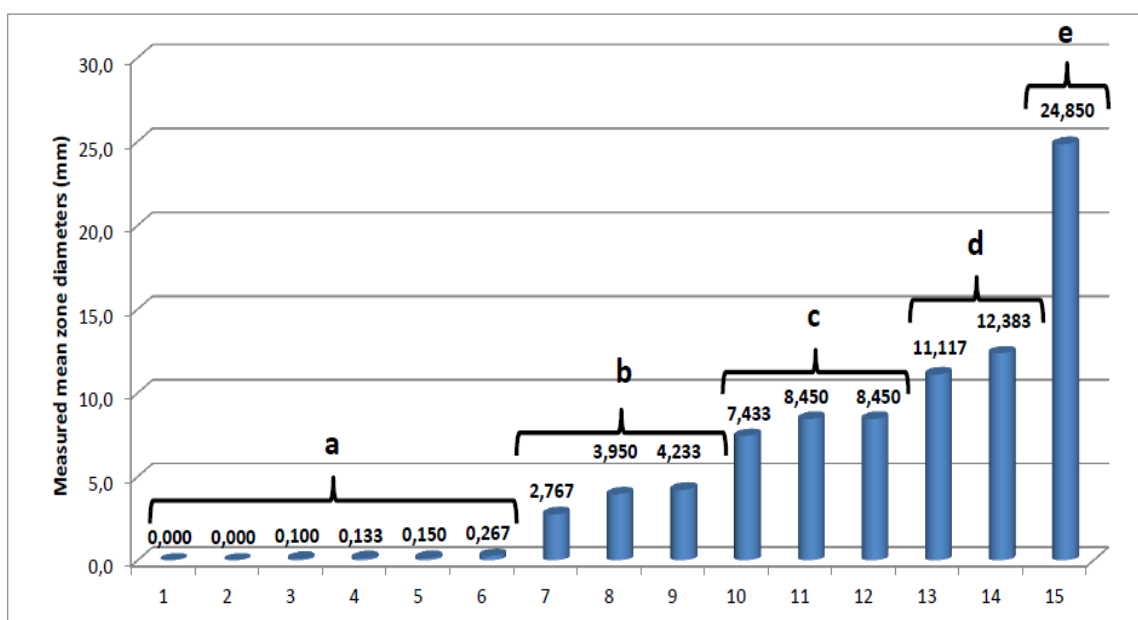


Figure 2. Subsets for different Eos types and comparison of mean zone diameters (with 95% confidence interval)

Group a: Ginger oil (1), Garlic oil (2), St. John's Wort oil (3), Cumin oil (4), Laurel oil (5), Juniper oil (6)

Group b: Eucalyptus oil (7), Pine turpentine oil (8), Black seed oil (9)

Group c: Dill oil (10), Rosemary oil (11), Peppermint oil (12)

Group d: Sage oil (13), Clove oil (14)

Group e: Thyme oil (15)

According to the results, the most effective antibacterial activity was found to be against thyme oil (mean zone  $24.850 \pm 3.714$  mm). This antibacterial effect was followed by clove oil (mean zone  $12.383 \pm 2.215$  mm) and sage oil (mean zone  $11.117 \pm 3.170$  mm). In this study, the lowest antibacterial activity of EOs were St. John's wort oil (mean zone  $0.100 \pm 0.548$  mm), cumin oil (mean zone  $0.133 \pm 0.730$  mm), laurel oil (mean zone  $0.150 \pm 0.822$  mm), and juniper oil (mean zone  $0.267 \pm 1.015$  mm), respectively. In addition, ginger oil and garlic oil did not show any antibacterial activity against the *L. monocytogenes* strains used in the study.

When the antibacterial activity of EOs was examined, it was possible to form five homogeneous EOs groups (Figure 2). In our study, thyme oil samples were showed the highest antibacterial activity against to all *L. monocytogenes* stains with an average zone diameter of  $24.850 \pm 3.714$  mm. Thyme oil was classified as group "e" in Figure 2. We found that 90% (27/30)

of *L. monocytogenes* strains were extremely sensitive to thyme oil and 10% (3/30) were very sensitive. Our findings were similar to previously published report. Viuda-Martos et al. (2011) reported that thyme oil (20 µL) had high inhibitory effects on three bacteria tested: 38.00 mm, 16.50 mm and 19.83 mm for *L. innocua*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas fluorescens*, respectively. Similarly, Hu et al. (2018) investigated the antibacterial effect of thyme oil on *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *Stap. aureus* and *E. coli* O157: H7 and found average zone diameters of 23.60 mm, 20.01 mm, 14.07 mm and 22.47 mm, respectively. Moreover, Canberi et al. (2020) found that thyme oil had high antibacterial effect against *Stap. aureus* strains with an average zone diameter of 23.203 mm. However, in contrast to our findings, Moreira et al. (2005) reported that thyme oil showed lower antibacterial activity against *E. coli* strains and obtained zone diameters between 10-12 mm. High antibacterial activity of thyme oil may be related to the high thymol and carvacrol content, which can form hydrogen bonds with the active

site of many enzymes due to the acidic nature of the hydroxyl group (Wińska et al., 2019).

Clove oil and sage oil used in our study were in the second group entitled “d” in Figure 2 with the highest antibacterial activity against *L. monocytogenes* strains. Clove oil was found to be the most effective EO after thyme oil with an inhibition zone diameter of  $12.383 \pm 2.215$  mm. In this study, while 20% (6/30) of *L. monocytogenes* strains were very sensitive to clove oil, 73.3% (22/30) of *L. monocytogenes* strains were sensitive to that. In addition to these results, 6.7% (2/30) of *L. monocytogenes* strains were not sensitive to clove oil. Consistent with our results, de Aguiar et al. (2018) reported that clove oil showed an antibacterial activity against *Streptococcus suis* isolates with an inhibition zone diameter of 6.0–28.0 mm (mean zone  $15.8 \pm 5.0$  mm). In contrast to our study, Condò et al. (2020) found that clove oil had a weak antibacterial effect against *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stap. aureus* and *S. epidermidis* and also no antibacterial activity of clove oil was detected against *Ent. faecalis* and *Streptococcus pyogenes*. In our study, antibacterial activity of sage oil against *L. monocytogenes* strains was similar to antibacterial activity of clove oil. The average value of the inhibition zone diameter measured for sage oil was  $11.117 \pm 3.170$  mm. The measurements of the inhibition zones were lower than that reported by Radünz et al. (2019) who investigated the antibacterial activity of clove oil on *L. monocytogenes* and reported the average inhibition zone diameter as 24.7 mm. Moreover, higher antibacterial activity of sage oil was published by Miladinović and Miladinović (2000) who reported that the antibacterial effect of sage oil against *Stap. aureus*, *E. coli*, and *B. subtilis*, and measured inhibition zone diameters of  $19.05 \pm 0.23$  mm,  $19.20 \pm 0.57$  mm and  $20.20 \pm 0.84$  mm, respectively. Eugenol, the main component of clove oil, has an inhibitory effect on *L. monocytogenes* (Tariq et al., 2019). The antibacterial activity of sage oil can be explained by the presence of components such as camphor, thujone and 1,8-cineole (Ghorbani and Esmacilizadeh, 2017).

The third group in Figure 2 consists with peppermint oil, rosemary oil and dill oil. In our study, the average zone diameters measured for rosemary oil, peppermint oil and dill oil were  $8.450 \pm 3.749$  mm,  $8.450 \pm 1.936$  mm and  $7.433 \pm 2.511$  mm, respectively. Additionally, 66.7% (20/30) of *L. monocytogenes* strains were found to be sensitive to peppermint oil, 60.0% (18/30) to rosemary oil and 53.3% (16/30) to dill oil. On the other hand, 33.3% (10/30) of *L. monocytogenes* strains were not sensitive to peppermint oil, 40.0% (12/30) to rosemary oil and 46.7% (14/30) to dill oil. Similar results has been previously reported by Hu et al., (2018) who determined the antibacterial activity of rosemary oil against *L. monocytogenes* strains and obtained the average zone diameters of 9.87 mm and 6.83 mm. In addition, they did not find antibacterial effect of peppermint oil on *L. monocytogenes*. de Aguiar et al. (2018) were also obtained that peppermint oil showed antibacterial effects against *Strep. suis* isolates with a zone diameter of 16.4 mm. Esmael et al., (2020) found that the antibacterial effect of rosemary oil against *S. aureus* and *Stap. epidermidis* and measured inhibition zone diameters of 12.5 mm and 15.18 mm, respectively. Opposite result has been previously reported by Elgayyar et al. (2001) who found that *L. monocytogenes* was not sensitive to rosemary oil and dill oil. In consistent with our results, the antibacterial activity of dill oil against *B. cereus*, *Stap. aureus*, *E. coli* and *Salmonella typhi* has also been reported by Hojjati (2017) who revealed that inhibition zone diameters measured for dill oil was found to be  $1.33 \pm 0.31$  cm,  $1.30 \pm 0.08$  cm,  $1.23 \pm 0.82$  cm, and  $1.44 \pm 0.06$  cm, respectively. According to statistical data, the group “b” containing black seed oil, pine turpentine oil and eucalyptus oil showed low antibacterial activity against pathogen bacteria in this study. While 20% (6/30) of *L. monocytogenes* strains were sensitive to black seed oil ( $4.233 \pm 3.586$  mm), 80% (24/30) of the strains were not sensitive to black seed oil. Inhibition zone diameters measured for pine turpentine oil and eucalyptus oil were found to be  $3.950 \pm 3.687$  mm and  $2.767 \pm 2.932$  mm, respectively. Moreover, 13.3% (4/30) of *L. monocytogenes* strains were sensitive to pine turpentine oil, and 6.7% (2/30) of strains were sensitive to eucalyptus oil.

In accordance with our results, Nair et al., (2005) reported that antibacterial activity of black seed oil with average inhibition zone diameters ranging from  $28.20 \pm 2.00$  mm to  $39.50 \pm 1.10$  mm was detected against *L. monocytogenes* strains. Similarly, Viuda-Martos et al., (2011) found that black seed showed antibacterial activity with an average 19 mm inhibition zone diameter against *L. innocua*. Finally, Ozogul et al., (2015) investigated the antibacterial activity of eucalyptus oil and pine oil against *E. coli* strains, and determined the average inhibition zone diameters of  $2.75 \pm 0.07$  mm and  $5.25 \pm 0.35$  mm, respectively.

The group entitled “a” with the lowest antibacterial activity in our study included juniper oil, laurel oil, cumin oil, St. John's Wort oil, garlic oil and ginger oil. We found all *L. monocytogenes* strains showed no sensitivity to garlic oil and ginger oil. At the same time, the average inhibition zone diameters for juniper oil, laurel oil, cumin oil, and St. John's wort oil were measured as  $0.267 \pm 1.015$  mm,  $0.150 \pm 0.822$  mm,  $0.133 \pm 0.730$  mm and  $0.100 \pm 0.548$  mm, respectively. In this group, we can say that these EOs did not have a good antibacterial activity on *L. monocytogenes* strains. In contrast to our findings, Canberi et al. (2020) examined the antimicrobial activity of juniper oil, laurel oil, cumin oil, St. John's Wort oil, garlic oil and ginger oil against *S. aureus* strains and found average zone diameters 6.49 mm, 6.33 mm, 6.51 mm, 6.21 mm, 6.27 mm and 6.25 mm, respectively. Moreover, antibacterial activity of garlic oil against *Stap. aureus* was measured by Khashan (2014) who reported that the zone of inhibition was 23 mm. When our results are compared with the results obtained Khashan (2014) and Canberi et al. (2020), garlic oil was more effective on *S. aureus*.

## CONCLUSIONS

In this study, the antibacterial activity of some EOs against *L. monocytogenes* strains from ready-to-eat foods has been demonstrated using disc diffusion method. Thyme oil is particularly promising by inactivating *L. monocytogenes* strains. Consequently, the EOs could be used alone or in combination with antibacterial agents to control food-borne bacteria, although more in vivo

studies on the safety and the effect of EOs are needed.

## CONFLICT OF INTEREST

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

## AUTHORS' CONTRIBUTIONS

PŞ designed the research. SA, HAC, and EŞ, carried out microbiological analyzes of the research and also made statistical analyzes. SA and PŞ wrote the paper. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## REFERENCES

- Alexopoulos, A., Kimbaris, A.C., Plessas, S., Mantzourani, I., Theodoridou, I., Stavropoulou, E., et al., (2011). Antibacterial activities of essential oils from eight Greek aromatic plants against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Anaerobe*, 17(6), 399-402. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.03.024>
- Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Olaimat, A.N., Almasri, W.E., Ayyash, M., Al-Holy, M.A., et al., (2020). Inactivation of *Salmonella* spp. in tahini using plant essential oil extracts. *Food Microbiol*, 86, 103338. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103338>
- Canberi, H.A., Şentürk, E., Aktop, S., Şanlıbaba, P. (2020). Determination of Antimicrobial Activity of Different Essential Oils Obtained from Plants on *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Foods. *Turkish JAF Sci Tech*, 8(4), 1012-1017. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i4.1012-1017.3368>
- Cava, R., Nowak, E., Taboada, A., Marin-Iniesta, F. (2007). Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. *J. Food Prot*, 70(12), 2757-2763.
- Cho, Y., Kim, H., Beuchat, L.R., Ryu, J.H. (2020). Synergistic activities of gaseous oregano and thyme thymol essential oils against *Listeria monocytogenes* on surfaces of a laboratory medium and radish sprouts. *Food Microbiol*, 86, 103357. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103357>

- Condò, C., Anacarso, I., Sabia, C., Iseppi, R., Anfelli, I., Forti, L., et al., (2020). Antimicrobial activity of spices essential oils and its effectiveness on mature biofilms of human pathogens. *Nat Prod Res*, 34(4), 567-574. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1490904>
- de Aguiar, F.C., Solarte, A.L., Tarradas, C., Luque, I., Maldonado, A., Galán-Relaño, Á., Huerta, B. (2018). Antimicrobial activity of selected essential oils against *Streptococcus suis* isolated from pigs. *Microbiology open*, 7(6), e00613. <https://doi.org/10.1002/mbo3.613>
- Desai, A.N., Anyoha, A., Madoff, L.C., Lassmann, B. (2019). Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: A review of ProMED reports from 1996 to 2018. *Int J Infect Dis*, 84, 48-53. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.04.021>
- Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A., Mount, J.R. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J Food Prot*, 64(7), 1019-1024. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.7.1019>
- Esmael, A., Hassan, M.G., Amer, M.M., Abdelrahman, S., Hamed, A.M., Abd-raboh, H.A., Foda, M.F. (2020). Antimicrobial activity of certain natural-based plant oils against the antibiotic-resistant acne bacteria. *Saudi J Biol Sci*, 27(1), 448-455. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.006>
- Fancello, F., Petretto, G.L., Marceddu, S., Venditti, T., Pintore, G., Zara, G., et al., (2020). Antimicrobial activity of gaseous *Citrus limon* var *pompia* leaf essential oil against *Listeria monocytogenes* on ricotta salata cheese. *Food Microbiol*, 87, 103386. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103386>
- Ghorbani, A., Esmailizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med*, 7(4), 433-440. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>
- Gomez, D., Azon, E., Marco, N., Carraminana, J.J., Rota, C., Arino, A., Yangüela, J. (2014). Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food Microbiol*, 42, 61-65. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.017>
- Gouveia, A.R., Alves, M., Silva, J.A., Saraiva, C. (2016). The antimicrobial effect of rosemary and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* in sous vide cook-chill beef during storage. *Procedia Food Sci*, 7, 173-176. doi: 10.1016/j.profoo.2016.10.001
- Guo, J., Gao, Z., Li, G., Fu, F., Liang, Z., Zhu, H., Shan, Y. (2019). Antimicrobial and antibiofilm efficacy and mechanism of essential oil from Citrus Changshan-huyou YB chang against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 105, 256-264. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.014>
- Güneş, S., Tihmınlıoğlu, F. (2017). *Hypericum perforatum* incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. *Int J Biol Macromol*, 102, 933-943. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.080>
- Herman, A., Tambor, K., Herman, A. (2016). Linalool affects the antimicrobial efficacy of essential oils. *Curr Microbiol*, 72(2), 165-172. doi: 10.1007/s00284-015-0933-4
- Hojjati, M. (2017). Chemical constituents and antibacterial activity of Dill (*Anethum graveolens*) essential oil. *Proceedings of the 15th ASEAN Conference on Food Science and Technology*, November 14-17, Vietnam, 260-263.
- Hu, W., Jiang, A., Xiu, Z., Feng, K. (2018). Effect of thyme oil-alginate-based coating on quality and microbial safety of fresh-cut apples. *J Sci Food Agric*, 98(6), 2302-2311. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8720>
- Imane, N.I., Fouzia, H., Ahmed, E., Ismail, G., Idrissa, D., Mohamed, K. et al., (2020). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. *Eur J Integr Med*, 101074. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101074>
- Jarzębski, M., Smulek, W., Baranowska, H.M., Masewicz, Ł., Kobus-Cisowska, J., Ligaj, M., Kaczorek, E. (2020). Characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) and the impact of filtration process on bioactive extracts incorporated into carbohydrate-based hydrogels.

- Food Hydrocoll*, 104, 105748. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105748>
- Khashan, A.A. (2014). Antibacterial Activity of Garlic Extract (*Allium Sativum*) Against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Global Journal of Bioscience and Biotechnology*, 3(4), 346-348.
- Kuan, C.H., Rukayadi, Y., Ahmad, S.H., Wan Mohamed Radzi, C.W.J., Kuan, C.S., Yeo, S. K., et al., (2017). Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis isolated from vegetable farms and retail markets in Malaysia. *Int Food Res J*, 24(4), 1831-1839.
- Lee, G., Kim, Y., Kim, H., Beuchat, L.R., Ryu, J.H. (2018). Antimicrobial activities of gaseous essential oils against *Listeria monocytogenes* on a laboratory medium and radish sprouts. *Int J Food Microbiol*, 265, 49-54. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.001>
- Mariottini, G.L., Grice, I.D. (2016). Antimicrobials from Cnidarians. A new perspective for anti-infective therapy? *Mar Drugs*, 14(3), 48. <https://doi.org/10.3390/md14030048>
- Miladi, H., Zmantar, T., Chaabouni, Y., Fedhila, K., Bakhrouf, A., Mahdouani, K., Chaieb, K. (2016). Antibacterial and efflux pump inhibitors of thymol and carvacrol against food-borne pathogens. *Microb Pathog*, 99, 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.08.008>
- Miladinović, D., Miladinović, L. (2000). Antimicrobial Activity of Essential Oil of Sage from Serbia. *FACTA UNIVERSITATIS Series: Physics, Chemistry and Technology*, 2(2), 97-100.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Sci Technol*, 38(5), 565-570. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.012>
- Moussaoui, F., Alaoui, T. (2016). Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pac J Trop Biomed*, 6(1), 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.024>
- Nair, M.K.M., Vasudevan, P., Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 16(5), 395-398. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.04.006>
- Nazlı, O., Baygar, T., Dönmez, Ç.E.D., Dere, Ö., Uysal, A.İ., Aksözek, A. et al., (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of polyurethane/*Hypericum perforatum* extract (PHPE) composite. *Bioorg Chem*, 82, 224-228. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.08.017>
- Nichols, M., Conrad, A., Whitlock, L., Stroika, S., Strain, E., Weltman, A., et al., (2020). Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infections retrospectively linked to unpasteurized milk using whole-genome sequencing. *Int J Dairy Sci*, 103(1), 176-178. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16703>
- Oggiano, G.P. (2015). Food Safety and Hygiene. *J Nutrition Health Food Sci*, 3(3), 1-2. <http://dx.doi.org/10.15226/jnhfs.2015.00147>
- Ozogul, Y., Kuley, E., Uçar, Y., Ozogul, F. (2015). Antimicrobial impacts of essential oils on food borne-pathogens. *Recent Pat Food Nutr Agric*, 7(1), 53-61.
- Paparella, A., Taccogna, L., Aguzzi, I., Chaves-López, C., Serio, A., Marsilio, F., Suzzi, G. (2008). Flow cytometric assessment of the antimicrobial activity of essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 19(12), 1174-1182. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.01.002>
- Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Sci Technol*, 36(7), 679-684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)
- Sakkas, H., Papadopoulou, C. (2017). Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *J Microbiol Biotechnol*, 27(3), 429-438. <https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024>
- Stefanakis, M.K., Touloupakis, E., Anastasopoulos, E., Ghanotakis, D., Katerinopoulos, H. E., Makridis, P. (2013). Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food control*, 34(2), 539-546. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.024>

- Stratakos, A.C., Ijaz, U.Z., Ward, P., Linton, M., Kelly, C., Pinkerton, L., et al., (2020). In vitro and in vivo characterisation of *Listeria monocytogenes* outbreak isolates. *Food Control*, 107, 106784. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106784>
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M.A., Prabhakar, A., et al., (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microb Pathog*, 134, 103580. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>
- Trinetta, V., Morgan, M.T., Coupland, J.N., Yucel, U. (2017). Essential oils against pathogen and spoilage microorganisms of fruit juices: use of versatile antimicrobial delivery systems. *J Food Sci*, 82(2), 471-476. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13614>
- U.S. Food and Drug Administration (USFDA) (2019). Title 21-food and drugs. Part 182-Substances Generally Recognized as Safe. Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates); final rule. Federal Register. Revised as of April 1, 2019. Available at: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20> Accessed date: 12 May 2020.
- Vázquez-Sánchez, D., Cabo, M.L., Rodríguez-Herrera, J.J. (2015). Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Food Sci Technol Int*, 21(8), 559-570. <https://doi.org/10.1177/1082013214553996>
- Vázquez-Sánchez, D., Galvão, J.A., Ambrosio, C.M., Gloria, E.M., Oetterer, M. (2018). Single and binary applications of essential oils effectively control *Listeria monocytogenes* biofilms. *Ind Crop Prod*, 121, 452-460. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.045>
- Viuda-Martos, M., Mohamady, M.A., Fernández-López, J., ElRazik, K.A., Omer, E.A., Pérez-Alvarez, J.A., Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22(11), 1715-1722. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.003>
- Wińska, K., Maćzka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., Szumny, A. (2019). Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- Xiao, S., Cui, P., Shi, W., Zhang, Y. (2020). Identification of essential oils with activity against stationary phase *Staphylococcus aureus*. *BMC Complement Med Ther*, 20(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02898-4>
- Yagi, S., Babiker, R., Tzanova, T., Schohn, H. (2016). Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. *Asian Pac J Trop Med*, 9(8), 763-770. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.009>
- Zhu, Q., Gooneratne, R., Hussain, M.A. (2017). *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*, 6(3), 21. <https://doi.org/10.3390/foods6030021>





**BEYAZ PEYNİRDEN İZOLE EDİLEN *CRYPTOCOCCUS HUMICOLA*  
 SUŞLARININ STARTER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dilek Uzundağ<sup>1\*</sup>, Selda Arslan<sup>1</sup>, Zehranur Yüksekdağ<sup>1</sup>,  
 Yavuz Beyatlı<sup>1</sup>, Abdulla Sakallı<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Abd, Ankara, Türkiye  
<sup>2</sup>İskenderun Teknik Üniversitesi, Endüstri Mühendisliği Bölümü, İskenderun, Hatay, Türkiye

Geliş / Received: 04.06.2020; Kabul / Accepted: 09.08.2020; Online baskı / Published online: 15.08.2020

Uzundağ, D., Arslan, A., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. (2020). Beyaz peynirden izole edilen *Cryptococcus humicola* suşlarının starter aktiviteilerinin araştırılması. GIDA (2020) 45(5) 872-880 doi: 10.15237/gida.GD20076

Uzundağ, D., Arslan, A., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. (2020). Investigation of starter activity of the yeast species *Cryptococcus humicola* isolated from white cheese. GIDA (2020) 45(5) 872-880 doi: 10.15237/gida.GD20076

**ÖZ**

Starter kültür, kontrollü koşullarda standart kültür elde etmek için endüstride kullanılan mikroorganizmalardır. Mayalar destekleyici kültürler olarak fermente ürünlerin olgunlaşmasında, aroma ve kıvamın gelişmesinde katkıda bulunmaktadır. *Cryptococcus humicola* suşları birçok peynir çeşidinde doğal olarak bulunmaktadır. Bu mayanın gıda endüstrisinde kullanılabilmesi için starter özelliklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada peynirden izole edilen 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatlarının bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Maya izolatlarının proteolitik ve lipolitik aktivite, maya içeren steril disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlara göre tayin edilmiştir. Mayaların proteolitik aktivite sonucunda oluşturdukları şeffaf zon çaplarının büyüklükleri 10.23-17.40 mm arasında ölçülürken, lipolitik aktivite sonucunda oluşan zon çapları ise 9.12-12.44 mm arasında değişmiştir. 8 maya izolatından 2 izolat (*C. humicola* MBP2 ve MBP3) üreyi hidroliz edemezken, 1 izolat (*C. humicola* MBP7) üreyi güçlü hidroliz etmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında maya izolatlarının (MBP4 ve MBP6 izolatları hariç) en yüksek canlılığın %4 NaCl konsantrasyonunun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *C. humicola* MBP4 ve MBP6 izolatları hariç diğer izolatların 37°C'de daha yüksek canlılık değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Mayaların amilaz enzim aktiviteilerinin 8.87-14.54 mm arasında değişmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Maya, starter aktivite, proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, *Cryptococcus humicola*.

**INVESTIGATION OF STARTER ACTIVITY OF THE YEAST SPECIES  
*CRYPTOCOCCUS HUMICOLA* ISOLATED FROM WHITE CHEESE**

**ABSTRACT**

Starter culture are microorganisms used in industry to achieve standard culture under controlled conditions. Yeasts as supportive cultures contribute to the development of ripening, aroma and

\* Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author

✉ dilekuzundag@gmail.com

☎ (+90) 507 881 4885

Dilek Uzundağ; ORCID no: 0000-0002-6256-574X

Selda Arslan; ORCID no: 0000-0002-1711-8991

Zehranur Yüksekdağ; ORCID no: 0000-0002-0381-5876

Yavuz Beyatlı; ORCID no: 0000-0002-0458-4475

Abdulla Sakallı; ORCID no: 0000-0002-2488-7318

consistency of fermented products. *Cryptococcus humicola* strains are naturally found in many cheese varieties. To use this yeast in the food industry, it is very important to determine the starter properties. In this study, it was aimed to determine some starter culture properties of 8 *Cryptococcus humicola* yeast isolates isolated from cheese. Proteolytic and lipolytic activities of these isolates were determined according to clear zones around the sterile discs. The diameters of clear zones of the yeasts were measured in the range of 10.23 mm to 17.40 mm at proteolytic activity whereas zone diameters were measured in the range between 9.12 mm and 12.44 mm at lipolytic activity. While two isolates (*C. humicola* MBP2 and MBP3) from eight yeast isolates could not hydrolyze urea, one isolate (*C. humicola* MBP7) effectively hydrolyzed urea. At different salt concentrations, yeast isolates (except MBP4 and MBP6 isolates) were found to have the highest viability at 4% NaCl concentration. Except for *C. humicola* MBP4 and *C. humicola* MBP6 isolates, other isolates had higher viability values at 37°C. The amylase enzyme activity zone diameters of the yeasts were measured between 8.87-14.54 mm.

**Keywords:** Yeast, starter activity, proteolytic activity, lipolytic activity, *Cryptococcus humicola*.

### GİRİŞ

Beslenme alışkanlıklarımızda süt ve süt ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Dünyada süt ürünleri içinde en fazla tüketilen süt ürünü ise peynirdir (Eroğlu ve Özcan, 2018). Peynir içerdiği yüksek biyolojik değerli proteinler, vitaminler ve mineraller bakımından besin değeri bakımından oldukça zengindir. Dünyada ve ülkemizde hem peynir üretimi hem de peynir tüketimi gün geçtikçe artmaktadır (Kara ve Akkaya, 2015).

Starter kültürler çeşitli süt ürünlerinin üretiminde lezzet, yapı, tekstür ve görünüm bakımından arzu edilen nitelikleri kazandırmak amacıyla, süte katılan seçilmiş mikroorganizmaların kültürleri olarak tanımlanırlar. Endüstriyel boyutta Beyaz peynir üretiminde ise pastörize inek, koyun ve keçi sütleri kullanılır. Süte uygulanan pastörizasyon işlemleri, patojen ve zararlı mikroorganizmaların yanında mevcudiyeti arzu edilen ve starter kültür olarak bilinen mikroorganizmaların çoğunun da tahrip olmasına neden olur. Bu nedenle uygulanan ısı işlemleri sonrası arzu edilen tat ve aroma da peynir elde edebilmek için belirli mikroorganizmaların saf veya karışık kültürlerinin kullanımı teknolojik bir zorunluluk haline gelir (Tekinşen, 2000; Oğuz ve Andiç, 2020). Ancak ülkemizde endüstriyel boyutta starter kültür üretiminin olmaması, peynir üreticilerinin dışa bağımlı hale getirmiştir bu da ülkemizdeki starter kültür çalışmalarına olan ilgiyi artırmaktadır (Soran ve Çelik, 2018).

Peynir çeşitlerine özgü aromayı, tadı ve yapısal özellikleri belirleyen ise peynir mikrobiyotasındaki mikroorganizmalardır. Peynir üretiminden

peynirin olgunlaşmasına kadar geçen sürede kullanılan mikroorganizmalar birincil starter kültürler ve ikincil starter kültürleri olarak gruplandırılırlar. Birincil starter kültürler arasında çoğunlukla laktik asit bakterileri yer alır ve bu bakteriler laktozdan laktik asit üretimi ile peynirin karakteristik tadı için gerekli bir takım biyokimyasal olaylardan sorumludurlar (Irlinger vd., 2017). İkincil starter kültürler ise mayalar, küfler, propiyonik asit bakterileri, korineformlar, stafilkokoklar ve starter olmayan laktik asit bakterileridir (Gürsoy ve Türkmen, 2018). Oldukça heterojen olan bu grup peynirin olgunlaşma sürecinde aktif rol oynamaktadır (Picon, 2018). Peynirin olgunlaşma aşamasında ikincil starter kültürlerin aktiviteleri, peynirin olgunlaşma süresini, endüstriyel boyutta üretilen peynirin tipini ve en önemlisi oluşan peynirin lezzetini etkilemektedir (Cotter ve Beresford, 2017; Lee vd., 2018; Oğuz ve Andiç, 2020).

Peynir tipi ile yakın ilişkili olan mayalar, peynirlerin sert veya yarı sert olması için kullanılır. Mayalar kalıplardan çıkarılan taze peynirlerin üzerine çözelti halinde püskürtülerek ya da istenilen peynir tipine göre kazanlarda çiğ süte değişen oranlarda eklenir (De Vuyst vd., 2016; Karaman vd., 2018). Tüm bunlara ilaveten mayaların değişik tipteki peynirlerin mikrobiyotasında önemli bir yere sahip olması destek kültür olarak kullanılabilmesi açısından dikkat çekicidir (Suzzi vd., 2001).

Mayaların olgunlaşma süresince başlıca katkısı ise özellikle ortam pH'ını düşüren laktik asidi kullanarak bakteriyel gelişmeyi desteklemek ve

olgunlaşmanın ikinci kademesini başlatmaktadır. Mayaların olgunlaşma süresince peynir pH'sında meydana getirdiği bu değişiklik sadece laktik asit kullanımı ile ilgili olmayıp, proteolizden kaynaklanan alkali metabolizma ürünleri de pH'yı düşürebilmektedir (Suzzi vd., 2001; Rossouw vd., 2016). Bunun yanında mayaların peynir lezzet ve aromasına katkıları, bazı türlerin genellikle laktozu fermente etme ve bunun sonucu olarak etanol, asetaldehit, etil asetat ve etil butirat oluşturmalarına bağlanabilir. Bazı mayaların yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olmaları, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır. Bununla birlikte mayalar, diğer mikroorganizmalar için gerekli B vitaminleri; pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin gibi bazı gelişme faktörlerini salgılayarak gelişimi desteklemektedir (Ferreira ve Viljoen, 2003).

Mayaların enzimatik özellikleri, genellikle proteinaz ve peptidazların aktiviteleri sonucu meydana gelen acı peptitlerin parçalanmasında da önemli rol oynamaktadır. Esas itibarıyla, acı peptitlerin daha küçük moleküllü peptitlere ve aminoasitlere parçalanmasında mayaların aminopeptidazları ve karboksipeptidazları katkıda bulunmaktadır (Wyder, 2001). Kısaca mayaların peynir üretiminde doğal veya kontrollü destek kültür olarak kullanımı ile ilgili özellikler; laktoz fermantasyonu, aroma bileşenleri oluşumu, laktat asimilasyonu, birincil starter ile olumlu interaksyonu, proteolitik ve lipolitik özellikler olarak özetlenebilir (Fröhlich-Wyder vd., 2019).

Starter kültür olarak en büyük ve kıymetli grubu oluşturan mikroorganizmalar arasında laktik asit bakterileri (LAB) kullanılmaktadır. Gıda kaynaklı çoğu LAB, GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsünde olmasına rağmen, LAB arasında fazlaşan antibiyotik dirençlilik ve bu dirençliliğin patojen bakterilere aktarılabiliyor olması, LAB'ın özellikle ısıtma işlemi yapılmadan tüketilen gıdalarda starter kültür olarak kullanılmasını sınırlamaktadır (Ksonzeková vd., 2016). Bu nedenle peynirlerden izole edilen mayaların starter kültür olarak değerlendirilmeleri üzerinde araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır.

Bu amaçla bu çalışmada, beyaz peynirden izole edilen 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatının proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, üreyi hidroliz etme yeteneği, farklı tuz konsantrasyonlarında ve sıcaklık derecelerinde canlılık miktarları ve amilaz enzim aktivitesi gibi bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Çalışmada Kullanılan Mayalar

Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda daha önce yürütülmüş, Abudureyimu MAIHEBUBAI'nın Doktora Tezi kapsamında kullanılmış olan Beyaz peynirden izole edilen ve API 32C (bioMerieux) sistemi ile biyokimyasal tanıları yapılmış 8 maya izolatı kullanılmıştır.

### Mayaların Proteolitik, Lipolitik ve Amilaz Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Mayaların proteolitik, lipolitik (Piotr vd., 2005) ve amilaz enzim aktivitelerinin belirlenmesinde (Kim vd., 2004) spot agar yönetimi kullanılmıştır. Mayalar YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) sıvı besiyerinde 37°C de 48 saatte aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerin optik yoğunlukları spektrofotometre de (Hithachi, Japonya) 600 nm'de 0.6'ya ayarlanmıştır. Proteolitik aktivitenin belirlenmesinde Skim milk agar (SMA) (3 g beef ekstrakt, 5 g pepton, 10 g skim milk, 15 g agar, 500 mL saf su), lipolitik aktivitenin belirlenmesinde Tribütirin agar (TA) (5 g pepton, 3 g yest ekstrakt, 10 mL Tribütirin, 15 g agar ve 1000 mL saf su) ve amilaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde ise Nişasta hidroliz agar (NA) (5 g beef ekstrakt, 20 g çözülebilir nişasta, 10 g triptoz, 5 g NaCl, 15 g agar, 1 L saf su) kullanılmıştır. Sterilizasyondan sonra Petri kutularına dökülen besiyerlerinin üzerine 10 µL aktif maya kültürlerini içeren 6 mm çaplı steril diskler yerleştirilmiş ve 30°C de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Diskler etrafında oluşan zonların çapı dijital kumpas ile ölçülmüştür. Proteolitik ve lipolitik aktivite de oluşan zon çapları d<2 mm: Enzim aktivitesi düşük, d= 2-10 mm: Enzim aktivitesi orta, d>10 mm: Enzim aktivitesi yüksek olarak değerlendirilmiştir. Amilaz enzim aktivitesinde

zonların daha berrak görünmesini sağlamak amacıyla besiyerine birkaç damla Gram iyot çözeltisi (%0.5 iyot, 1 g potasyum iyodür, pH 7) ilave edilmiştir.

**Mayaların Üreyi Hidroliz Edebilme Yeteneği**  
YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose) sıvı besiyerinde aktifleştirilen ve optik yoğunlukları spektrofotometre'de 600 nm de 0.6'ya ayarlan kültürlerin üre hidroliz etme yetenekleri Üre besiyerinde (20 g üre, 5 g NaCl, 2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g pepton, 1 g glukoz, 12 mL fenol kırmızısı, 2 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 100 mL saf su karıştırılarak pH 7'ye ayarlanmıştır) belirlenmiştir. Besiyeri renginin sarıdan pembeye dönüşmesi üreaz pozitif olarak yorumlanmıştır (Kim vd., 2004).

#### **Mayaların Farklı Tuz Konsantrasyonlarında ve Farklı Sıcaklıklarda Canlılıkları**

Mayaların farklı tuz konsantrasyonlarında (%4, %6, %10 NaCl) (Abdel Nasser ve Moghaz, 2010) ve farklı sıcaklıklarda (30°C ve 37°C) (Barnett vd., 2000) canlı mikroorganizma sayıları seri dilüsyonlar yapılarak log KOB/mL cinsinden hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

#### **İstatistiksel Analizler**

Tüm çalışmalar, her çalışma için paralel sayısı değişmekle birlikte genel olarak üç paralelli ve iki tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler bu tekrarların ortalaması  $\pm$  standart sapma (SD) şeklinde verilmiştir. Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan istatistiksel analizlerde SPSS Inc. Software (22.0 Versiyonu; SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılmıştır. Mayaların proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin zon çapları arasında korelasyon olup olmadığı korelasyon testi ile analiz edilmiştir. Mayaların farklı tuz konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın anlamlı olup olmadığı LSD ve Tukey ( $P < 0.05$ ) testleri ile analiz edilmiştir. 8 maya izolatının iki farklı sıcaklıkta canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın anlamlı olup olmadığı t-Testi ( $P < 0.05$ ) ile analiz edilmiştir.

#### **SONUÇ VE TARTIŞMA**

Artan nüfus, kırsaldan kente göç ve sanayileşme gibi faktörler endüstriyel gıda üretimini kaçınılmaz kılmıştır. Endüstriyel ölçekte fermente gıda

üretiminde kaliteyi her zaman aynı ölçüde koruyabilmek geleneksel yöntemlerle mümkün değildir. Bu amaçla, fermente gıda üretiminde hem standartlaşmaya hem de kalite kontrolüne olanak tanıyan starter kültürlerin kullanılması bir zaruriyettir (Kieliszek vd., 2017).

Starter kültürlerin temel işlevleri arasında; asit oluşturma, proteoliz ve lipoliz, lezzet ve aroma bileşiklerinin oluşumunda rol alması ve zararlı bakterilerin inhibisyonu sayılabilir (Andrade vd., 2017). Mayaların starter aktivite özelliklerinden dolayı endüstride kullanımlarına önem verilmektedir (Andrade vd., 2017). Yapılan araştırmalara göre peynirlerden izole edilen maya türlerinin çeşitlilik gösterdiği görülmektedir. Buna rağmen aralarında *Kluyveromyces marxianus*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Trichosporon cutaneum* (beigelü), *Rhodotorula mucilaginosa*, *Torulasporea delbrückii*'nin bulunduğu 10 tür en sık rastlanılan mayalardır (Suzzi vd., 2001). Peynirlerde tuzlamayı takiben maya biyotasında, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* ve *T. delbrückii* gibi laktoz pozitif mayalar hâkim olmaktadır. Olgunlaşma koşulları; özellikle de sıcaklık ve bağıl nem, peynirdeki maya biyotası kompozisyonunu önemli ölçüde etkilemektedir (Wyder, 2001). Asit üretimine dâhil olmayan ancak, olgunlaşma aşamasında yardımcı destek mikroorganizma olarak mayalar (*K. marxianus*, *K. lactis*, *D. hansenii*, *Geothricum candidum*, *Dipodascus capitatus*, *S. cerevisiae*, *S. unisporus*, *S. exiguus*, *Candida catenulata*, *C. intermedia*) oldukça önemli bir role sahiptir (Oğuz ve Andiç, 2019).

Bazı mayaların yüksek lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olmaları, aminoasit, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde büyük rol oynamaktadır (Azad ve Tomar, 2016). Önemli starter kültür özelliklerinden biri proteolitik aktivite olduğu için bu çalışmada 8 *Cryptococcus humicola* maya izolatının proteolitik aktiviteleri agar spot yöntemi ile belirlenmiştir. Mayaların proteolitik aktiviteleri sonucunda oluşturdukları en büyük şeffaf zon çapı *C. humicola* MBP7'de (17.40 mm) tespit edilirken, en küçük şeffaf zon çapı *C. humicola* MBP3'te (10.27 mm) belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. İzolatların proteolitik, lipolitik, amilaz enzim aktiviteleri ve üreyi hidroliz edebilme yetenekleri

Table 1. Proteolytic, lipolytic, amylase enzyme activities, and ability to hydrolyze urea of isolates

İzolat	Proteolitik aktivite zon çapı (mm)	Lipolitik aktivite zon çapı (mm)	Amilaz enzim aktivite zon çapı (mm)	Üreyi hidroliz edebilme yetenekleri
Isolates	Proteolytic activity zone diameter (mm)	Lipolytic activity zone diameter (mm)	Amylase enzyme activity zone diameter (mm)	Ability to hydrolyze urea
<i>C. humicola</i> MBP1	13.22±0.32	10.47±0.20	14.54±1.88	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP2	16.20±0.10	11.05±0.73	12.43±0.22	Yok (No Ability)
<i>C. humicola</i> MBP3	10.23±0.01	10.28±0.83	13.09±0.68	Yok (No Ability)
<i>C. humicola</i> MBP4	13.80±0.83	9.96±0.32	13.49±0.55	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP5	12.90±0.45	9.12±1.02	10.96±0.64	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP6	11.86±0.20	10.68±1.15	8.87±0.19	Zayıf (Weak)
<i>C. humicola</i> MBP7	17.40±0.08	12.44±1.21	12.78±1.09	Güçlü (Strong)
<i>C. humicola</i> MBP8	11.98±0.16	9.84±0.99	12.42±0.51	Zayıf (Weak)

Mayaların peynir mikrobiyotasında önemli bir yere sahip olduğu, proteolitik ve lipolitik enzimleri, alkali ürünler üretimi ve peynir kitlesine penetrasyonları ile olgunlaşmada önemli bir rol üstlenmektedirler (Azad ve Tomar, 2016; Kieliszek vd., 2017).

Sütün yapısında bulunan lipaz enzimi ile starter kültür olarak kullanılan mayaların ürettiği ekstraselüler lipaz enzimleri vasıtasıyla, sütün temel bileşenlerinden olan trigliseritler, gliserol ve serbest yağ asitlerine hidroliz olmaktadır (Budak vd., 2016). Serbest yağ asitleri de peynirin tat ve aroma gelişimine yardımcı olmaktadır. Bir çalışmada yardımcı starter kültür olarak kullanılan mayaların proteolitik ve lipolitik aktiviteleri sonucu peynirde tat ve koku oluşturduğu belirtilmiştir (Carrasco vd., 2016). Peynir olgunlaşması bakımından katkısı olabilecek

mayaların lipolitik özellikler taşıması peynirin lezzeti açısından önemli olduğundan çalışmamızda, mayaların lipolitik aktiviteleri mayaları içeren disklerin etrafında oluşan şeffaf zonlara göre tayin edilmiştir. Sekiz maya izolatında en büyük zon çapı 12.44 mm ile *C. humicola* MBP7'da tespit edilirken, en küçük şeffaf zon çapı 9.12 mm ile *C. humicola* MBP5 mayasında bulunmuştur. Mayaların proteolitik ve lipolitik aktivite zon çapları arasında korelasyon olup olmadığı Pearson Korelasyonuna göre tespit edilmiş ve bir korelasyon ( $r=0.661$ ) olduğu tespit edilmiştir.

Feta peyniri salamurasından izole edilen *S. cerevisiae* suşlarının *D. hansenii* suşlarından daha fazla lipolitik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Her iki mikroorganizmanın da lipolitik özellikleri bakımından Feta peyniri olgunlaşmasına katkıda bulunabilecekleri savunulmuştur (Bintsis vd.,

2003). Guerzoni vd., (2001) çeşitli kaynaklardan izole edilen 12 *Yarrowia lipolytica* türünün lipolitik aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Çalışmalarda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, farklı maya türlerinin farklı düzeylerde proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olabilecekleri ve bununda peynirlerin olgunlaşmasında katkısı olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Mayalar üreyebilmek için azot kaynağına ihtiyaç duyarlar. Fermantasyon sırasında arjinin aminoasidi yan ürün olarak üreyi oluşturur. Üre, azot kaynağı açısından zengindir ve mayalar için de önemli azot kaynağıdır. Çünkü mayaların gelişimi için azot kaynağının azalmaması gerekir (Wu vd., 2017). Üre, bazı mikroorganizmalar tarafından hidroliz edilerek amonyak ve karbamata dönüşür. Amonyak alkali madde olduğundan ortamın asitliğini azaltarak pH'nın yükselmesi açısından önemlidir (Escribano vd., 2017). Araştırmada aktif maya kültürleri %2 oranında üre içeren YEPD besiyerine inoküle edilmiştir. Besiyeri renginin sarıdan pembeye dönüşümü üre hidroliz yeteneği olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 8 maya izolatının üreyi hidroliz edebilme yeteneği araştırılmış ve çalışmada kullanılan suşlardan *C. humicola* MBP2, MBP3'ün üreyi hidroliz edebilme yeteneği yok iken, MBP1, MBP4, MBP5, MBP6, MBP8 izolatlarının üreyi hidroliz edebilme yeteneğinin zayıf olduğu, *C. humicola* MBP7'nin ise üreyi hidroliz edebilme yeteneğinin güçlü olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). Mayaların üreyi hidroliz etme yeteneği ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tuza dirençli olarak canlılığını sürdüren mayalar peynir etrafında mikrofilm tabakası oluştururlar ve peynirin ekosistem içerisinde gelişimlerini sağlayarak peynirin tat ve aromasına katkı sağlarlar (Asada vd., 2020). Bu çalışmada 8 maya izolatının farklı NaCl konsantrasyonlarında (%0, %4, %6, %10) canlı hücre sayıları tespit edilmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak canlılık miktarlarındaki değişimler Çizelge 2'de verilmiştir. Mayaların kontrol besiyerinde (YEPD) canlı hücre sayıları 3.10 log KOB/mL (MBP6) ile 2.71

log KOB/mL (MBP2) arasında olduğu tespit edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında mayaların canlı hücre sayıları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $P>0.05$ ) Mayaların en yüksek canlılık gösterdikleri tuz konsantrasyonu %4 iken, en düşük canlılık gösterdikleri tuz konsantrasyonu ise %10'dur. Mayalar %4'lük NaCl'ü YEPD besiyerinde (MBP4 ve MBP6 izolatları hariç kontrol besiyerinde daha iyi gelişme göstermişlerdir) daha iyi gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir.

Hücredeki neredeyse tüm biyokimyasal süreçleri etkileyen termodinamik parametrelerden biri sıcaklıktır. Bu parametre canlı hücrelerin ölçülmesi için araştırma grupları tarafından kabul edilmiştir. Sıcaklığın ayarlanması, mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Liu vd., 2017). Mayalar için sıcaklık, beslenme ve gelişme açısından oldukça önemlidir. Sıcaklık enzim aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Sıcaklıkta meydana gelecek değişiklik oluşan metabolizma ürünlerini de etkilemektedir (Molon ve Zdrag-Tecza, 2016). Bu çalışmada *C. humicola* türüne ait 8 maya kültürünün 30°C ve 37°C de canlı hücre sayıları Çizelge 2'de verilmiştir. *C. humicola* türüne ait 8 izolatın hepsi her iki sıcaklık derecesinde de farklı miktarlarda canlılık gösterirken, izolatlar içinde *C. humicola* MBP4 izolatının 30°C'de en yüksek canlılığa (3.95 log KOB/mL) sahip olduğu görülmektedir. MBP4 ve MBP6 izolatları hariç diğer izolatların 37°C'de daha iyi gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Mayaların her iki sıcaklıktaki canlı hücre sayıları arasındaki farklılığın ( $P=0.00$ ) anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Mayaların soğuğa adaptasyonu, mevcut karbon kaynaklarını kullanmak için hücre dışı hidrolitik enzimlerin üretilmesi ile mümkün olmaktadır ve bu yolla besin geri dönüşümü ve organik madde mineralizasyonuna katkıda bulunmaktadırlar (Baeza vd., 2017). Amilazlar, gıda, deterjan, çamaşırhane, tekstil, unlu mamuller ve biyoyakıtlar gibi endüstrilerde kullanım için büyük potansiyele sahiptir. Özellikle gıda sektöründe amilaz enzim aktivitesine sahip mikroorganizmaların belirlenmesi çok önemlidir.

Mayalarda bu alanda uygun adaylar olarak görülmektedirler. Mayaların amilaz enzim aktivitesi, mayanın fermentasyon için ihtiyaç duyduğu şekerin oluşmasını, ekmeğin oluşmasını sağlayan mayalarda hamurun kıvamlı olmasını sağlamaktadır (Carrasco vd., 2016; Selwal vd., 2017). Bu çalışmada, mayaların amilaz enzim aktivitesi araştırılmasında agar spot yönetimi

kullanılarak mayaların steril disk etrafında oluşturduğu berrak zon çapı ölçülmüştür ve Çizelge 1’de verilmiştir. Yüksek amilaz aktivitesi sahip olan izolatlar olarak *C. humicola* MBP1 (14.535 mm), *C. humicola* MBP4 (13.49 mm), *C. humicola* MBP3 (13.09 mm) ve *C. humicola* MBP7 (12.78 mm) tespit edilmiştir.

Çizelge 2. İzolatların farklı tuz konsantrasyonunda ve farklı sıcaklıklarda canlı hücre sayısı (log KOB/mL)

Table 2. The number of live cells of the isolates at different salt concentrations and temperatures (log CFU/mL)

İzolatlar Isolates	Canlı hücre sayısı (log KOB/mL) Live cell count (log CFU/mL)				Canlı hücre sayısı (log KOB/mL) Live cell count (log CFU/mL)	
	Tuz Salt				Sıcaklık Temperature	
	Kontrol (YPD) Control	%4 NaCl	%6 NaCl	%10 NaCl	37°C (Kontrol) (Control)	30°C
MBP1	2.88±0.40	3.09±1.08	2.88±0.07	2.69±0.53	3.31±0.03	3.24±0.03
MBP2	2.71±0.70	3.26±1.80	2.91±0.76	2.59±0.07	3.20±0.21	2.97±0.53
MBP3	3.04±0.40	3.17±0.73	2.82±0.83	2.50±0.21	3.25±0.95	3.23±0.07
MBP4	2.89±1.00	2.77±0.33	2.73±0.40	2.63±1.55	3.32±0.70	3.95±0.47
MBP5	2.87±0.66	3.18±0.61	2.81±1.14	2.62±0.98	3.27±0.61	3.20±0.73
MBP6	3.10±0.10	3.00±0.40	2.98±0.66	2.64±0.53	3.20±0.09	3.26±0.12
MBP7	2.87±0.66	2.89±0.48	3.14±1.47	2.66±1.90	3.33±0.60	2.82±0.66
MBP8	3.06±0.33	3.07±1.8	2.51±1.21	2.60±0.03	3.17±0.07	3.04±0.87

Yapılan literatür taramalarında *C. humicola* türünde proteolitik aktivite, lipolitik aktivite, üreyi hidroliz etme yeteneği, farklı tuz konsantrasyonlarında ve sıcaklık derecelerinde canlılık miktarları ve amilaz enzim aktivitesi ile ilgili herhangi bir literatür bilgisine rastlanılmamıştır ve bu maya türünün ülkemizde de dâhil olmak üzere starter kültür olarak kullanımına yönelik araştırma yapılmamıştır. *Cryptococcus* cinsinin bilinen ve tanımlanmış 34 türü vardır ve hemen hemen hepsi (*C. neoformans*, *C. albidus*, *C. laurentii* ve *C. curvatus* gibi) klinik olarak izole edilmiştir (Fell ve Statzell-Tallman, 1998). Çalışmamızda Beyaz peynirden *C. humicola*’nın izole edilmesinin nedeninin ya süt kaynağından peynirin olgunlaşması aşamasına kadar geçen süre içerisindeki bulaştan dolayı ya da

çevresel etkilere bağlı olarak bulaşması ile izole edilmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ülkemizdeki süt sağımı koşulları ve peynir üretimindeki kontaminasyonlar göz önüne alındığında *C. humicola*’nın varlığının normal olduğunu düşündürmüştür.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### YAZAR KATKILARI

YB ve ZY çalışmayı tasarladı. SA ve DU analizleri gerçekleştirdi. DU, ZY ve AS makaleyi yazdı. HİK ve ÖŞ makalenin son halini okudu ve onayladı.



## KAYNAKLAR

- Abdel Nasser, A., El- Moghaz, (2010). Comprative study of salt tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia pastoris* yeast strains. *Adv Biol*, 1(1):169-176.
- Andrade, R. P., Melo, C. N., Genisheva, Z., Schwan, R. F. and Duarte, W. F. (2017). Yeasts from Canastra cheese production process: Isolation and evaluation of their potential for cheese whey fermentation. *Food Res Int*, 91, 72-79.
- Asada, C., Sasaki, C., Oka, C. (2020). Ethanol production from sugarcane bagasse using pressurized microwave treatment with inorganic salts and salt-tolerant yeast. *Waste Biomass Valor*, 11, 2001-2007.
- Azad, K., Tomar, R. (2016). Partial purification of histone H3 proteolytic activity from the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 33 (6), 217-226.
- Baeza M., Alcaíno J., Cifuentes V., Turchetti B., Buzzini P. (2017). Cold-active enzymes from cold-adapted yeasts. *Biotechnol Yeasts Filament Fungi*, 48 (6), 297-324.
- Barnett, J., A. Payne, R.W. and Yarrow, D. (2000). Yeasts: Characteristics and identification, (3<sup>rd</sup> ed.), Cambridge, United Kingdom. Cambridge University Press.
- Bintsis, T. and Robinson, R. K. (2004). A study of the adjunct cultures on the aroma compounds of Feta-type cheese. *Food Chem*, 88(3), 435-441.
- Budak, Ş., Wiebenga, A., Bron, P., Vries, R. (2016). Protease and lipase activities of fungal and bacterial strains derived from an artisanal raw ewe's milk cheese. *Int J Food Microbiol*, 237 (21), 17-27.
- Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V., Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. *BMC Microbiol*, 16 (21), 1-9.
- Cotter, P.D., Beresford, T.P. (2017). Microbiome Changes During Ripening. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 389-409.
- Darsanaki, R.K., Aliabadi, M.A. and Chakoosari, M.M.D., (2013). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria. *Sci J Microbiol*, 2(11), 201-206.
- De Vuyst L, Harth H, Van Kerrebroeck S, Leroy F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. *Int J Food Microbiol* 239, 26–34.
- Demirgöl, F., Tuncer, Y. (2017). Detection of antibiotic resistance and resistance genes in *Enterococci* isolated from Sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *Korean J Food Sci Anim Resour*, 37(5), 670-681.
- Eroğlu, E., Özcan, T. (2018). Sütün enzimatik koagülasyonu ve peynir üretiminde bitkisel pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(2), 201-214.
- Escribano, R., González-Arenzana, L., Garijo, P., Berlanas, C., López-Alfaro, I., López, R., Gutiérrez, A.R., Santamaría, P. (2017). Screening of enzymatic activities within different enological non-*Saccharomyces* yeasts. *J Food Sci Technol* 54, 1555–1564.
- Fell, J.W., Statzell-Tallman A. (1998). *Cryptococcus* V In: Kurtzman C.P. and Fell J.W. (eds), *The Yeasts—a Taxonomic Study*. 4th edn. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 742–767..
- Ferreira, A.D., Viljoen B.C. (2003). Yeasts as adjunct starters in matured Cheddar cheese, *Int J Food Microbiol*, 86(1-2), 131-140.
- Fröhlich-Wyder, M. T., Arias-Roth, E., Jakob, E. (2019). Cheese Yeasts. *Yeasts*, 36(3): 129-141. Doi: 10.1002/yea.3368.
- Guerzoni, M.E., Gobbetti, M., Lanciotti, R., Vannini, L. and Chaves, L.C. (2001). *Yarrowia lipolytica* as potential ripening agent in milk products, Yeasts in The Dairy Industry: Positive and Negative Aspects, Proceedings of International Dairy Federation Symposium, Copenhagen, 23-33.
- Gürsoy, A., Türkmen, N. (2018). Adjunct Cultures in Cheese Technology. In: *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology*, IGI Global, Hershey PA, the USA, pp. 234-256.
- Halkman, A.K. 2019. 08. Sayım Yöntemleri. Gıda Mikrobiyolojisi. Editör: A. Kadir Halkman. Başak

- Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, 648 s. ISBN: 978-605-245-683-5
- Irlinger, F., Helinck, S., Jany, J. L. (2017). Secondary and Adjunct Cultures. In: *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (4th Edition), McSweeney, P., Fox, P., Cotter, P. Everett, D. (Eds.), Volume 1, Academic Press, the UK, pp. 273-300.
- Kara, R., Akkaya, L. (2015). Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. *Aku J. Sci. Eng*, 15: 1-6. Doi: 10.5578/fmbd.8717.
- Karaman, K., Sagdic, O., Durak, M.Z. (2018). Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread. *Food Sci Technol*, 91, 557-567.
- Kieliszek, M., Kot, A., Bzducha-Wróbel, A., Błażej, S., Gientka, I., Kurcz, A. (2017). Biotechnological use of *Candida* yeasts in the food industry: A review. *Fungal Biol Rev*, 31 (4), 185-198.
- Selwal, K.K., Li, Y.F., Yu, Z. (2017) Functional display of amylase on yeast surface from *Rhizopus oryzae* as a novel enzyme delivery method. *Food Biotechnol*, 31(4), 233-244.
- Ksonzeková P, Bystrickýb P, Vlckováb S, Pätoprstýb V, Pulzováa L, Mudroňováa D, Kubaskováa T, Csanka T, L. (2016). Exopolysaccharides of *Lactobacillus reuteri*: Their influence on adherence of *E. coli* to epithelial cells and inflammatory response. *Carbohydr Polym*, 141: 10-19.
- Liu, J., Li, L., Zhou, L., Li, B., Xu, Z. (2017). Effect of ultrasound treatment conditions on *Saccharomyces cerevisiae* by response surface methodology. *Microb Pathog*, 111,497-502.
- Molon, M. and Zadrag-Tecza, R. (2016). Effect of temperature on replicative aging of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biogerontology*, 17(2), 347-357.
- Oğuz, Ş, Andiç, S. (2019). Peynir Üretiminde Kullanılan Starter Kültürler. *Gıda*, 44 (6), 1174-1196.
- Picon, A. (2018). Cheese Microbial Ecology and Safety. In: *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*, Papademas, P., Bintsis, T. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, pp. 71-99.
- Piotr, J., Maria, W., Barbara, A., Jozafe, C., Adam, M. (2005). Diversity of physiological and biochemical properties within yeast species occurring in rpkpol cheese. *Pol. J. Food Nutr. Sci*. 3:257-261.
- Wu, Q., Lin, J., Cui, K., Du, R., Zhu, Y., Xu, Y. (2017). Effect of microbial interaction on urea metabolism in Chinese liquor fermentation. *J Agric Food Chem*, 65(50), 11133-11139.
- Rossouw, D., Bauer, FF. (2016). Exploring the phenotypic space of non-*Saccharomyces* wine yeast biodiversity. *Food Microbiol*, 55:32-46.
- Russo, P., Fares, C., Longo, A., Spano, G., Capozzi, V. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity as a protective starter culture for bread production. *Food*, 6 (12), 110.
- Soran, G. Ş., Çelik, Ş. (2018). Telemesi haşlanan geleneksel peynirlerimizin üretimine uygun doğal starter kültür geliştirilmesi. *HU. Müh. Derg.*, 3(1), 15-19.
- Kim, S., Kim, H., Chae, H. (2004). Selection of probiotic yeasts from soil, characterization and application for feed additives. *Agric. Chem Biotechnol*. 47(1), 20-26.
- Suzzi, G., Lanorte, M.T., Galagno, F., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R., Guerzoni, M.E., (2001). Proteolytic, lipolytic, and molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* isolated from cheese, *Int J Food Microbiol*, 69,69-77.
- Tekinşen, O.C. (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniv Basımevi, Konya.
- Wyder, M.T. (2001). *Yeasts in Dairy Products*, Swiss Federal Dairy Research Station, Fam Info No: 425, Liebefeld, CH-3003 Berne.



## **NAR (*Punica granatum*): SAĞLIĞA YARARI, EKONOMİK DEĞERİ VE HASAT SONRASI MUHAFAZA METOTLARI**

**Onur Çil, Fatih Erdem, Mehmet Seçkin Aday\***

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Geliş / Received: 03.06.2020; Kabul / Accepted: 17.08.2020; Online baskı / Published online: 31.08.2020

Çil, O., Erdem, F., Aday, M.S. (2020). Nar (*Punica granatum*): Sağlık yararları, ekonomik değeri ve hasat sonrası muhafaza metotları. *GIDA* (2020) 45(5) 881-893 doi: 10.15237/gida.GD20078

Çil, O., Erdem, F., Aday, M.S. (2020). Pomegranate (*Punica granatum*): Health benefits, economic value and postharvest preservation methods. *GIDA* (2020) 45(5) 881-893 doi: 10.15237/gida.GD20078

### **ÖZ**

Narın sahip olduğu yüksek besleyici değeri ve benzersiz duyu özellikleri sebebiyle tüketici talebi ve ticari üretimi son yıllarda artmıştır. Buna ek olarak, nar biyoaktif bileşenler açısından zengin bir kaynaktır ve bu yüzden tüketimi sağlık bakımından birçok fayda sağlamaktadır. Klimakterik olmayan doğasına rağmen, pazarlanabilirliği ve tüketici tarafından kabulü; soğuk zararı, çatlama, kabukta kahverengileşme ve çürüme gibi çeşitli faktörlerden sınırlanmaktadır. Bu problemleri önlemek için farklı hasat sonrası uygulamalar kullanılmaktadır. Bu yöntemler; ısı uygulamaları, modifiye atmosfer ambalajlama, yenilebilir kaplamalar, kimyasal ajanlar ve engel teknolojilerini içermektedir. Bu nedenle derlemenin amacı; narın sağlığa faydası, ekonomik değeri ve hasat sonrasında kullanılan farklı teknolojilerin bütün nar ve nar taneleri üzerine etkisini güncel kaynaklardan yararlanarak özetlemektir.

**Anahtar kelimeler:** Nar, sağlık yararları, ekonomik değer, hasat sonrası teknolojiler

## **POMEGRANATE (*Punica granatum*): HEALTH BENEFITS, ECONOMIC VALUE AND POSTHARVEST PRESERVATION METHODS**

### **ABSTRACT**

Consumer's demand and commercial production for pomegranate has increased in the last decades due to their high nutritional value and unique sensory properties. In addition, pomegranate is a rich source of bioactive compounds and therefore its consumption provides many health benefits. In spite of the non-climacteric nature of the fruit, marketability and consumer acceptance is often limited by chilling injuries, cracks, husk scald and decay. In order to avoid these problems, different postharvest treatments have been used. These methods include heat treatments, modified atmosphere packaging, edible coating, chemical agents, and hurdle technology. Therefore, this review aims to summarize all the recent studies about the health benefits, economic value and effect of the different postharvest technologies used in whole pomegranate and pomegranate arils.

**Keywords:** Pomegranate, health benefits, economic value, postharvest technologies

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: mseckinaday@comu.edu.tr

☎: (+90) 286 218 00 18 / 2607

☎: (+90) 286 218 05 41

Onur Çil ORCID no: 0000-0001-7497-1385

Fatih Erdem ORCID no: 0000-0002-9226-0234

Mehmet Seçkin Aday ORCID no: 0000-0002-5669-5812

## GİRİŞ

Nar (*Punica granatum L.*), genellikle taze olarak tüketilen meyvelerden bir tanesi olup, aynı zamanda meyve suyu, reçel, likör ve diğer formlarda da kullanılmaktadır. Birçok tropikal ve subtropikal ülkede yaygın olarak yetiştirilmektedir (Roukas ve Kotzekidou, 2020). Nar, yüksek organoleptik özellikleri ve antioksidan potansiyeli nedeniyle tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. İçeriğindeki fitokimyasal bileşikler, özellikle antosiyaninler, diğer kompleks flavonoidler ve hidrolize edilebilir tanenler (ellagitanninler, gallik asit ve ellagik asit) biyoaktif bileşenler olarak bilinmekte ve kardiyovasküler hastalıklar, iltihaplanmalar, alzheimer, diyabet ve kanser gibi bazı dejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlamaktadır (Garcia-Pastor vd., 2020; Mantzourani vd., 2020). Gıda endüstrisinde narın çeşitli türevleri; nar kabuk ekstraktı, kabuk tozu, nar suyu ve nar suyu tozu olarak bazı gıda ürünlerine eklenmektedir. Bu amaçla yenilebilir film ve kaplamalarda antimikrobiyal aktiviteyi ve mekaniksel özellikleri iyileştirmek, et ve balık ürünlerinde oksidasyonu azaltmak ve mikrobiyal kaliteyi geliştirmek üzere kullanılmaktadır (Kandyliş ve Kokkinomagoulos, 2020).

Genellikle, nar meyvesi çeşidine ve depolama koşullarına bağlı olarak 2 ile 7 ay arasında uzun bir depolama ömrüne sahiptir. Bununla birlikte, meyvelerden çıkarılan tanelerin, dış ortama maruz kalma ve işleme operasyonlarından kaynaklanan doku hasarı nedeniyle kısa raf ömrü bulunmaktadır. Nar tanelerinde meydana gelen hasar; solunum ve etilen üretim oranlarında artışa yol açmakta, metabolik aktiviteyi değiştirmekte, besinsel ve duyuşsal özelliklerin bozulma oranını arttırmakta ve sonuç olarak raf ömrünü önemli ölçüde azaltmaktadır (Venkataramudu vd., 2018; Sason ve Nussinovitch, 2020). Bu derlemenin amacı narın bileşimi, sağlığa yararı, ekonomik değeri ve raf ömrünü uzatmada kullanılan yöntemlere ilişkin bilgi vermektir.

## NARIN KİMYASAL İÇERİĞİ

Narın kimyasal bileşimi çeşit, yetiştirme bölgesi, olgunluk, yetiştirme uygulaması, iklim ve depolama koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Desseva ve Mihaylova, 2020; Gumienna vd.,

2016). Narın toplam meyve ağırlığının yaklaşık %50'si kabuktan oluşmaktadır (Mphahlele vd., 2016). Nar kabuğu; fenolikler, flavonoidler, ellagitanninler ve proantosiyanidin bileşikleri, mineraller, özellikle potasyum, azot, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum ve kompleks polisakkaritlerden oluşmaktadır (Bassiri-Jahromi ve Doostkam, 2019; Sreekumar vd., 2014). Geriye kalan %50'si yenilebilir kısmı oluşturmaktadır ve bunun %40'ı tanelerden ve %10'u tohumlardan meydana gelmektedir (Mphahlele vd., 2016; Pareek vd., 2015). Taneler; %85 su, %10 toplam şeker (glüköz, sukroz, früktoz) ve %1.5 pektin, organik asitler (askorbik, sitrik ve malik asit), konjuge linolenik asit ve diğer bileşenleri içermektedir (Salehi, 2020; Kandyliş ve Kokkinomagoulos, 2020). Meyve suyu; siyanidin-3,5-diglikozit, siyanidin-3-glikozit, delfinidin-3,5-diglikozit, delfinidin-3-glikozit ve pelargonidin-3-glikozit antosiyaninlerinden oluşmaktadır (Zhang vd., 2019). Tohum ağırlığının %12-20'si tohum yağı içerir ve konjuge linolenik asitlerin %64-83'ünden fazlasına sahiptir (Bedel vd., 2017). Konjuge izomer olan punisik asit, tohum yağındaki en baskın yağ asidi olup, diğerleri ise katalpik asit ve  $\alpha$ -eleostearik asittir (Boroushaki vd., 2016). Nar meyvesinde bulunan antosiyaninlerin E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol),  $\beta$ -karoten ve askorbik asitten daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Sreekumar vd., 2014).

## EKONOMİK DEĞERİ

Türkiye'de 2018 yılında üretilen nar miktarı 537 bin ton iken, 2019 yılında ise 559 bin tona yükselmiştir (BUGEM, 2019). Nar ihracatı 2018 Ocak-Aralık arasında 207 bin ton olup, değeri 114 milyon \$ iken, 2019 Ocak-Aralık arasında ise nar ihracatı 155 bin ton ve değeri 97 milyon \$ olarak gerçekleşmiştir. Meyve ihracatında 2019 yılında ekonomik değer olarak ilk sırayı mandalina alırken, nar yedinci sıradadır (AKİB, 2020). Avrupa Birliğine üye ülkelerde nar için satış fiyatı aylık ortalama olarak kg başına 1.40-4.54 € arasında değişmekte olup, Hollanda'da yıllık satış fiyatının 2.69 €/kg olduğu bildirilmektedir. Türkiye'den Avrupa kıtasındaki ülkelere satış fiyatı ise 1.50-1.80 €/kg arasında değişmekte olup, yılbaşından sonraki aylarda ise 2.50 €/kg

değerine kadar çıkabilmektedir. Türkiye’de nar ihracatı yapan 37 firmanın bulunduğu bildirilmektedir (İkinci vd., 2018).

### SAĞLIĞA YARARLARI

Nar, binlerce yıllık tıbbi kullanımı olan antik bir meyvedir. Son yıllarda nar, çeşitli iyileştirici bulguları sayesinde bir medikal ajan olarak oldukça fazla dikkat çekmiştir (Doostkam vd., 2020). Nar; meyve (kabuk, su ve tohum), yapraklar, çiçekler, kökler ve kabuk gibi çeşitli bölümlerden oluşmakta ve bu bölümlerden elde edilen çeşitli kimyasal bileşikler birçok hastalığın tedavisinde çok önemli roller oynamaktadır (Guerrero-Solano vd., 2020; Ahmadiankia, 2019). Nar yaprakları ve kabuğundan ekstrakte edilen bileşenlerin antidiyabetik ve hipolipidemik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Salwe vd., 2015). Nar suyunun ayrıca böbrek taşı düşürmede etkili olduğu belirtilmiştir (İlbey vd., 2009). Nar suyu, iç/dış kabuk ve tohumdan oluşan nar ekstraktının da damar sertliğinin engellenmesinde koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (De Nigris vd., 2007). Narda bulunan polifenollerden; ellajik asit, kafeik asit, luteolin ve punikalejin içerisinde influenzaya karşı en etkili antivirüs etkisinin punikalajin ile sağlandığı rapor edilmiştir (Haidari vd., 2009). Nar antioksidan, antiinflamatuvar, antiproliferatif, antianjiyojenik, antiinvazif ve antimetastatik özellikler göstermekte ve apoptozu tetiklemektedir. Ayrıca NF- $\kappa$ B, PI3K/AKT/mTOR, ve Wnt gibi çeşitli sinyal yollarını regüle etmekte, kanser gelişiminden sorumlu olan antiapoptotik genler, MMPs, VEGF, c-met, siklin, Cdks ve proinflamatori sitokinezler gibi genlerin ekspresyonunu da düzenlemektedir (Khwairakpam vd., 2018).

### NARDA KALİTE KRİTERLERİ

Nar meyvesinde kalite değerlendirmesi birkaç önemli dış ve iç özelliklere dayanmaktadır. Dış özellikler arasında meyve boyutu, şekil ve dış görünümü (renk, çatlama, güneş haşlanması, çürükler) bulunurken, iç özellikler arasında toplam suda çözünen katı madde (SÇKM), titre edilebilir asitlik (TA), lezzet (şeker/asit oranı) ve tanen içeriği önemlidir. Bu özellikler çeşit farklılıkları, olgunluk derecesi ve büyüme bölgesine bağlı olarak değişmektedir (Arendse vd.,

2015). Narların asitliği hasatta %0.13 ile %4.98 arasında değişmektedir. Tatlı çeşitlerde %1’den az, tatlı-ekşi çeşitlerde %1-2 ve ekşi çeşitlerde %2’den fazladır. SÇKM içeriğinin %17’nin üzerinde olması tatlılık, toplam fenol (TPC) miktarının ise %0.25’in altında olması ekşilik açısından arzu edilmektedir. Munsell renk şemasında 5R-5/12’ye eşit veya daha koyu kırmızı meyve suyu rengi tercih sebebidir (Pareek vd., 2015). Narın görünüşünü etkileyen hastalıklara sahip olmaması gerekmekte ve üstünün ise toprak veya yabancı madde gibi istenmeyen maddelerden arındırılması gerekmektedir. Narda görünümü çok fazla etkilemeyen hafif hasarlara ayrıca meyvenin taç kısmındaki az derecedeki kopma ve kırılmalara bir ölçüde izin verilebilmektedir (İkinci vd., 2018).

### KALİTE KUSURLARI

Nar, hasattan sonra düşük solunum ve etilen üretim oranına sahip olması nedeniyle klimakterik olmayan meyve olarak sınıflandırılmaktadır. Klimakterik olmayan yapısına rağmen, hasat sonrasında soğuk zararlanması, kabukta kahverengileşme, meyve çatlaması ve çürüme gibi kalitatif ve kantitatif kayıplar gözlenmektedir (Opara vd., 2015).

### Soğuk Zararlanması

Narda depolanabilirliği uzatmak ve uzak ülkelere ticaretini kolaylaştırmak için soğuk depolama koşulları gerekmektedir. Ancak nar meyvesinin düşük sıcaklıklara karşı olan hassasiyeti nedeniyle, soğuk zararlanması görülmekte ve buna bağlı olarak nar tanelerini ve iç membranları çevreleyen beyaz dokuda kahverengileşme ve kabukta ise çukurlaşmalar meydana gelebilmektedir (Kashash vd., 2019). Genel olarak meyvelerde görülen soğuk zararlanması, hücre membranlarının hücre yapısını koruyamayarak, membran lipid ve proteinlerinin faz değişimi neticesinde gerçekleşmektedir (Wani ve Herath, 2018). Narda 5°C’nin altında depolanma soğuk zararlanmasına yol açmakta olup, depolama süresine bağlı olarak, bu olay hem iç hem de dış meyve kalitesinde azalmaya neden olmaktadır (Mirdehghan vd., 2007).

### **Kabukta Kahverengileşme**

Kabuk yüzeyindeki renk değişimi, depolama sırasında görülen ve ürünün taşınması sırasında ortaya çıkan bir fizyolojik bozukluktur. Belirtiler; depolama sırasında o-dihidroksifenollerin- kinon bileşenlerine enzimatik oksidasyon ile dönüşümünden kaynaklanabilmektedir ancak enzimatik esmerleşme ile sonuçlanan biyokimyasal değişiklikler belirsizliğini korumaktadır (Arendse vd., 2018). Semptomlar, elmadaki kahverengileşmeye benzer olarak görülmekte olup, renk değişimi genellikle meyvenin alt tarafında gelişmeye başlayıp, üst kısmına doğru yayılmaktadır (Belay vd., 2020). Nar ve elmadaki renk bozukluklarına neden olan biyokimyasal süreçlerin benzer olduğu öne sürülmektedir (Defilippi vd., 2006).

### **Meyve Çatlaması**

Meyve çatlaması esas olarak yaz aylarındaki yüksek güneş ışınlarından ve düşük nemden kaynaklanabilmektedir (Sharma vd., 2018). Aynı zamanda su stresi ve kabuk esnekliğindeki değişimler de narda meydana gelen çatlamaların diğer sebeplerindendir. Uzun süreli kuraklık kabuğun sertleşmesine neden olmaktadır ve bu durumu sulama veya yağmurlar takip ederse, turgor basıncında asimetric artış meydana gelmektedir. Nar tanelerinin turgor basıncındaki artış kabuktaki turgordan daha fazla olduğunda ise bu basınç farklılığı nedeniyle kabuk çatlakları oluşmaktadır (Griñán vd., 2019). Aşırı olgun meyveler, toprak nemindeki değişimle birlikte gündüz ve gece atmosferik nem farklılığına karşı çok hassas olduklarından, daha kolay çatlamaktadır (Mir vd., 2012).

### **Çürüme**

Narların depolama potansiyelini sınırlayan en önemli etkenler gri küf (*Botrytis cinerea*), yeşil küf (*Penicillium digitatum*), penicillium (*P. expansum*) ve *Aspergillus niger*'den kaynaklanmaktadır. *B. cinerea*, enfekte olmuş meyveden bitişik sağlıklı meyveye misel yayılması ile geçebilmektedir. *B. cinerea* esas olarak meyveyi ağaç üzerindeki genç meyvenin kaliks kısmından enfekte etmekte ve hasattan sonra nemli koşullar altında etkilenen bölgede karakteristik bir gri miselyum oluşturmaktadır (Palou vd., 2013). Gri küf çürüğü genellikle

kaliksten başlamakta, kabuğun üzerine yayılarak belirgin bir kahverengi renk değişikliğine neden olarak, kabuğu sertleştirmektedir. *Aspergillus* çürüklüğünde ise meyvede dış semptom görülmemekte olup, tanelerde ise kararma meydana gelmektedir (Arendse vd., 2015).

### **HASAT SONRASI MUHAFAZA YÖNTEMLERİ**

Narların depolanması sırasında birçok fizikokimyasal, enzimatik ve mikrobiyolojik faaliyet meydana gelmekte olup, bu süreçler narın kalitesinin, raf ömrünün ve ekonomik değerinin azalmasına yol açmaktadır. Bu nedenle bu problemlere yönelik olarak geliştirilen stratejiler aşağıda özetlenmektedir.

#### **Isı Uygulamaları**

Soğuk zararlanmasına karşı hassas olan ürünlerin depolanmasında, düşük sıcaklıkların etkisinin azaltılması ve meyve kalitesinin sürdürülmesi amacıyla kullanılan hasat sonrası ısı uygulamaları (Barman vd., 2018), 20°C ve üzerindeki sıcaklıklarda saatler ya da günler olarak ifade edilebilen sıcak su veya sıcak hava kullanılarak yapılmaktadır (Lurie and Pedreschi, 2014). Soğuk zararına uğramış ürünlerin kısa süreyle ısı uygulamalarına tabi tutulmasıyla membranlar, organeller veya metabolik faaliyetlerdeki zararların onarılmasına olanak sağlanmaktadır (Zainalabidin vd., 2019).

Sıcak su, sıcak hava ve aralıklı ısıtma işlemlerininnardaki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; sıcak hava ve aralıklı ısıtma, raf ömrü boyunca duyuşal özelliklerini etkilememiştir. Narların 45°C sıcak suya daldırılması, 50°C sıcak suya daldırılmışlara kıyasla, daha yüksek burukluk ve gevreklik skorları elde edilmesine neden olmuş, sululuk bakımından ise daha düşük puanların alınmasını sağlamıştır. Aralıklı ısıtılan narlar, depolanmanın üçüncü ayında daha düşük çürüme oranlarına sahip bulunmuştur (Yanco vd., 2018). Artés vd., (2000) tarafından yapılan çalışmada ise nar 3 gün boyunca 33°C sıcaklık ve %95 bağıl nemde bekletilmiş ve daha sonra narlar 2°C ve 5°C sıcaklıklarda 90 gün depolanmıştır. Ayrıca, diğer bir uygulamada ise 1 gün 20°C sıcaklıktaki kesikli ısıtma döngüsü sonrasında 6 gün 2°C ve 5°C'de bekletilmiştir.

Kesikli ısıtma uygulanan meyvelerin en yüksek antosiyanin konsantrasyonu ve titrasyon asitliği değerlerine ve ayrıca en iyi görünüme sahip olduğu tespit edilmiştir. Depolama sıcaklığının 5°C olduğu narlardaki asıl kayıpların çürüme nedenli olduğu, en az kaybın ve tazeliğe yakın tat skorlarının ise 2°C depolama ve kesikli ısıtma uygulamasında meydana geldiği gözlenmiştir. En düşük soğuk hasarları kesikli ısıtma uygulamalarında meydana gelmiştir (Artés vd., 2000). Diğer bir çalışmada ise nar meyvelerine 45°C sıcaklıkta 4 dakika boyunca ısı uygulaması yapılmış ve 2°C sıcaklıkta 90 gün boyunca depolanmıştır. Isıl uygulama yapılan nar taneleri kontrol örneklerine göre daha yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca, ısıl uygulama yapılan nar tanelerinde şeker ve organik asit miktarları da daha yüksek konsantrasyon göstermiştir (Mirdehghan vd., 2006).

Genel olarak değerlendirilecek olursa, ısı uygulamalarının düşük sıcaklıkta depolamanın meydana getirdiği soğuk zararlanmalara karşı meyvelerde bir direnç oluşturduğu ve böylelikle hasat sonrası kalitenin korunmasında olumlu etkiler gösterdiği görülmektedir. Fakat soğuk depolamadan çıkarılan bir ürünü ısı uygulamalarına tabi tutarken dikkat edilmesi gereken nokta, bu sürenin ne çok fazla ne de çok az biçimde uygulanmasıdır.

### Modifiye Atmosfer Ambalajlama

Modifiye atmosfer ambalajlamada (MAP), ürünün solunumu ve ambalaj materyalinin gaz geçirgenliğinin kontrolü pasif MAP ile sağlanabilmektedir (Colgecen ve Aday, 2015). Bu süreci; ürünün solunum hızı ve ürünün ağırlığı, ambalaj filminin kalınlığı ve yüzey alanı gibi birçok faktör etkilemektedir. MAP yöntemi; solunum ve etilen üretiminin yavaşlatılması, enzim aktivitesi ve çürümenin azaltılması ile ürünün kalitesini korumaktadır (Shaarawi ve Nagy, 2017).

Minimal işlenmiş tane narların 4 farklı koşullarda (H: Hava; A: Azot (%100 N<sub>2</sub>); ZO: Zengin Oksijen (%70 O<sub>2</sub>+%10 CO<sub>2</sub>+%20 N<sub>2</sub>; DO: Düşük Oksijen (%5 O<sub>2</sub>+%10 CO<sub>2</sub>+ %85 N<sub>2</sub>), polipropilen (PP) kaselerde çift yönlü gerdirilmiş polipropilen (BOPP) filmlerle ambalajlandığı

çalışmada örnekler 5°C sıcaklıkta 18 gün depolanmıştır. ZO haricindeki bütün uygulamalarda denge atmosfer sağlanmış olup, genel olarak H, A ve ZO atmosferlerinde ambalajlanan taneler kalite özelliklerini korumuş ve panelistler tarafından 18. günde dahi kabul edilebilir olarak nitelendirilmiştir; ancak DO ile ambalajlanan tanelerin pazarlanabilirlik periyodu 15 gün ile sınırlı kalmıştır (Ayhan ve Eştürk, 2009). Diğer bir çalışmada iki farklı tipteki ambalajlama yönteminin (MAP 1, Xtend film: MAP 2, ZOEPAC torba) narın kalitesi üzerine etkileri 6°C sıcaklık ve %90 bağıl nem koşullarında 120 gün süresince incelenmiş ve 40. günde denge atmosferinin sağlandığı gözlenmiştir. Kontrol örnekleri ile kıyaslandığında MAP uygulamalarının ağırlık kaybı ve dıştaki fizyolojik bozuklukları önemli derecede azalttığı, görsel kaliteyi koruduğu ve kabuk rengindeki bozulmaları önlediği görülmüştür. MAP 2 ağırlık kaybını azaltmada ve raf ömrü sürecinde en etkili yöntem olarak bulunmuştur (Selcuk ve Erkan, 2016). Başka bir çalışmada 160.1 cm<sup>2</sup> ambalaj yüzeyindeki delik sayısının (0, 3, 6 ve 9) tanelenmiş narların kalitesine etkisi 5°C sıcaklıkta ve 15 gün boyunca izlenmiştir. Ambalaj içerisindeki gaz kompozisyonu delik sayısından önemli derecede etkilenmiştir. Oksijen konsantrasyonu delik sayısı ile doğru orantıda artış gösterirken, en yüksek karbondioksit konsantrasyonu deliksiz MAP uygulamasında (P-0) görülmüştür. Suda çözünebilir toplam kuru madde miktarındaki en büyük düşüş 9 delikli MAP (P-9) uygulamasında tespit edilmiştir. En yüksek aerobik mezofilik bakteri, maya ve küf sayıları P-0 ve P-9 uygulamalarında belirlenmiştir. Genel olarak, P-3 ve P-6 MAP uygulamaları tanelenmiş narların kalite özelliklerini P-0 ve P-9 uygulamalarından daha iyi korumuştur (Hussein vd., 2015). Tayyari vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışmada üç farklı gaz kompozisyonunun (Hava şartlarında ambalajlanan, MAP1: %5 O<sub>2</sub> +%85 N<sub>2</sub> +%10 CO<sub>2</sub> ve MAP2: %70 O<sub>2</sub> +%20 N<sub>2</sub> +%10 CO<sub>2</sub>) nar üzerindeki etkisi iki farklı depolama sıcaklığında (4 ve 8°C) 30 gün süresince araştırılmış ve çalışmada 9 gün sonrasında hava şartlarında ambalajlanan tanelerde küf tespit edilmiştir. Düşük oksijen atmosferi ile ambalajlanmış örneklerde 30 gün boyunca

küflenme görülmemiş olup, MAP1'de tutulan ve 4°C'de saklanan nar tanelerinin doku ve görünüşleri hava şartlarında ve MAP2 koşullarında ambalajlananlardan daha iyi görülmüştür. Başka bir çalışmada iki farklı modifiye atmosfer ambalajı (MA1 ve MA2) ile ambalajlanan narlar 24 saat boyunca 3 farklı koşulda önceden soğutulmuş ve 5 ay boyunca 6°C ve %90 bağıl nem koşulları altında depolanmıştır. Depolamada, MA2 uygulamasındaki ağırlık kaybı MA1 uygulamasından önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır. Depolama süresinin sonunda, çürüme ise MA1'de MA2'dekinden daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan, 5 aylık depolama sonunda MA2 koşullarındaki meyvelerin duyuşal değerlendirme puanları daha düşük çıkmıştır (Golkarian vd., 2020).

Sonuç olarak MAP yönteminin ambalaj içindeki optimum gaz bileşimini sağlamasından dolayı ürünün solunum hızını azalttığı ve böylelikle raf ömrünü arttırdığı görülmektedir. MAP yönteminin; kolay ve hızlı biçimde uygulanabilmesi, ticari olarak da yaygın şekilde kullanılmasına yol açmaktadır. Ayrıca, yeni ambalajlama materyallerinin geliştirilmesi ve aktif ambalajlama gibi konseptlerle, gıda endüstrisindeki gereksinim ve değişimlere çözüm olacağı düşünülmektedir.

### Yenilebilir Kaplamalar

Yenilebilir kaplamalar karbondioksit ve oksijen gibi gazlara karşı ürün üzerinde yarı geçirgen bir bariyer sağlamak, ürün görünüşünü iyileştirmekte (Duran vd., 2016), tekstürel özellikleri geliştirmekte, solunum hızını azaltmakta (Öz ve Eker, 2017) ve aynı zamanda su kaybını engelleme görevini de üstlenmektedir (Sason ve Nussinovitch, 2020).

Çeşitli işlemler sırasında hasar görmüş nar tanelerinin raf ömrünü artırmak için yapılan bir çalışmada aljinat bazlı koruyucu jel tabaka hasarlı nar tanelerinin yüzeyine daldırma yöntemiyle uygulanmış ve nar taneleri 4°C sıcaklıkta 10 gün depolama sonrasında kaplanmamışlara göre daha az ağırlık kaybetmiştir. Mikrobiyal olarak ise 20°C'de 5 gün depolama sonrasında kaplanmamışlara göre 2 log daha az küf ve maya

içermektedir (Sason ve Nussinovitch, 2020). Viswanath vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada farklı kaplamaların (%1 kitosan, %100 Aloe vera ve %10 bal) nar taneleri üzerindeki etkileri 4, 7 ve 26°C'de 20 gün süresinde incelenmiş, %1 kitosan kaplamasının ağırlık kaybı, SÇKM, TA, toplam şeker ve askorbik asit bakımından 4°C'de en iyi korumayı sağladığı tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise reçine vaksı, karnauba vaksı ve kitosan (%1 ve 2) kullanılarak uygulanan üç farklı kaplamaların narın 4.5°C sıcaklıkta 120 günlük depolama sürecinde kalitesine etkisi araştırılmış olup, reçine ve karnauba vaksı ile kaplanan meyveler diğer uygulamalara göre önemli ölçüde daha düşük solunum oranı ve ağırlık kaybı değerleri göstermiştir. Ayrıca, karnauba vaksının meyve kalitesi ve biyoaktif bileşikleri daha yüksek derecede koruyabildiği saptanmıştır (Meighani vd., 2015). Abdel Fattah vd. (2016) tarafından farklı konsantrasyonlardaki (%0, 0,5, 1, 1,5 ve 2) kitosan kaplamasının, 4°C'da 16 gün boyunca depolanan nar tanelerinde etkisinin değerlendirildiği çalışmada; kaplanmış örneklerin TA, pH, toplam antosiyanin, toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite değerleri kaplanmamış örneklere kıyasla daha az değişiklik göstermiştir. Kitosan kaplama, tanelerin görsel kalitesinin korunmasına yardımcı olmuştur. Sonuç olarak kitosan çözeltilerinin (%1.5 ve 2) konsantrasyonları, 16 gün boyunca 4±1°C'de depolama sırasında narların kalitesini korumak için daha etkili bulunmuştur.

Genel olarak özetlenecek olursa, yenilebilir kaplamalar meyve yüzeyinde ek bir katman olarak görev yaparak, ürünün çevreyle temasını sınırlamaktadır. Aynı zamanda ürünün görsel çekiciliğini de arttırmaktadır. Ürünle beraber tüketilebilmesinde sakınca olmaması nedeniyle, kaplamalara eklenecek olan biyoaktif bileşenler, gıdanın besinsel ve fonksiyonel özelliğini de yükseltebilmektedir. Aynı zamanda kaplamaların doğal bileşenlerden elde edilmesi, diğer ambalaj materyallerinin aksine çevreci özelliğini de yansıtmaktadır.

### Kimyasal Uygulamalar

Tüketicilerin doğal, taze, lezzetli ve yüksek kaliteli yenilebilir nar tanelerine olan taleplerini



karşılama için, aralarında minimal işleme tekniklerinin ağırlıklı olarak kullanıldığı dezenfektan ile yıkanmasını da içeren çeşitli işleme teknikleri geliştirilmiştir (Ayhan ve Eştürk, 2009).

Tanelenmiş narların 200 ppm klorlu su+5000 ppm askorbik asit ve 200 ppm klorlu su +5000 ppm sitrik asit ile yıkanarak PP torbalarda (80 ve 150 gauge) ambalajlandığı ve 5 ve 15°C sıcaklıkta depolandığı çalışmaya göre; klorlu su+askorbik asit uygulanan ve 150 gauge PP torbalarda ambalajlanan ve 5°C sıcaklıkta depolanan tanelenmiş narların ambalajlanmamışlara göre önemli ölçüde düşük ağırlık kaybı gösterdiği tespit edilmiştir. Klorlu su +askorbik asit ile muamele edilerek 80 kalibre PP torbalar ile ambalajlanıp 5°C sıcaklıkta depolanan tanelenmiş narların ise en yüksek Hunter renk değerleri, organoleptik skorlar ve en düşük bozulma değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Naik vd., 2017). Continella vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise taneler; distile su, klorlu su ve sitrik asit çözeltisi olmak üzere farklı yıkama çözeltileri kullanılarak yıkanmış ve kontrol olarak da yıkama işlemi yapılmamış örnekler kullanılmıştır. Yıkamadan sonra taneler PP kaplar ile normal atmosfer altında ambalajlanmış ve 15 güne kadar 4°C sıcaklık ve %75 bağıl nem şartlarında depolanmıştır. Yıkama uygulamaları arasında kalite özellikleri konusunda küçük farklılıklar gözlemlenmiştir. Diğer bir çalışmada ise kontrollü atmosfer depolama ve hasat sonrası ozon uygulamasının Hicaznar çeşidi narların raf ömrü ve kalitesine etkileri araştırılmıştır. Kontrol, 6 saat boyunca 5°C sıcaklıkta ozon gazına (4 ppm) maruz bırakılan grup ve 5°C sıcaklıkta 10 saniye süre ile %0.9'luk prokloraz çözeltisine batırılma olmak üzere üç ayrılan örnekler kontrollü atmosfer (%5 oksijen, %10 karbondioksit) koşullarında 6°C sıcaklık ve %90 bağıl nemde 5 ay boyunca depolanmıştır. Fungusit uygulaması narların ağırlık kaybı ve solunum oranlarını önemli ölçüde azaltırken, kontrol örneğinde ozon ve fungusit kombinasyonlarına göre daha fazla çürüme oluştuğu gözlemlenmiştir. Kontrol örneğine kıyasla ozon ve fungusit uygulamaları yapılan örnekler daha iyi duyuşal değerlendirmelere sahiptir (Bolel vd., 2019). İlhan (2018a) tarafından yapılan çalışmada ozon gazının

[4200, 5000 ve 8000 C x T (ppm cinsinden konsantrasyon x saniye cinsinden zaman)] ön soğutma işlemi uygulanmış (20 saat boyunca hava ile) ve uygulanmamış Hicaznar cinsi narlarda görülen hasat sonrası hastalıklara etkileri araştırılmıştır. Ozon uygulaması yapılan meyveler ticari olarak kullanılan modifiye atmosfer torbalarında 6°C sıcaklık ve %90-95 arasında değişen bağıl nem koşullarında 60 ve 120 günlük süreler ile depolanmıştır. Ön soğutma yapılmış narlara 3500 C x T dozunda yapılan ozon uygulaması, 120 günde çürüme oluşumunu önemli ölçüde azaltırken herhangi bir görünür fitotoksositeye neden olmadığı tespit edilmiştir. Ön soğutma işlemi yapılan örneklerde yapılmayan örneklere kıyasla daha düşük ozon konsantrasyonlarının çürüme oluşumunu azaltabildiği görülmüştür. Diğer bir çalışmada klordioksit, sodyum hipoklorit ve perasetik asit 1000, 1500, 2000 µL/L dozlarda 30 dk kullanılmış ve ayrıca Fumispore (15 saat boyunca) ortofenilfenol (OPP)'nin etkileri ultrasonik bir aerosol jeneratör kullanılarak (sisleme uygulaması) incelenmiştir. Uygulama yapılmış meyve, modifiye atmosfer ambalajlama yapılarak 6°C sıcaklık ve %90-95 bağıl nem koşullarında 60 ve 100 gün süreyle depolanmıştır. 2000 µL/L dozunda uygulanan klordioksit ve perasetik asit ve 1500 ve 2000 µL/L dozunda uygulanan sodyum hipoklorit 60 gün depolama sonunda kontrol örneğine göre çürümeyi önemli ölçüde azaltmıştır. Aynı şekilde 2000 µL/L dozunda perasetik asit ve sodyum hipoklorit 100 gün depolama sonunda da çürümeyi büyük oranda azaltmıştır. Fumispore OPP çürümeyi azaltma konusunda başarısız olmuştur (İlhan, 2018b).

Yapılan çalışmalar değerlendirilecek olursa, uygulamaların etkinliğinin kimyasal çeşidine ve konsantrasyona bağlı olarak değiştiği gözlenmektedir. Kimyasal uygulamalar, mikroorganizmalar üzerinde etki göstererek çürümeyi azaltmakta ve buna bağlı olarak da raf ömrünü arttırmaktadır. Fakat uygulanan kimyasalların ürün üzerinde ne kadar kalıntı bıraktığının tespiti gerekmektedir.

### Engel Teknolojisi

Engel teknolojisinde kullanılan gıda muhafaza yöntemleri çeşitli işlemlerin ardışık ya da simultane uygulanmasını kapsamaktadır (Raso and Barbosa-Cánovas, 2003). Esasen birçok işlem gıda güvenliği ve stabilitesini sağlamak için tek başına yeterli olmadığı için kombine uygulamalar avantajlı hale gelmektedir. Bu şekilde mikroorganizmalara karşı öldürücü etki artırılırken, duyu kalitedeki değişim ise azaltılmaktadır (Qiu vd., 2019).

Tanelenmiş narların çeşitli konsantrasyonlardaki kitosan ve askorbik asit ile kaplanarak 5°C sıcaklıkta 28 gün depolandığı çalışmada, kitosan-askorbik asit uygulaması tanelerin görsel kalitelerinin korunmasında yardımcı olmuş ve bakteriyel ve fungal gelişimleri engellemiş olup, raf ömrünü 21 güne kadar uzatabilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçları da kaplama uygulaması yapılan örneklerde daha yüksek çıkmıştır ve bu örneklerin 25 günlük soğuk depolama sürecinden sonra bile oldukça kabul edilebilir olduğunu göstermiştir (Özdemir ve Gökmen, 2017). Nar taneleri üzerinde nano-ZnO ile karboksimetil selüloz (CMC) kaplamanın birlikte kullanıldığı çalışmada taneler, 4 dakika boyunca damıtılmış su (kontrol), %0.1 veya %0.2 nano-ZnO süspansiyonu içine daldırılmış ve daha sonra ZnO ile işleme tabi tutulan taneler, % 0.5 CMC ile kaplanmış ve 12 gün boyunca 4°C'de saklanmıştır. Kaplamalar, 12 günlük depolama sırasında toplam maya/küf sayısını düşürürken, toplam mezofilik bakteri sayısı ise 6 günlük depolama sırasında azalmıştır. Çözünür katı madde içeriği depolama sırasında azalmış, fakat uygulamalar arasında önemli bir fark görülmemiştir. CMC + %0.2 nano-ZnO uygulaması, toplam fenol değişikliklerini azaltmıştır. Toplam antosiyanin, C vitamini ve antioksidan kapasite kaplanmış tanelerde daha yüksek bulunmuştur (Saba ve Amini, 2017). Başka bir çalışmada ise klorin ile dezenfekte edilmiş narlar 0.56, 1.13, 2.27, 4.54, 9.08 ve 13.62 kJ/m<sup>2</sup> UV-C radyasyon dozlarına maruz bırakılmış ve pasif MAP koşullarının oluşturulması için çift yönlü gerdirilmiş polipropilen (BOPP) ile ambalajlanarak 13 ya da 15 güne kadar 5°C sıcaklıkta depolanmıştır. Yapılan bazı UV-C uygulamaları mezofilik,

psikrotrofik, laktik asit ve *Enterobacteriaceae* sayılarında düşüş sağlamıştır fakat mikrobiyal sayılar raf ömrü boyunca sistematik bir azalma göstermemiştir (López-Rubira vd., 2005). Candir vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise narlara kitosan (CH) uygulaması (%0 ve %2) yapılmış ve sonra MAP altında veya MAP'sız paketlenmiştir ve 6°C sıcaklık ve %90 bağıl nem koşullarında 6 ay depolanmıştır. CH, MAP ve CH+MAP uygulamaları renk, titrasyon asitliği ve askorbik asit içeriğini kontrol grubuna göre daha iyi korumuştur. CH + MAP ve MAP uygulamaları ağırlık kaybı ve kabuktaki renk değişimlerini önemli ölçüde azaltmıştır. Tek başına uygulanan CH kaplaması soğuk depolama sırasındaki fungal çürümenin kontrolünde en etkin yöntem olurken, koyu kırmızı renk, en yüksek antioksidan aktivite, toplam monomerik antosiyanin ve toplam fenol içeriğine sahiptir. Yapılan diğer bir çalışmada nar taneleri 30 saniye süreyle 55°C sıcak suya batırma, UV-C ışık (4.54 kJ/m<sup>2</sup>) ve pasif modifiye atmosfer ambalajlama veya yüksek oksijen (başlangıç 90 kPa oksijen) aktif modifiye atmosfer ambalajlama uygulamalarına tabi tutulmuştur. 14 güne kadar 5°C sıcaklık ve %90 bağıl nem şartlarında soğuk depolama uygulanmıştır. UV-C ve yüksek oksijen uygulamaları ayrı ayrı ya da birlikte en yüksek süperoksit dismutaz aktivitesine neden olmuştur. UV-C + yüksek oksijen uygulaması yapılan tanelerde katalaz aktivitesindeki düşüş en fazla seviyededir. Yüksek oksijen ve/veya UV-C içeren bütün uygulamalar antosiyaninleri ve özellikle de fenolik içeriği yüksek seviyelerde tutmuştur. UV-C ve yüksek oksijen kombinasyonu süperoksit dismutaz ve katalaz seviyelerini korurken, peroksidaz ve polifenol oksidaz seviyeleri daha düşük çıkmıştır ve antioksidan bileşiklerinin konsantrasyonları korunmuştur (Maghoumi vd., 2013). Limon otu esansiyel yağı (LGEO) ile kombinasyon halinde keten tohumu gamının (FSG) yemeye hazır nar tanelerinin kaplanması için araştırıldığı çalışmada % 0.3 ve % 0.6 konsantrasyonlarda FSG kullanılmış ve her iki konsantrasyona da LGEO, 0 ppm, 200 ppm, 500 ppm ve 800 ppm seviyelerinde dahil edilmiştir. Nar tanelerinin 5°C'de 12 gün depolandığı bu çalışmada, LGEO içeren kaplamalar, toplam canlı sayısını ve maya ve küf popülasyonlarını azaltmada etkili

bulunmuştur. Kaplanmış numunelerde, kontrol numunesine kıyasla daha düşük ağırlık kaybı meydana gelmiştir. Kontrol için renk değişimi (AE), kaplanmış örneklerle kıyasla saklama süresi boyunca daha fazla gözlenmiştir (Yousuf ve Srivastava, 2017).

Genel olarak bakıldığında engel teknolojileri, içerdiği uygulamalara (sıcaklık, yenilebilir film kaplama, UV-C) bağlı olarak ürünlerde farklı etkiler göstermektedir. Uygulanan her bir teknolojinin farklı avantajlara sahip olduğu düşünüldüğünde, bu uygulamaları aynı anda gerçekleştirmek ürünün raf ömrünün uzatılmasında katkı sağlamaktadır. Fakat kullanılan yöntemlerin birbirinin etkilerini azaltmayacak şekilde seçilmesi, engel teknolojilerinde önemli bir husustur.

## SONUÇ

Nar (*Punica granatum L.*), taze olarak veya meyve suyu, reçel, likör ve diğer formlarda da kullanılmaktadır. Narın içerdiği birçok bileşen birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda narın çeşitli türevlerinden olan nar kabuk ekstraktı, kabuk tozu ve nar suyu çeşitli gıda ürünlerinin özelliklerini iyileştirmek amacıyla katkı olarak da eklenmektedir. Bütün haldeki narın depolama süresi uzun olsa da kantitatif ve kalitatif kalite kayıpları raf ömrü boyunca meydana gelmektedir. Özellikle narın tanelenmiş formu dış ortama maruz kalma ve işleme operasyonlarından kaynaklanan doku hasarı nedeniyle çok daha hassas bir yapıdadır. Bu nedenle nar kalitesinin, raf ömrünün ve ekonomik değerinin azalmasını önleyecek hasat sonrası muhafaza metotları büyük bir önem kazanmaktadır. Hasat sonrası ısı uygulamaları ile soğuk zararlanmaları önlenilmekte, yenilebilir kaplamalar ile tüketici albenisi artırılmakta ve kimyasal uygulamalar ile çürümenin önüne geçilebilmektedir. Ayrıca modifiye atmosfer ambalajlama ile solunum hızı yavaşlatılmakta ve engel teknolojilerinin kullanımı ile de raf ömrü artırılmaktadır.

## TEŞEKKÜR

Makale konusuyla ilgili olarak Fatih Erdem ve Onur Çil'in yüksek lisans çalışmalarını FYL-2020-3234 ve FYL-2019-3151 proje numaraları ile

destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

OÇ ve FE, derlemenin araştırma ve yazma kısmında katkı sağlamıştır. MSA, derleme konusunu seçme, araştırma, yazma, inceleme ve düzenleme aşamalarında danışman olarak katkıda bulunmuştur. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

## KAYNAKLAR

Abdel Fattah, A.A., Ashoush, I.S., Alnashi, B.A. (2016). Effect of chitosan edible coating on quality attributes of pomegranate arils during cold storage. *J. Food and Dairy Sci.*, 7(10), 435-442, doi: 10.21608/jfds.2016.46049.

Ahmadiankia, N. (2019). Molecular targets of pomegranate (*Punica granatum*) in preventing cancer metastasis. *Iran J. Basic Med. Sci.*, 22(9), 977-988, doi: 10.22038/ijbms.2019.34653.8217.

AKİB (2020). Yaş Meyve ve Sebze Sektörü Türkiye Geneli 2018/2019 Ocak-Aralık Dönemi Değerlendirme Raporu. Akdeniz Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği.

Arendse, E., Fawole, O.A., Magwaza, L.S., Nieuwoudt, H., Opara, U.L. (2018). Evaluation of biochemical markers associated with the development of husk scald and the use of diffuse reflectance NIR spectroscopy to predict husk scald in pomegranate fruit. *Sci. Hortic.*, 232, 240-249, doi: 10.1016/j.scienta.2018.01.022.

Arendse, E., Fawole, O.A., Opara, U.L. (2015). Effects of postharvest handling and storage on physiological attributes and quality of pomegranate fruit (*Punica granatum L.*): A review. *Int. J. Postharvest Technol. Innov.*, 5(1), 13-31, doi: 10.1504/IJPTI.2015.072441.

Artés, F., Tudela, J.A., Villaescusa, R. (2000). Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biol.*

- Technol.*, 18(3), 245-251, doi: 10.1016/S0925-5214(00)00066-1.
- Ayhan, Z., Eştürk, O. (2009). Overall quality and shelf life of minimally processed and modified atmosphere packaged “ready-to-eat” pomegranate arils. *J. Food Sci.*, 74(5), 399-405, doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01184.x.
- Barman, K. (ed.), Sharma, S. (ed.), Siddiqui, M.W. (ed.) (2018). *Emerging postharvest treatment of fruits and vegetables*. Apple Academic Press, Waretown, USA, 386 p. ISBN: 9781771887007.
- Bassiri-Jahromi, S., Doostkam, A. (2019). Comparative evaluation of bioactive compounds of various cultivars of pomegranate (*Punica granatum*) in different world regions. *AIMS. Agric. Food*, 4, 41-55, doi: 10.3934/agrfood.2019.1.41.
- Bedel, H.A., Turgut, N.T., Kurtoglu, A.U., Usta, C. (2017). Effects of nutraceutical punicalic acid. *Indian J. Pharm. Sci.*, 79(3), 328-334, doi: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000234.
- Belay, Z.A., Caleb, O.J., Vorster, A., van Heerden, C., Opara, U.L. (2020). Transcriptomic changes associated with husk scald incidence on pomegranate fruit peel during cold storage. *Food Res. Int.*, 135, 1092852, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109285.
- Bolel, H., Koyuncu, M.A., Erbaş, D. (2019). Combined effects of controlled atmosphere storage and postharvest ozone treatment on storage life and quality of pomegranate. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(2), 195-202, doi: 10.29278/azd.555195.
- Boroushaki, M.T., Mollazadeh, H., Afshari, A.R. (2016). Pomegranate seed oil: A comprehensive review on its therapeutic effects. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 7(2), 430-442, doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.7(2).430-42.
- BUGEM (2019). Bitkisel Üretim Verileri. <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BUGEM.pdf> (Erişim tarihi: 2 Mayıs 2020).
- Candir, E., Ozdemir, A.E., Aksoy, M.C. (2018). Effects of chitosan coating and modified atmosphere packaging on postharvest quality and bioactive compounds of pomegranate fruit cv.‘Hicaznar’. *Sci. Horti.*, 235, 235-243, doi: 10.1016/j.scienta.2018.03.017.
- Colgecen, I., Aday, M. S. (2015). The efficacy of the combined use of chlorine dioxide and passive modified atmosphere packaging on sweet cherry quality. *Postharvest Biol. Technol.*, 109, 10-19, doi:10.1016/j.postharvbio.2015.05.016.
- Continella, A., Restuccia, C., Brighina, S., Pannitteri, C., Gentile, A., La Malfa, S. (2018). Influence of washing treatment on ready-to-eat pomegranate arils quality and safety. *Acta. Horti.*, 1194, 915-920, doi: 10.17660/ActaHort.2018.1194.129.
- Defilippi, B.G., Whitaker, B.D., Hess-Pierce, B.M., Kader, A.A. (2006). Development and control of scald on wonderful pomegranates during long-term storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 41(3), 234-243, doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.04.006.
- De Nigris, F., Williams-Ignarro, S., Sica, V., Lerman, L.O., D'Armiento, F.P., Byrns, R.E., Fiorito, C. (2007). Effects of a pomegranate fruit extract rich in punicalagin on oxidation-sensitive genes and eNOS activity at sites of perturbed shear stress and atherogenesis. *Cardiovasc. Res.*, 73(2), 414-423, doi: 10.1016/j.cardiores.2006.08.021.
- Desseva, I., Mihaylova, D. (2020). Influence of in vitro gastrointestinal digestion on phytochemicals in pomegranate juice. *Food Sci. Technol.*, 40, 211-216, doi: 10.1590/fst.07219.
- Doostkam, A., Iravani, K., Bassiri-Jahromi, S. (2020). *Punica granatum* L. (Pomegranate): A potential anti-microbial agent. *Antiinfect. Agents.*, 18(1), 2-14, doi: 10.2174/2211352517666190215113232.
- Duran, M., Aday, M.S., Zorba, N.N.D., Temizkan, R., Buyukcan, M.B., Caner, C. (2016). Potential of antimicrobial active packaging 'containing natamycin, nisin, pomegranate and grape seed extract in chitosan coating' to extend shelf life of fresh strawberry. *Food Bioprod. Process.*, 98, 354-363, doi: 10.1016/j.fbp.2016.01.007.
- Garcia-Pastor, M.E., Serrano, M., Guillen, F., Gimenez, M.J., Martinez-Romero, D., Valero, D.,

- Zapata, P.J. (2020). Preharvest application of methyl jasmonate increases crop yield, fruit quality and bioactive compounds in pomegranate 'Mollar de Elche' at harvest and during postharvest storage. *J. Sci. Food Agric.*, 100(1), 145-153, doi: 10.1002/jsfa.10007.
- Golkarian, M., Şen, F., Okşar, R.E. (2020). Effects of pre-cooling and modified atmosphere packaging on storability of pomegranate (*Punica granatum* 'Hicaznar') fruit. *Acta Hort.*, 1275, 237-244, doi: 10.17660/ActaHortic.2020.1275.33.
- Griñán, I., Morales, D., Collado-González, J., Falcón-Rodríguez, A.B., Torrecillas, A., Martín-Palomo, M.J., Centeno, A., Corell, M., Carbonell-Barrachina, A.A., Hernández, F. (2019). Reducing incidence of peel physiopathies and increasing antioxidant activity in pomegranate fruit under different irrigation conditions by preharvest application of chitosan. *Sci. Hort.*, 247, 247-253, doi: 10.1016/j.scienta.2018.12.017.
- Guerrero-Solano, J. A., Jaramillo-Morales, O. A., Velázquez-González, C., la O-Arciniega, D., Castañeda-Ovando, A., Betanzos-Cabrera, G., Bautista, M. (2020). Pomegranate as a potential alternative of pain management: A review. *Plants*, 9(4), 419, doi: 10.3390/plants9040419.
- Gumienna, M., Szwengiel, A., Górna, B. (2016). Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermentation processes. *Eur. Food Res. Technol.*, 242(5), 631-640, doi: 10.1007/s00217-015-2582-z.
- Haidari, M., Ali, M., Casscells III, S. W., Madjid, M. (2009). Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicine*, 16(12), 1127-1136, doi: 10.1016/j.phymed.2009.06.002.
- Hussein, Z., Caleb, O.J., Jacobs, K., Manley, M., Opara, U.L. (2015). Effect of perforation-mediated modified atmosphere packaging and storage duration on physicochemical properties and microbial quality of fresh minimally processed 'Acco' pomegranate arils. *LWT*, 64(2), 911-918, doi: 10.1016/j.lwt.2015.06.040.
- İkinci, A., Bolat, I., Simsek, M. (2018). International pomegranate trade and pomegranate standard. 1. International GAP Agriculture & Livestock Congress, 18 Kasım 2018, Şanlıurfa, 607-613 s.
- İlbey, Y.O., Ozbek, E., Simsek, A., Cekmen, M., Somay, A., Tasci, A.I. (2009). Effects of pomegranate juice on hyperoxaluria-induced oxidative stress in the rat kidneys. *Ren. Fail.*, 31(6), 522-531, doi: 10.1080/08860220902963871.
- İlhan, K. (2018a). Narın hasat sonrası hastalıklarına karşı hava ile ön soğutma ve ozon uygulamalarının etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 55(2), 129-137, doi: 10.20289/zfdergi.408799.
- İlhan, K. (2018b). Narın hasat sonrası hastalıklarına sisleme şeklinde bazı dezenfektanların ve Fumispore opp uygulamalarının etkisi. *Bursa Uludag Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 32(1), 113-126.
- Kandyliş, P., Kokkinomagoulos, E. (2020). Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives. *Foods*, 9(2), 122, doi: 10.3390/foods9020122.
- Kashash, Y., Doron-Faigenboim, A., Holland, D., Porat, R. (2019). Effects of harvest time on chilling tolerance and the transcriptome of 'Wonderful' pomegranate fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, 147, 10-19, doi: 10.1016/j.postharvbio.2018.09.005.
- Khawairakpam, A.D., Bordoloi, D., Thakur, K.K., Monisha, J., Arfuso, F., Sethi, G., Mishra, S., Kumar, A.P., Kunnumakkara, A.B. (2018). Possible use of *Punica granatum* (Pomegranate) in cancer therapy. *Pharmacol. Res.*, 133, 53-64, doi: 10.1016/j.phrs.2018.04.021.
- López-Rubira, V., Conesa, A., Allende, A., Artés, F. (2005). Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biol. Technol.*, 37(2), 174-185, doi: 10.1016/j.postharvbio.2005.04.003.
- Lurie, S., Pedreschi, R. (2014). Fundamental aspects of postharvest heat treatments. *Hort. Res.*, 1(1), 1-7, doi: 10.1038/hortres.2014.30.
- Maghoumi, M., Gómez, P.A., Mostofi, Y., Zamani, Z., Artés-Hernández, F., Artés, F. (2013). Combined effect of heat treatment, UV-C

- and superatmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cut pomegranate arils. *LWT*, 54(2), 389-396, doi: 10.1016/j.lwt.2013.06.006.
- Mantzourani, I., Terpou, A., Bekatorou, A., Mallouchos, A., Alexopoulos, A., Kimbaris, A., Bezirtzoglou, E., Koutinas, A.A., Plessas, S. (2020). Functional pomegranate beverage production by fermentation with a novel synbiotic *L. paracasei* biocatalyst. *Food Chem.*, 308, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125658.
- Meighani, H., Ghasemnezhad, M., Bakhshi, D. (2015). Effect of different coatings on post-harvest quality and bioactive compounds of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits. *J. Food Sci. Technol.*, 52(7), 4507-4514, doi: 10.1007/s13197-014-1484-6.
- Mir, M.M., Umar, I., Mir, S.A., Rehman, M.U., Rather, G.H., Banday, S.A. (2012). Quality evaluation of pomegranate crop - A review. *Int. J. Agric. Biol.*, 14(4), 658-667.
- Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. (2007). Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biol. Technol.*, 44(1), 26-33, doi: doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.010.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valero, D. (2006). Prestorage heat treatment to maintain nutritive and functional properties during postharvest cold storage of pomegranate. *J. Agric. Food Chem.*, 54(22), 8495-8500, doi: 10.1021/jf0615146.
- Mphahlele, R.R., Fawole, O.A., Makunga, N.P., Opara, U.L. (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC. Complement Altern. Med.*, 16(1), 143, doi: 10.1186/s12906-016-1132-y.
- Naik, D.R., Prasad, D.M., Veena, J., Padmavathamma, A.S., Naik, C.S. (2017). Storage studies on pomegranate cv. Bhagwa arils as influenced by various treatments. *Plant Arch.*, 17(2), 839-845.
- Opara, U.L., Atukuri, J., Fawole, O.A. (2015). Application of physical and chemical postharvest treatments to enhance storage and shelf life of pomegranate fruit - A review. *Sci. Hort.*, 197, 41-49, doi: 10.1016/j.scienta.2015.10.046.
- Öz, A.T., Eker, T. (2017). Effects of edible coating of minimally processed pomegranate fruit. *J. Hort. For. Bio.*, 21(1), 105-109.
- Özdemir, K.S., Gökmen, V. (2017). Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. *LWT*, 76, 172-180, doi: 10.1016/j.lwt.2016.10.057.
- Palou, L., Taberner, V., Guardado, A., Del Río, M.Á., Montesinos-Herrero, C. (2013). Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of pomegranate (*Punica granatum* cv. Mollar de Elche) in Spain. *Phytopathol. Mediterr.*, 52(3), 478-489, doi: 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-11581.
- Pareek, S., Valero, D., Serrano, M. (2015). Postharvest biology and technology of pomegranate. *J. Sci. Food Agric.*, 95(12), 2360-2379, doi: 10.1002/jsfa.7069.
- Qiu, L., Zhang, M., Tang, J., Adhikari, B., Cao, P. (2019). Innovative technologies for producing and preserving intermediate moisture foods: A review. *Food Res. Int.*, 116, 90-102, doi: 10.1016/j.foodres.2018.12.055.
- Raso, J., Barbosa-Cánovas, G.V. (2003). Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43(3), 265-85, doi: 10.1080/10408690390826527.
- Roukas, T., Kotzekidou, P. (2020). Pomegranate peel waste: a new substrate for citric acid production by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation under non-aseptic conditions. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27(12), 13105-13113, doi: 10.1007/s11356-020-07928-9.
- Saba, M.K., Amini, R. (2017). Nano-ZnO/carboxymethyl cellulose-based active coating impact on ready-to-use pomegranate during cold storage. *Food Chem.*, 232, 721-726, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.076.

- Salehi, F. (2020). Physicochemical characteristics and rheological behaviour of some fruit juices and their concentrates. *J. Food Meas. Charact.*, doi: 10.1007/s11694-020-00495-0.
- Salwe K.J., Sachdev D.O., Bahurupi Y., Kumarappan M. (2015). Evaluation of antidiabetic, hypolipidemic and antioxidant activity of hydroalcoholic extract of leaves and fruit peel of *Punica granatum* in male Wistar albino rats. *J. Nat. Sci. Biol. Med.*, 6(1), 56-62, doi: 10.4103/0976-9668.149085.
- Sason, G., Nussinovitch, A. (2020). Selective protective coating for damaged pomegranate arils. *Food Hydrocoll.*, 103, doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.105647.
- Selcuk, N., Erkan, M. (2016). Impact of passive modified atmosphere packaging on physicochemical properties, bioactive compounds, and quality attributes of sweet pomegranates. *Turk. J. Agric. For.*, 40(4), 475-488, doi: 10.3906/tar-1509-57.
- Shaarawi, S.A., Nagy, K.S. (2017). Effect of modified atmosphere packaging on fruit quality of "Wonderful" pomegranate under cold storage conditions. *Middle East J. Agric. Res.*, 6(2), 495-505.
- Sharma, R.R., Datta, S.C., Varghese, E. (2018). Effect of Surround WP, a kaolin-based particle film on sunburn, fruit cracking and postharvest quality of 'Kandhari' pomegranates. *Crop Prot.*, 114, 18-22, doi: 10.1016/j.cropro.2018.08.009.
- Sreekumar, S., Sithul, H., Muraleedharan, P., Azeez, J.M., Sreeharshan, S. (2014). Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *BioMed Res. Int.*, 2014, 1-13, doi: 10.1155/2014/686921.
- Tayyari, F., Khazaei, J., Rajaei, P., Jouki, M. (2017). Effects of modified atmosphere packaging systems, low temperature and storage time on the quality of fresh minimally processed pomegranate arils. *Carpathian J. Food Sci. Technol.*, 9(1), 16-27.
- Venkataramudu, K., Rajesh Naik, S.M., Viswanath, M., Reddy, G.C. (2018). Packaging and storage of pomegranate fruits and arils: A review. *Int. J. Chem. Stud.*, 6(6), 1964-1967.
- Viswanath, M., Srinivasulu, B., Lakshmi, K.S., Gopal, K., Balakrishna, M., Reddy, M.L.N. (2017). Effect of different edible coatings and storage temperatures on quality parameters of ready-to-eat arils of pomegranate cv. Bhagwa packed in clamshells. *Plant Arch.*, 17(1), 299-306.
- Wani, S.H., Herath, V. (2018). *Cold tolerance in plants: Physiological, molecular and genetic perspectives*. Springer, Switzerland, 203 p. ISBN: 978-3-030-01414-8
- Yancló, L., Fawole, O.A., Opara, U.L. (2018). Effects of heat treatments on sensory attributes and decay incidence of pomegranate ('Wonderful') fruit. *Acta Hort.*, 1201, 183-190, doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1201.25.
- Yousuf, B., Srivastava, A.K. (2017). Flaxseed gum in combination with lemongrass essential oil as an effective edible coating for ready-to-eat pomegranate arils. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104, 1030-1038, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.025.
- Zhang, J., Celli, G.B., Brooks, M.S. (2019). Natural Sources of Anthocyanins. In: *Anthocyanins from Natural Sources: Exploiting Targeted Delivery for Improved Health*, Celli, G.B. (ed.), Brooks, M.S. (ed.), Royal Society of Chemistry, UK, pp. 1-33, doi: 10.1039/9781788012614-00001.
- Zainalabidin, F.A., Sagrin, M.S., Azmi, W.N.W., Ghazali, A.S. (2019). Optimum postharvest handling-effect of temperature on quality and shelf life of tropical fruits and vegetables. *J. Trop. Resour. Sustain. Sci.*, 7, 23-30.



## PREVENTING OF PACKAGING EXUDATION IN FRANKFURTER SAUSAGES BY USING MODIFIED POTATO STARCH

**Maliyanmu SAIMATI, Hüseyin GENÇCELEP\***

Department of Food Engineering, Engineering Faculty, Ondokuz Mayıs University, 55139 Samsun, Turkey

Received / Geliş: 17.02.2019; Accepted / Kabul: 14.07.2020; Published online / Online baskı: 07.09.2020

Saimati, M., Genççelep, H. (2020). Preventing of packaging exudation in frankfurter sausages by using modified potato starch. *GIDA* (2020) 45(5)894-906 doi: 10.15237/gida.GD20031

Saimati, M., Genççelep, H. (2020). Preventing of packaging exudation in frankfurter sausages by using modified potato starch. *GIDA* (2020) 45(5)894-906 doi: 10.15237/gida.GD20031

### ABSTRACT

The effect of potato starch modified by pre-gelatinization on frankfurter sausage exudation level was investigated. This liquid exuded from the food product may have a negative impact in sensorial properties of packaged food as well as in its microbial quality for consumers acceptance. Modified potato starch caused a decrease in exudation formation vacuum-sealed packages of frankfurter sausages stored at +4 °C. The juice exuded into the package of the control group was higher than the other groups ( $P<0.05$ ). Also, some quality characteristics of frankfurter sausages (color, pH, water activity, thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), conjugated diene and free fatty acid (FFA) were analyzed during the storage period. Potato starch exhibited a high reducing hydrolysis activity in this study. As a result; it is advisable to use modified potato starch instead of normal potato starch to reduce or delay the exudation level in sausages.

**Keywords:** Frankfurter sausage, modified potato starch, exudation, TBARS, conjugated diene

## MODİFİYE PATATES NİŞASTASI KULLANILARAK ÜRETİLEN FRANKFURTER SOSİSLERDE AMBALAJA SIZINTININ ÖNLENMESİ

### ÖZ

Jelatinleşme öncesi modifiye edilmiş patates nişastasının frankfurter sosiste sızıntı düzeyine etkisi araştırıldı. Gıdalardan sızan bu sıvının, paketlenmiş gıdaların duyu özelliklerinde ve ayrıca tüketicinin kabulü için ürünün mikrobiyolojik kalitesinde olumsuz bir etkisi olabilmektedir. Modifiye edilmiş patates nişastası, vakumlu frankfurter sosislerin depolanması sırasında ambalajda oluşan sızıntı miktarında bir azalmaya neden olmuştur. İstatistiksel olarak kontrol grubunun ambalajına sızan miktar diğer gruplardan daha yüksek olarak tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Ayrıca, frankfurter sosislerin (renk, pH, su aktivitesi, tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS), konjuge dien ve serbest yağ asidi (FFA) bazı kalite özellikleri de depolama süresi boyunca analiz edilmiştir. Sonuç olarak, frankfurter sosislerde oluşabilecek sızıntı seviyesini azaltmak veya geciktirmek için normal patates nişastası yerine modifiye patates nişastası kullanılması tavsiye edilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Frankfurter sosis, modifiye patates nişastası, sızıntı, TBARS, konjuge dien

\*Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar

✉ hgenccelep@omu.edu.tr,

☎ (+90) 362 312 1919/1512

☎ (+90) 362 457 6035

Maliyanmu Saimaiti: ORCID no: 0000-0002-4537-0422

Hüseyin Genççelep; ORCID no: 0000-0002-8689-7722



## INTRODUCTION

Oil-in-water (o/w) emulsions are dispersed systems composed of an oil phase dispersed in an aqueous phase. Dispersed phase molecules could be stabilized by the proteins, polysaccharides or emulsifiers. Such types of dispersions have a tendency to be thermodynamically unstable. Emulsion instability is linked to two physical processes. The first one is the increase the dimensions of the dispersed phase particles due to flocculation or coalescence; the other is the migration of particles leading to creaming or sedimentation. The visual effect of these processes is a clear phase separation of the emulsion (Dickinson, 2009; Pycia vd., 2018).

Modified starch is obtained through the physical, enzymatic, or chemical processing of starches and the alteration of some properties. The reason for the modification of starch is to improve the properties and performance for different applications. The starch is modified in order to exhibit changes in properties such as acidity, cooling time or freezing resistance, structure, viscosity, and gelatinization time. Modified starch is also used as a thickener, stabilizer or emulsifier in the field of food (Ölçer ve Akın, 2008).

Processed food products, such as meat or poultry, especially vacuum packaged frankfurter sausages are characterized by the generation of exudates during the storage time. This liquid exuded from the food product may have a negative impact on sensorial properties of packaged food as well as on its microbial quality. In this context, exuded liquid allows the proliferation of pathogens or spoilage microorganisms, since this exuded liquid acts as a media, which is rich in macro nutrients, such as carbohydrates, proteins and fats, and micronutrients, micro minerals and water-soluble vitamins that may be divided from food. Deterioration in appearance, bacterial spoilage, and loss of exudates are the main problems in the storage of sausages. The major disadvantages of vacuum package of sausages were compression of the sausage and high drip-loss. Blowing, souring, and formation of exudates were observed in vacuum-packed, frankfurter sausages and associated with high numbers of lactic acid

bacteria (LAB), particularly homofermentative lactobacilli (Narasimha Rao ve Sachindra, 2002; Otoni vd., 2016).

Moisture drip absorber pads are commonly placed under packaged fresh meats, fish, and poultry to absorb unsightly tissue drip exudate but these pads are improper to use in vacuum packed sausages. In order to avoid this risk and preserve sensorial characteristics of packaged food products for consumers acceptance, some materials have been used widely by the food industry. Therefore, some materials such as fiber, carbohydrates, soya protein concentrate, soy protein isolate, precipitated milk protein (Nacaseinate), egg white proteins and modified starch can be used for preventing exudation. In this study, it was aimed to investigate the effects of potato starch modified with pre-gelatinization method on the quality and technological properties of frankfurter sausage. 4% normal potato starch (unmodified) and modified potato starch were added to sausage prepared with beef and chicken meat, and the physical, chemical, and technological properties of the products especially amount of the exudation of the juice into package were examined.

## MATERIALS AND METHODS

### Materials

Normal potato starch (Migros, Istanbul), beef meat (including 20.36% protein, 4.24% fat, 73.77% moisture, 2.79% FFA, 5.52 pH), animal fat (0.76% FFA) and chicken meat (including 21.67% protein, 4.49% fat, 72.92% moisture, 6.45% FFA, 5.88 pH) were used in sausage production purchased from a local market in Samsun. The beef and chicken meats used were brought to the lab one day before and stored at 24 hours at + 4°C.

### Formulation and Sausage Preparation

The formulations of beef and chicken meat sausage with normal (unmodified) potato starch or potato starch modified by pre-gelatinization are summarized in Table 1.

All subcutaneous and intramuscular fat and connective tissue were removed from meat. Meat

and fat were ground through an 8 mm plate. Each batch of samples consisted of four (two meat, two chicken meat) meat batters, which differed, in their composition by adding modified and unmodified starch (4 %) (According to Turkish regulations, the level of starch in sausages should

not exceed % 4 (Turkish Food Codex Meat, Prepared Meat Mixes and Meat Products Communique Regulation no 2018/522-30670). Four different types of frankfurter were formulated with salt, spices mix, and sodium nitrite (Table 1).

Table 1. Formulation of frankfurters

Ingredients	BC	BM	CC	CM
Beef (g)	2000	2000	-----	-----
Chicken meat (g)	0	0	2000	2000
Cattle fat (%)	20	20	20	20
Ice (%)	25	25	25	25
Unmodified starch (%)	4	0	4	0
Modified starch (PGS) (%)	0	4	0	4
Salt (NaCl) (%)	2	2	2	2
Spice mixture (%)	2	2	2	2
Nitrite (NaNO <sub>2</sub> ) (%)	0.015	0.015	0.015	0.015

BC: Beef control group (beef + normal potato starch), BM: Beef application group (beef + modified starch), CC: Chicken meat control group (chicken meat + normal potato starch, CM: chicken meat + modified starch); PGS; Pre-gelatinization modified potato starch; Spice mixture: white pepper, allspice, coriander, cloves, cinnamon, garlic powder, onion powder, mustard powder, phosphate (E450), ascorbic acid (E300), sodium ascorbate (E301), spice extracts.

Raw meat was homogenized and ground for 1 min in a cutter (MADO Typ MTK 662, Dornhan/Schwarzwald, Germany). NaCl (2.0 %) was then added to the meat mixture and mixed for 1 min. After mixing, the starch (4%), ice (25%), fat (20%), spices were added and batters were homogenized for 1 min. The emulsion was maintained at temperatures <10 °C and a temperature probe was used to monitor the temperature during this process. After emulsifying, meat batter was stuffed into plastic casing (30 mm diameter, Kalle Nalo Wursthüllen, Weisbaden Germany) using a stuffer (MADO Typ MTK 591, Dornhan/Schwarzwald, Germany). The frankfurters were then heated at 90 °C for 30 min in a water bath (Microtest Makine, İstanbul, Turkey). The cooked frankfurter was subjected to cooled water (5±1 °C) bath. Sausages were peeled and vacuum packaged (Multivac, Wolfertschwenden, Germany) then stored at 4 ± 1 °C for 60 days in refrigerator.

## Methods

### Chemical Analysis

Samples were diluted 10% with distilled water and homogenized (3000 rpm, 2 min), then pH values were measured with a pH meter (Starter 2100, OHAUS). Total moisture (%) contents were determined by heating at 105°C to a constant weight (AOAC, 2000). Protein quantities of sausage were determined at the beginning of storage according to the Kjeldahl method (AOAC, 2000). The amount of fat in the samples was determined at the beginning of storage using diethyl ether as solvent with the Soxhlet extraction system (AOAC, 2000). The Hunter *L*\*, *a*\*, and *b*\* values of the samples were determined by colorimetry (Colorflex EZ, USA). Water activity analysis was carried out at 25 °C using AQUALAB Dew Point Water Activity Meter (USA).

**Modified Starch by Pre-gelatinization (PGS)**

The Micro Visco Brabender Amylograph (model 8101, Brabender, Duisburg, Germany) was used to prepare modified starch samples with some modifications according to the method of Aktaş ve Gençcelep (2006). Slurries of normal (unmodified) potato starch (15 g of potato starch and 100 mL of water) were poured into the amylograph bowl and loaded into amylograph. The starch suspensions were uniformly heated from 30 to 95 °C, held at 95 °C for 3 min, and cooled to 40 °C. Gelatinized starch was dried at 40 °C and sieved from 212 µm (Aktaş ve Gençcelep, 2006)

**Water and Oil Binding Capacity**

Water and oil binding capacity were determined according to the method of Yousif vd. (2012) with a slight modification. 15 mL of distilled water was added to 1 g of the starch sample in a weighed centrifuge tube. The tube was agitated on a vortex mixer for 2 min, and then centrifuged at 6,000×g for 20 min. The clear supernatant was removed and discarded. Water binding capacity (WBC) is expressed as the weight in gram of water bound by 1 g of dried sample. For the oil binding capacity (OBC) determination, 15 mL refined corn oil was added to 1 g of starch sample in a weighed centrifuge tube. The tube was agitated on a vortex mixer for 2 min, and then centrifuged at 6,000×g for 20 min. The clear supernatant was removed and discarded. Oil binding capacity is expressed as gram of oil bound by 1 g dried sample.

**Water Swelling Capacity of Starches**

The water swelling capacity of starches was determined with the method by Lecumberri vd. (2007). Firstly, 1 g starch (M, weight) graded cylinder was placed and the volume (V1) was measured. Then, 10 mL of distilled water was added there, followed by agitation until a homogeneous dispersion was formed. The resulting dispersion was allowed to stand at room temperature for 24 hours, so that the powder could completely bind the water. After 24 hours, the volume (V2) of the wetted starch was measured and recorded. Water swelling capacity is

calculated according to the formula (WSC) (ml/g)=(V2-V1)/M.

**Water Solubility Index of Starches**

Analysis of water solubility index of starch samples was determined at 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C and 70°C using the method of Anderson et al. (1969). 1% aqueous suspension (S1) of the starch sample was prepared in centrifuge tubes, and the suspension was heated in a water bath at the temperatures mentioned above for 1 h with constant stirring. The resulting mixture was centrifuged at 3.000×g for 10 minutes. The supernatant deposited on the surface was removed and the samples were dried at 105°C for 18 h and weighed (S3). The water solubility index is calculated according to the formula (%) = S3/S1×100.

(S1): Sample weight

**The Exudation of the Juice into the Package (JEP)**

Determination of juice exuded into package samples, according to the method of Bloukas vd. (1997) with a slight modification. Storage period on the 1., 15., 30., 45. and 60th days, the sausage removed from the package was dried with a paper towel. It was weighed and recorded before and after the sausage was wipe dried. In the same way, the weights of the paper towels before and after dampening were weighed. This analysis was performed with 3 packet samples from each group. The exudation value in the package is calculated according to the following formula.

$$X = (K2 - K1) + (M1 - M2)/2$$

$$JEP = X/M1 \times 100$$

K1: Initial weight of paper towel

K2: Weight of paper towel after dampening

M1: Weight of sausage sample before wipe dried

M2: Weight of sausage sample after wipe dried

JEP: Juice exuded into the package (%)

**Analysis of Conjugated Diene**

The formation of conjugated dienes was determined as described by Juntachote vd. (2007). For this purpose, 3 g sausage sample was mixed with 30 mL distilled water and a suspension was formed. Then 0.5 mL of this mixture was taken

and mixed with 5 mL of hexane: isopropanol (3:1) and centrifuged at  $2,000\times g$  for 5 minutes. At the end of the centrifugation, the absorbance of the upper phase at a wavelength of 233 nm was measured. The absorbance read is expressed as the conjugate diene value (Juntachote et al., 2007).

#### **Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)**

To determine the TBARS values, a sample of 10 g sausage was weighed, and 25 mL of 20% trichloroacetic acid (TCA) and 20 mL of purified water were added followed by homogenization for 2 minutes using Ultra Turrax (10,000 rpm). The resulting mixture was filtered through Whatman No: 1 filter paper and 5 mL of filtered capped tubes was removed from the filtrate. The cover was closed by adding 5 mL of 0.02 M TBA (2-thiobarbituric acid) solution and shaken. The shaken tubes were kept in boiling water bath at 93 °C for 30-35 minutes, then cooled in tap water for 10 minutes and transferred to spectrophotometer tubes to read the absorbance value against the probe at 532 nm wavelength. The absorbance values read were multiplied by a factor of 7.8 and the TBARS values was determined as mg malonaldehyde equivalent substances / kg as an example (Lemon, 1975).

#### **Free Fatty Acids (FFA)**

Free fatty acids were determined by according to the Gökalp vd. (1995). 5 g of sample weighed and add 50 mL of a mixture of diethyl ether: ethanol (1:1, v/v) were added to sample. Mixture was stirred for 1 min to dissolve the fatty acids. Mixture was titrated with 0.01 M ethanolic NaOH until a permanent pink color was obtained (at least 15 seconds). The amount of free fatty acid was calculated as the oleic acid.

#### **Statistical Analysis**

The data of the study were subjected to variance analysis using the package program, and the sources of variation that were significant in terms of statistics were compared with the Duncan multiple comparison test (SPSS, 2008).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

Dependent variables tested for monitoring the effect of functional ingredients on the technological properties directly related to the exudation and quality of beef and chicken meat emulsions were classified as water activity ( $a_w$ ), color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ), pH, TBARS, FFA and juice exuded into the package (JEP %).

Mean values of variance analysis results of pH, moisture, water binding capacity (WBC), oil binding capacity (OBC), and water swelling capacity (WSC) of normal (unmodified) potato starch and modified potato starch are given in Table 2, and the results of the water solubility index (WSI) are shown in Table 2. The water binding capacity, oil binding capacity, and water swelling capacity values determined in starch samples were statistically different ( $P<0.05$ ). Modified starch has also been found to have higher oil binding capacity and binding/swelling capacity (at room temperature). The stabilizing effect of modified starches in emulsions is related to their high electrical charge and having more hydrophilic-lipophilic groups within structure, which increase the lipid and water interactions (Alamanou vd., 1996). These groups form a charged layer round fat droplets, causing mutual repulsion, reducing interfacial tension and preventing coalescence. With the modification of starch, technological properties have changed. Similar results were found by Aktaş ve Genççelep (2006).

As the temperature increased, the water solubility index of the modified starch was measured higher than the normal starch. This could be as a result of the ability of modified starch to form complexes with water that improves water retention. The result of modification could bind more water because of the hydrophilicity groups. Pre-gelatinized modified potato starch performs well in high moisture foods, such as in meat-emulsified products like sausages the water solubility index, water swelling capacity, water and oil binding properties are much better than normal starch (Table 2). This structure easily reabsorbed most of the extruded water if the water separation was too slow (Table 4).

Table 2. Some composition analysis and water solubility index (WSI) results of normal and modified starches.

Analysis	NPS	MPS
pH	6.44±0.07 <sup>a</sup>	5.96±0.02 <sup>b</sup>
Moisture (%)	14.86±0.55 <sup>a</sup>	7.92±0.46 <sup>b</sup>
Fat (%)	0.20±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.01 <sup>a</sup>
Protein (%)	0.08±0.01 <sup>a</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>
Ash (%)	0.28±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.01 <sup>a</sup>
WBC	0.846±0.065 <sup>b</sup>	5.665±0.417 <sup>a</sup>
OBC	1.034±0.073 <sup>b</sup>	1.414±0.040 <sup>a</sup>
WSC (mL/g)	0.082±0.020 <sup>b</sup>	5.242±0.027 <sup>a</sup>
L*	93.01±1.07 <sup>a</sup>	91.10±1.25 <sup>a</sup>
a*	-0.1±0.36 <sup>a</sup>	0.22±0.09 <sup>a</sup>
b*	4.25±1.27 <sup>a</sup>	3.52±0.17 <sup>a</sup>

Water solubility index (WSI)		
Temperature (°C)	%	%
10	1.59±0.14 <sup>eB</sup>	2.57±0.31 <sup>gA</sup>
20	1.67±0.14 <sup>eB</sup>	6.77±1.62 <sup>fA</sup>
30	2.65±0.15 <sup>dB</sup>	8.13±0.47 <sup>eA</sup>
40	3.66±0.43 <sup>cB</sup>	10.19±0.62 <sup>dA</sup>
50	4.01±0.60 <sup>cB</sup>	11.56±1.01 <sup>cA</sup>
60	10.31±1.54 <sup>bB</sup>	14.66±1.06 <sup>bA</sup>
70	13.97±1.82 <sup>aB</sup>	19.13±0.83 <sup>aA</sup>

Values are means ± standard deviation. <sup>a-b</sup>: Means on the same line with different letters are different (P<0.05). NPS: Normal (unmodified) potato starch. MPS: Modified potato starch. WBC: Water binding capacity. OBC: Oil binding capacity. WSC: Water swelling capacity.

<sup>a-c</sup>: Means on the same column with different letters are different (P<0.05) in water solubility index. <sup>A-B</sup>: Means on the same line with different letters are different (P<0.05) in water solubility index.

Table 3. The chemical compositions and colour values (*L\**, *a\** and *b\**) of frankfurter sausages

Samples	Moisture (%)	Protein (%)	Fat (%)	L*	a*	b*
BC	63.75±0.72 <sup>a</sup>	13.43±0.15 <sup>a</sup>	14.01±0.94 <sup>a</sup>	44.83±1.50 <sup>a</sup>	14.99±0.56 <sup>ab</sup>	16.14±0.72 <sup>a</sup>
BM	63.20±0.91 <sup>a</sup>	12.67±0.07 <sup>ab</sup>	14.94±0.73 <sup>a</sup>	44.83±1.41 <sup>a</sup>	15.57±0.42 <sup>a</sup>	16.28±0.41 <sup>a</sup>
CC	64.56±0.16 <sup>a</sup>	14.12±0.94 <sup>a</sup>	12.77±0.83 <sup>b</sup>	62.96±1.53 <sup>a</sup>	14.48±0.23 <sup>ab</sup>	22.30±0.46 <sup>b</sup>
CM	63.89±0.08 <sup>ab</sup>	13.86±0.28 <sup>ab</sup>	13.56±0.50 <sup>a</sup>	62.30±1.71 <sup>a</sup>	14.98±0.30 <sup>a</sup>	24.16±0.33 <sup>a</sup>

Values are means ± standard deviation. <sup>a-c</sup>: The difference between the values with different exponents in the same column is significant for each product types (P <0.05). BC: Control group (beef + normal potato starch), BM: (beef + modified potato starch), CC: control group (chicken meat + normal potato starch), CM: (chicken meat + modified potato starch).

When the values were examined, the moisture content of the sausage was found to vary between 63.20% and 64.56%. There was no statistical difference between sausage control and application groups (P>0.05). Purma (2006) found that the content of moisture changed between

55.3-56.3% and statistically no significant difference (P>0.05) was found between the samples in the study of the dried apricot pulp in sausage production. It was determined that the protein content of sausage changed between 12.67 and 14.12%, the highest amount of protein

was in CC and the lowest amount of protein was in BM group. The amount of protein was determined lower in products produced by adding modified starch. This result is probably related to the different protein content in starch. It was determined that the fat contents of sausage changed between 12.77 and 14.94% (Table 3), the highest amount of fat was found in the BM group and the lowest amount of fat was in the CC group (Table 3).

There was no significant difference in the brightness ( $L^*$ ) values between each chicken groups and beef groups ( $P>0.05$ ). The mean redness ( $a^*$ ) values were found different in all groups (Table 3). There was statistically significant difference between the CC and CM groups ( $P<0.05$ ) in the values of yellowness ( $b^*$ ),

but there was no statistically difference between the BC and BM group ( $P>0.05$ ). The color values of sausage made with chicken meat were found to be quite different from those of beef sausage. The reason is that the amount of myoglobin in chicken meat is lower than the amount of it in beef (Turp, 1999). The result is lighter colored products. The effect of meat difference was also determined in sausages'  $a^*$  and  $b^*$  values. Ayo vd. (2008) found that the addition of walnuts did not have a significant effect on the  $L^*$  value of sausages, but a significant increase in the values of  $a^*$  and  $b^*$ .  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values of high and low-fat control sausages were found very close to each other and they obtained the result that the amount of fat did not affect the color parameter.

Table 4. Analysis results of frankfurter sausages during the storage periods

Sample type	pH	JEP (%)	aw	Conjugated diene	TBARS (mg MA/kg)	FFA (%)
BC	6.30±0.11 <sup>a</sup>	0.76±0.287 <sup>a</sup>	0.976±0.006 <sup>a</sup>	0.433±0.118 <sup>a</sup>	0.669±0.268 <sup>b</sup>	2.21±0.31 <sup>a</sup>
BM	6.27±0.11 <sup>b</sup>	0.56±0.065 <sup>b</sup>	0.970±0.007 <sup>b</sup>	0.398±0.108 <sup>ab</sup>	0.870±0.314 <sup>a</sup>	1.88±0.18 <sup>b</sup>
Significance	**	**	**	**	**	**
Storage period (day)						
1	6.16±0.017 <sup>d</sup>	0.45±0.10 <sup>b</sup>	0.969±0.007 <sup>b</sup>	0.240±0.039 <sup>c</sup>	0.626±0.043 <sup>b</sup>	1.87±0.18 <sup>b</sup>
15	6.18±0.023 <sup>d</sup>	0.64±0.08 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0.979±0.003 <sup>a</sup>	0.382±0.016 <sup>b</sup>	0.607±0.153 <sup>b</sup>	1.84±0.28 <sup>b</sup>
30	6.39±0.019 <sup>b</sup>	0.62±0.06 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	0.974±0.007 <sup>ab</sup>	0.418±0.060 <sup>b</sup>	0.633±0.160 <sup>b</sup>	2.04±0.08 <sup>ab</sup>
45	6.29±0.027 <sup>c</sup>	0.82±0.355 <sup>a</sup>	0.970±0.011 <sup>ab</sup>	0.510±0.038 <sup>a</sup>	0.892±0.495 <sup>ab</sup>	2.19±0.23 <sup>ab</sup>
60	6.42±0.021 <sup>a</sup>	0.76±0.22 <sup>a</sup>	0.973±0.001 <sup>ab</sup>	0.528±0.031 <sup>a</sup>	1.091±0.193 <sup>a</sup>	2.30±0.42 <sup>a</sup>
Significance	**	**	**	**	**	**
CC	6.28±0.12 <sup>a</sup>	0.63±0.128 <sup>a</sup>	0.973±0.005 <sup>a</sup>	0.389±0.153 <sup>a</sup>	0.601±0.162 <sup>a</sup>	3.25±0.32 <sup>a</sup>
CM	6.23±0.13 <sup>b</sup>	0.57±0.064 <sup>ab</sup>	0.969±0.007 <sup>a</sup>	0.388±0.143 <sup>a</sup>	0.652±0.153 <sup>a</sup>	3.12±0.25 <sup>a</sup>
Significance	**	**	NS	NS	NS	NS
Storage period (day)						
1	6.11±0.033 <sup>d</sup>	0.45±0.070 <sup>b</sup>	0.968±0.004 <sup>b</sup>	0.234±0.039 <sup>c</sup>	0.540±0.071 <sup>b</sup>	2.93±0.201 <sup>b</sup>
15	6.12±0.028 <sup>d</sup>	0.60±0.081 <sup>a</sup>	0.969±0.008 <sup>b</sup>	0.251±0.031 <sup>c</sup>	0.526±0.026 <sup>b</sup>	2.98±0.047 <sup>ab</sup>
30	6.37±0.037 <sup>b</sup>	0.65±0.074 <sup>a</sup>	0.972±0.004 <sup>ab</sup>	0.371±0.047 <sup>b</sup>	0.572±0.167 <sup>b</sup>	3.35±0.135 <sup>a</sup>
45	6.25±0.031 <sup>c</sup>	0.64±0.074 <sup>a</sup>	0.978±0.008 <sup>a</sup>	0.515±0.060 <sup>a</sup>	0.617±0.055 <sup>b</sup>	3.31±0.467 <sup>ab</sup>
60	6.41±0.021 <sup>a</sup>	0.64±0.098 <sup>a</sup>	0.969±0.005 <sup>b</sup>	0.571±0.030 <sup>a</sup>	0.879±0.067 <sup>a</sup>	3.39±0.156 <sup>a</sup>
Significance	**	**	**	**	**	**

Values are means ± standard deviation. \*\* $P<0.01$ ; <sup>a-c</sup>: The difference between the values with different exponents in the same column is significant for each product types ( $P<0.05$ ). BC: Control group (beef + normal potato starch), BM: (beef + modified potato starch), CC: control group (chicken meat + normal potato starch), CM: (chicken meat + modified potato starch). JEP: Juice exuded into the package; NS: not significant.

Starch modification had a significant effect on pH, JEP,  $a_w$ , conjugated diene, TBARS, and FFA in meat frankfurter sausages (Table 4). In chicken frankfurter sausage, starch only had an effect on pH ( $P < 0.05$ ). The presence of pre-gelatinization modified potato starch in the beef and chicken emulsion formulation was found to have a statistically significant ( $P < 0.01$ ) effect on pH, JEP,  $a_w$ , conjugated diene, TBARS and FFA values of samples during storage time. When the test results of the averages of the pH values of sausage were examined, the mean pH values of the control groups (BC and CC) was effect to be statistically different from the mean values of BM and CM groups ( $P < 0.05$ ).

Control (BC and CC) groups were found to have higher pH values. This may be explained by the fact that the pH value of the normal starch used in the manufacture of control group sausage was higher than the pH value modified starch (Table 2). In Table 4, pH value showed a decrease on the 45th day of storage and increased again on the 60th day both meat and chicken frankfurter sausage. It is thought that this change in the pH values of the 45th day is due to the partial disruption of the proteins to the amino acids and the fatty acids to free fatty acids. However, this effect has not been observed in later stages of storage. When the pH values of all samples were examined, it was found that the pH values tended to increase during storage. During cold storage of emulsified type meat products such as sausage, lactic acid bacteria multiply and decrease pH (Ertaş ve Karabaş, 1998; Şişik, 2008). In this present study, the pH drop was not achieved when compared with other research results. This result is probably regarded to the effect of basic character substances in the structure. Cooked meat products also typically exude a liquid composed of water, fat and protein, which drips to the vacuum packaged sausage in the refrigerator. This liquid accounts for most of the weight lost during the storage and represents a loss of a marketable product, which is not sold and it can also create a sanitation or microbiological development problem in vacuum packed sausages.

As can be observed in Table 4, a high capacity to hold juice exudates was obtained in modified starch sausages. The exudation of the control groups to the package was found to be statistically different from the mean of BM and CM groups ( $P < 0.05$ ). Control (BC) group was found to have a higher exudation percent. Even though modified starch exhibited the lowest exudation loss (0.56%) in comparison with the control (0.76%) in meat frankfurter sausage, JEP (%) values were similar in chicken group statistically. Juice exuded into the package was increased during the storage period of sausages (Table 4). Despite the high percent loss of juice, moisture, the water activity levels remained close to those of the other formulations. During the storage period, the data of the percent of juice exuded into the package in control sausages found that was 0.45% to 0.82% in meat frankfurter and 0.45% to 0.65% in chicken frankfurter for which there was the significant difference between the means. Grizotto vd. (2012) reported that the values found for the percent loss of juice exuded in the package that was 1.24% to 1.42%, for which there was no significant difference between the means either in the study using okara flour at the different ratio (1.5%-4%).

During storage, the lower JEP value than meat frankfurter was determined in chicken frankfurter. This can be explained by protein proportion found in chicken sausages (Table 3). The amount of water held in foods increases as the protein content increases. This can be explained as the rate of water solubility index, water and oil binding capacity and water swelling capacity of modified starch were more than normal starch (Table 2). Also, amylopectin may govern the interactions between water and pregelatinized starches. It has stabilizing effects, whereas amylose forms gels and has a strong tendency to form complexes with lipids and other components (Hermansson ve Svegmark, 1996). While potato starch has about 72–75% amylopectin, and phosphate groups covalently linked to amylopectin in potato starch increase its hydrophilic nature.

The highest levels of exudation occurred in the control sausage (BC and CC) compared to modified potato starch (Table 4). This indicates that modified potato starch has better hydration/binding properties. Modification might increase these interactions. Water can bind to starch and its modified derivatives by capillary effects, hydrogen bonds, ionic bonds and/or hydrophobic interactions, and by surface tension in the pores of the matrix (Colmenero *vd.*, 2005; Thebaudin *vd.*, 1997). Alamanou *vd.* (1996) and Hughes *vd.* (1997) also observed that increasing the percentage of added hydrocolloid reduced total expressible fluid. This might be attributed to the better absorption by modified starches of the water added during formulation. The stabilizing effect of modified starches in emulsions is related to their high electrical charge and having more hydrophilic-lipophilic groups within the structure, which increase the lipid and

water interactions (Alamanou *vd.* 1996). These groups form a charged layer round fat droplets, causing mutual repulsion, reducing interfacial tension, and preventing coalescence. The extent of hydration may have increased due to starch gelatinization as starch-water systems heated to higher temperatures released less water suggesting that more water molecules are absorbed into the polymer matrix after subjecting it to the higher temperature. Previous studies (Tanuwong *ve Reid*, 2004) have shown a significant reduction in granule crystallinity at higher temperatures. As the granule structure becomes increasingly disrupted, more starch polymers, especially amylopectin, disentangle, which exposes more hydroxyl groups to water, resulting in increased starch-water interactions. Sausages in packages produced with modified starch and containing modified starch had lower drip loss than the normal starch using in sausages.

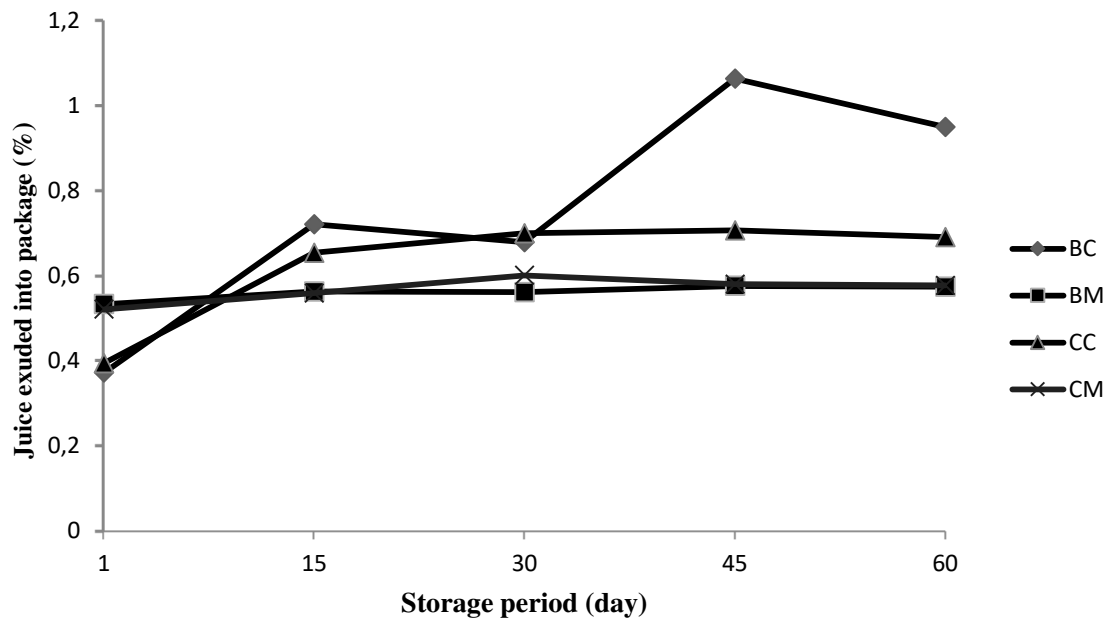


Fig. 1. Sausage samples on the values of leakage in the package x the effect of the storage time interaction

As can be understood from Fig. 1 (sausages and storage time interaction), on the first day of storage, the control group (BC and CC) showed a lower JEP (juice exuded into the package) rate than the sausages application group but showed faster JEP as storage time progressed. During the storage period of sausage, the average juice

exuded into the package with beef meat, which was 0.45% on the first day of production, increased to 45 days (0.76%). These values in chicken meat were found between 0.45-0.64. On the 60th day of the storage period in all groups, it showed a slight decrease. It was determined that the control group (BC and CC) was higher in



sausages after the 15th day of the storage period of the JEP value. The juice exuded into the package of sausage samples produced with normal starch during storage was higher than sausage samples produced using modified starch and these differences were found statistically significant ( $P < 0.05$ ). Claus ve Hunt (1991) 3.5% reported that wheat starch and modified corn starch reduced the juice exuded into the package level. In the study of the use of extruded wheat flour in the production of sausages, the fat rate and extruded wheat flour on the value of juice exuded into the package of sausages were determined to be effective Uysal (2011) ( $P < 0.05$ ).

According to the test results of averages of water activity (aw) values given in Table 4, the mean aw values of the BC and CC control groups were higher than the mean values of the BM and CM group frankfurters. This difference was statistically significant in beef frankfurter group ( $P < 0.05$ ).

The conjugate dienes determined during storage of sausage were examined, the number of conjugate dienes increased from 0.240 on the first day of production as the storage time progresses in meat sausages, and the increase after the 30th day was further accelerated. In the study of Sağır (2011), it was determined that the number of conjugated dienes in all of the products was increased regularly during storage (180 days). Conjugated diens were determined as 0.41-0.46 ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ) at the beginning of storage and as 0.81-0.90 ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ ) at the end of storage.

There was a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the BC group and BM, but no significant difference between CC and CM groups ( $P > 0.05$ ).

As can be seen table 4, the lowest TBARS value of meat sausage was determined at 15th day and the difference between 30th day and 1st day was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). After day 30, the TBARS value of sausage was increased and the highest TBARS value was determined at 1.091 to 60 days. In chicken meat sausages, no results were found different from 1st to 45th days. Şişik

(2008) found that the use of corn oil and broccoli on sausage production the TBARS value increased in all groups as storage time progressed. In researches carried out by Ertaş and Karabaş (1998) and Bloukas and Paneras (1997) it has been reported that the TBA values of frankfurters produced using both vegetable oils and animal fats increased along with the storage time. In the study conducted by Wilfred Ruban vd. (2008) the TBARS values of sausage during storage for 30 days at 4°C increased with storage time from 0.22 to 1.14 mg MA/kg.

As the free fatty acid values of sausage given in Table 4 were examined, the mean FFA value of the control group of beef group sausage was found to be statistically different from the mean of the BM group ( $P < 0.05$ ). This may be due to the fact that raw potato starch hydrolysates have high anti hydrolysis activity and could be used as a food antioxidant agent (Wu vd., 2017). Nieto vd. (2009) investigated the effect of potato protein hydrolysate on oxidation reactions in meat emulsions and reported that 2.5% of the hydrolysate added to the mixture reduced TBARS value (9.55 mg MDA/kg in the control sample, 3.19 mg MDA/kg in the hydrolysis potato starch sample). There was no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ) between the chicken meat group sausage of control group (CC) and the CM group. As indicated in Table 4, the FFA value has continuously increased as the storage duration progresses. The FFA values increased significantly ( $P < 0.05$ ) in all of the sausage groups till the 60th day of storage. The FFA (%) values on days 1, 15, 30 and 60 were similar in beef sausages ( $P > 0.05$ ). The FFA value rose to 2.30% at the highest 60th day. Zalacain et al. (1996) have identified the amount of FFA in the final product as 3.31g oleic acid/100 g fat in traditional dry fermented sausages produced by adding *L. plantarum* and *S. carnosus*. Jezek ve Korobova (2016) found that selected cooked sausages FFA amount from 1.40 to 3.31% as oleic acid in the Czech Republic. In this study, the FFA amounts were found lower than other similar studies. Chicken meat group (CC, CM) had a higher mean FFA value than beef group sausage (BC, BM). This may be due to the fact that the FFA value of

chicken meat from raw materials used in production is higher than the FFA value of beef. It might be due to the presence of unsaturated fatty acid in chicken meat than beef because unsaturated fat is more prone to hydrolysis. Free fatty acids content in both group sausages increased with storage study, but the values remained in the acceptable limit (maximum 4%).

Exudation reduces flavor, texture, microbiological quality and nutrient quality, thereby reducing consumer's acceptance of the product. Pre-gelatinization modified starch sausages showed a high capacity to hold water and fat exudates and consequently, had the highest emulsion stabilization parameters. Incorporation of modified starches into a meat batter improved the emulsion stability and reduced the exudation rate, probably due to the formation of a more stable complex. The water solubility index, water swelling capacity, water and oil binding properties of modified starch are much better than normal starch. This structure easily reabsorbed most of the exuded water if the water separation was too slow during the storage period. The addition of modified starch significantly decreases the exudation value both meats types of sausages. From the results of exudation, we concluded that modified potato starch is better than normal potato starch for meat and chicken sausages. Also, modified starch was affected the FFA values. The use of pre-gelatinization modified starch did produce significant changes in lipid oxidation levels in beef sausages in comparison with normal potato starch sausages excluding conjugated diene values. However, modified starches can be successfully used to control juice exuded into the package properties of meat batters. These results suggest that the addition of pre-gelatinized potato starch at 4% will have a positive effect on the quality of stored the heat-treated sausage stored at + 4 °C. Pre-gelatinized modified potato starch is suitable in high moisture foods, like emulsified meat products such as bologna type sausages and frankfurters.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank staff of Samsun Commodity Exchange Private Food Control Laboratory, Turkey for using laboratory.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of Interest regarding the publication of this article.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Hüseyin Gençcelep is a Supervision (Organising and supervising the course of the project and writing the article and taking the responsibility). Maliyanmu Saimati is a Data Collection and Processing (Taking responsibility in execution of the experiments, data management and reporting)

#### REFERENCES

- Aktaş, N., Gençcelep, H. (2006). Effects of starch type and its modifications on physicochemical properties of Bologna-type sausage produced with sheep tail fat. *Meat Sci.* 74:404-408.
- Ayo, J., Carballo, J., Solas, M.T., Jiménez-Colmenero, F. (2008). Physicochemical and sensory properties of healthier frankfurters as affected by walnut and fat content. *Food Chem.* 107: 1547-1552.
- Anderson, R.H., Conway, H.F., Pfeifer, V.F., Griffin, J.R.E.L., Cumella, J.R. (1969). Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion cooking. *Cereal Sci. Today.* 14: 11-12.
- Alamanou, S., Bloukas, J.G., Paneras, E.D., Doxastakis, G. (1996). Influence of protein isolate from lupin seeds (*Lupinus albus* spp.) on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Sci.* 42: 79-93.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis AOAC INTERNATIONAL. 17th Edition, Washington DC, the USA.
- Bloukas, J.G., Paneras, E.D., Fournitzis, G.C. (1997). Sodium lactate and protective culture effects on quality characteristics and shelf life of low-fat frankfurters produced with olive oil. *Meat Sci.* 45: 223-238.

- Claus, J.R., Hunt, M.C. (1991). Low-fat, high added-water Bologna formulated with texture modifying ingredients. *J Food Sci.* 56: 643-652.
- Colmenero, F.J., Ayo, M.J., Carballo, J. (2005). Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Sci.* 69:781-788.
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocoll.* 23: 1473-1482.
- Ertaş, A.H., Karabaş, G. (1998). Research on the production of Frankfurter-type sausages with sunflower oil. *Turk. J Agric For.* 22:235-240.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö. (1995). *Quality Control in Meat and Meat Products and Laboratory Application Guide*. Atatürk University. Publication no: 751, Faculty of Agriculture. Publication number: 318, Textbook Series No: 69. Erzurum. Turkey. 287 p.
- Grizotto, R.K., Andrade, J.C., Miyagusku, L., Yamada, E.A. (2012). Physical, chemical, technological and sensory characteristics of Frankfurter type sausage containing okara flour. *Cienc Tecnol Aliment.* 32: 538-546.
- Hermansson, A.M., Svegmärk, K. (1996). Developments in the understanding of starch functionality. *Trends Food Sci Technol.* 7: 345-353.
- Hughes, E., Cofrades, S., Troy, D.J. (1997). Effect of fat level, oat fibre and caragenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Sci.* 45: 273-281.
- Jezek, F., Korabova, V. (2016). Sensory and Physicochemical Parameters of Selected Cooked Sausages. *Fleischwirtschaft.* 96:109-115.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F. (2007). The Effect of Galangal Powder and its Ethanolic Extracts on Oxidative Stability in Cooked Ground Pork. *LWT-Food Sci Technol.* 40: 324-330.
- Lecumberri, E., Goya, L., Mateos, R., Alia, M., Ramos, S., Izquierdo-Pulido, M., Bravo, L. (2007). A Diet Rich in dietary fiber from cocoa improves lipid profile and reduces malondialdehyde in hypercholesterolemic rats. *Nutr.* 23: 332-341.
- Lemon, D.W. (1975). An improved TBA test for rancidity. New Series Circular No. 51. Halifax Laboratory: Halifax, Nova Scotia.
- Narasimha Rao, D., Sachindra, N.M. (2002). Modified Atmosphere and Vacuum Packaging of Meat and Poultry Products. *Food Rev Int.* 18:263-293.
- Nieto, G., Castillo, M., Xiong, Y.L., Álvarez, D., Payne, F.A., Garrido, M.D. (2009). Antioxidant and emulsifying properties of alcalase-hydrolyzed potato proteins in meat emulsions with different fat concentrations. *Meat Sci.* 83: 24-30.
- Otoni, C.G., Paula, J.P., Espitia Avena-Bustillos, J.R., McHugh, T.H. (2016). Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. *Food Res Int.* 83:60-73.
- Ölçer, H., Akın, B. (2008). *Biosynthesis, Granule structure and genetic modifications*. Dumlupınar University, Science Faculty, Department of Biology. ISSN-1302-3055.
- Purma, Ç. (2006). Investigation of dried apricot pulp in sausage production. Master Thesis, Ege University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Food Engineering, İzmir. Turkey. 85 p
- Pycia, K., Gryszkin, A., Berski, W., Juszczak, L. (2018). The Influence of Chemically Modified Potato Maltodextrins on Stability and Rheological Properties of Model Oil-in-Water Emulsions. *Polymers.* 10:1-13.
- Sağır, İ.B. (2011). The effect of some natural antioxidants on the oxidation, color stability and microbiological properties of Kavrurma.. PhD Thesis, Ondokuz Mayıs University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Food Engineering, Samsun. Turkey. 145 p
- Şişik, Ş. (2008). Use of Corn Oil and Broccoli in Salami Production. Master Thesis. Atatürk University, Graduate School of Natural and

Applied Sciences, Department of Food Engineering, Erzurum. Turkey. 75p

SPSS. (2008). *SPSS 17.0. for Windows*, Statistical Software, SPSS Inc., Chicago.

Tananuwong, K., Reid, D.S. (2004). DSC and NMR relaxation studies of starch–water interactions during gelatinization. *Carbohydr Polym.* 58:345–358.

Thebaudin, J.Y., Lefebvre, A.C., Harrington, M., Bourgeois, C.M. (1997). Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends Food Sci Tech.* 8:41–48 .

Turp, G.Y. (1999). Effects of Ascorbic Acid,  $\alpha$ -Tocopherol/Ascorbic Acid and Rosemary Extract on Some Quality Characteristics of Chicken Meatball. Master Thesis. Ege University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Food Engineering, İzmir. Turkey. 125 p

Uysal, M. (2011). Investigation of the use of extruded wheat flour in sausage production. Master Thesis. Ege University, Graduate School

of Natural and Applied Sciences, Department of Food Engineering. İzmir. Turkey.85 p

Wilfre Ruban, S., Rao, V.A., Kalaikannan, A. (2008). Effect of Tapioca Starch and Potato Flour on Physico - Chemical, Sensory and Microbial Characteristics of Pork Sausage during Refrigerated Storage ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). *Glob Vet.* 2:219-224.

Wu, S., Lu, M., Fang, Y., Wu, L., Xu, Y., Wang, S. (2017). Degradation of Potato Starch and the Antioxidant Activity of the Hydrolysates. *J Food Process Pres.* 41:13-18.

Yousif, E.I., Gadallah, M.G.E., Sorour, A.M. (2012). Physico-chemical and rheological properties of modified corn starches and its effect on noodle quality. *Ann Agri Sci.* 57:19–27.

Zalacain, I., Zapelena, M.J., Astiasaran, I., Bello, J. (1996). Addition of lipase from *Candida cylindracea* to a traditional formulation of a dry fermented sausage. *Meat Sci.* 42: 155-163.



## KAVUN ÇEKİRDEĞİ TOZUNUN ERİŞTENİN BAZI ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

İlyas Çelik\*, Kübra Pozan

Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli, Türkiye

Geliş / Received: 08.03.2020; Kabul / Accepted: 31.08.2020; Online baskı / Published online: 11.09.2020

Çelik, İ., Pozan, K. (2020). Kavun çekirdeği tozunun eriştenin bazı özelliklerine etkisi. *GIDA* (2020) 45(5) 907-916 doi: 10.15237/gida.GD20038.

Çelik, İ., Pozan, K. (2020). The effect of melon seed powder on some properties of noodle. *GIDA* (2020) 45(5) 907-916 doi: 10.15237/gida.GD20038.

### ÖZ

Bu çalışmada, kavun çekirdeği tozunun farklı ikame oranlarında (%10, %20, %30 ve %40) kullanılarak üretilen eriştelerin diyet lifi, yağ, mineral, protein içeriklerinin artırılması, atık değerlendirilmenin öneminin vurgulanması ve eriştenin fonksiyonel özelliklerinin artırılması amaçlanmıştır. Kontrol eriştelere göre kavun çekirdeği tozu ilavesi ile elde edilen eriştelerde protein (%12,34-16,71), toplam diyet lifi (%4,03-10,17), yağ (%3,76-19,12) ve mineral içeriklerinde önemli artışlar gözlemlenmiştir. Kavun çekirdeği tozu eriştelerin parlaklık değerlerini düşürmüştür, kırmızılık ve sarılık değerlerini artırmıştır. Kavun çekirdeği tozu oranı arttıkça suya geçen madde miktarı artmıştır. Eriştelerde renk, koku, tekstür, lezzet ve genel beğeni anlamında en yüksek puanı kontrol örneği alırken en düşük puanı %40 kavun çekirdeği tozu katkılı erişteler almıştır. Uygulama içinde en fazla beğenilen %10 kavun çekirdeği tozu içeren formülasyon olmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Kavun çekirdeği, erişte, diyet lifi, tekstür, mineral madde.

## THE EFFECT OF MELON SEED POWDER ON SOME PROPERTIES OF NOODLE

### ABSTRACT

In this study, it is aimed to increase the dietary fiber, fat, mineral and protein contents of the noodles produced by the use of melon seed powder (MSP) in different levels (10%, 20%, 30% and 40%), to emphasize the importance of waste assessment and to give functional properties to the noodle. With the addition of MSP compared to control noodles, protein (12.34-16.71%), total dietary fiber (4.03-10.17%), fat (3.76-19.12%) and mineral content of noodles changed significantly. The use of MSP decreased the brightness of the noodles but increased the redness and yellowness color values. As the level of MSP increases, the amount of substance passing into the water was increased. The highest score for noodles in terms of sensorial properties were observed in control, while the lowest score is 40% MSP added noodles. The most desired formulation in the application was the formulation containing 10% MSP.

**Keywords:** Melon seed, noodle, dietary fiber, texture, mineral substance.

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: ilyasc@pau.edu.tr

☎: (+90) 258 296 31 07

☎: (+90) 258 296 32 62

İlyas Çelik; ORCID no: 0000-0002-8434-8797

Kübra Pozan; ORCID no: 0000-0002-7718-7155

## GİRİŞ

Canlıların yaşamlarını sürdürebilmek için gereksinim duyduğu temel ihtiyaçlarının başında enerji gelmektedir. İnsanlar, vücutlarında kullandıkları enerjiyi tükettikleri bitkisel ve hayvansal besin kaynaklarından rahatlıkla temin edebilmektedirler (Aktaş, 2012). İnsanların enerji kaynağı olarak kullandığı bitkisel besin kaynakları arasında tahıl ve tahıl ürünleri önemli bir yere sahiptir (Kalkan ve Özarık, 2017). Kolay elde edilebilir olması ve maliyetinin düşük olması tahılların en ucuz enerji kaynağı olduğunu doğrulamaktadır. (Şahin, 2001). Tahıl ürünleri içerisinde en çok bilinen karbonhidrat kaynakları başta ekmek olmak üzere makarna, erişte, tarhana, çeşitli fırıncılık ve pastacılık ürünleridir (Eyidemir, 2006).

Erişte, tahıl ürünleri arasında geleneksel olarak üretilip ve sevilerek tüketilen bir ürün grubudur. Bölgeden bölgeye gerek kullanılan hammadde gerekse yapılış biçimine bağlı olarak farklılıklar gösterebilmektedir (Gulia vd, 2014). Eriştenin hızlı ve kolay pişirilmesi, düşük maliyeti, besleyiciliğinin yüksek olması, kurutulmuş ürün olmasına bağlı olarak raf ömrünün uzun olması gibi avantajları sayesinde üretim ve tüketimi yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Erişte yapısında yüksek oranda karbonhidrat bulundurmasına rağmen protein miktarı ve aminoasit dengesi bakımından zayıflık gösterebilmektedir (Öncel, 2017). Bu durumun da eriştenin zenginleştirilmesi ve fonksiyonelliğinin artırılmasına yönelik çalışmaların ortaya çıkmasına yol açtığı görülmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmaların temel amacı ürünün kimyasal yapısını geliştirmek, farklı formlarda yeni ürünler üretmek, ürünün besin değerini artırmaktır (Eyidemir, 2006). Üründe iyileştirmeler yapılırken doğadan ilham alınarak çeşitli bitkiler ve bitkisel atıklar kullanılmaktadır. Bitkisel atık olarak nitelendirilen meyve ve sebze atıkları beslenme açısından önemli olan diyet lifi, antioksidanlar, önemli yağ asitleri, vitaminler gibi birçok faydalı bileşenleri yapılarında bulundurmaktadırlar. Atıkların ürün bünyesinde değerlendirilmesi ile bu maddelerin kazanımı sağlanabilmektedir (Yağcı vd, 2006).

Bu çalışmada atık durumda bulunan kavun çekirdeğinin kullanım alanını geliştirmede kavun çekirdeğinin kendine özgü özelliklerin erişteye aktarılması ve eriştenin fonksiyonel özelliklerinin artırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

### Kavun Çekirdeği Tozu Üretimi

Tunceli ve Elazığ bölgesinde yetişen kavungillerden olan kultik (kır kavunu) kavunun çekirdeğinin tozu erişte üretiminde kullanılmıştır. Çekirdek açık renkli ve ince kabuklu bir yapıya sahiptir. Kuru formda olan kavun çekirdekleri temizleme işlemi sonrasında taş öğütücü kullanılarak öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Homojen kavun çekirdeği tozu elde etmek için 500 µm tel elekten geçirilmiştir. Erişte üretimine kadar elde edilen kavun çekirdek tozu buzdolabı şartlarında tutulmuştur.

### Erişte Üretimi

Çalışma erişte üretimi için uygun olan özel amaçlı buğday ununa ikame oranlarına göre diğer hammaddeler karıştırılarak uygun deneme planı oluşturulmuştur. 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır (Çizelge 1). Formülasyona göre kontrol örneği için 100 g un, 20 g yumurta, 0,5 g tuz ve 36 mL su kullanılmıştır (Bilgiçli, 2009).

Erişte üretimi için belirlenen miktarlarda tartılan hammaddeler karıştırılıp öncelikle yoğurucunun (KMM060 Mutfak Şefi, Kenwood) düşük hız ayarında 1 dakika sonrasında yoğurucu hızı artırılarak 5 dakika yoğurulmuştur. Yoğrulan hamurlar hamurun işlenmesini kolaylaştırmak amacıyla 20 dakika dinlendirilmiştir. Sonrasında eşit parçalara ayrılan hamurlar öncelikle merdane yardımıyla inceltme makinasına uygun olacak şekilde açılmıştır. Hamur yoğurucunun açma aparatı ile makinada önce geniş aralıkta sonra daha dar olan aralıkta eşit hızda açılmıştır. Açılan hamurlar oda koşullarında (24 °C) yaklaşık 10 dakika daha dinlendirilip eriştelerin hamurlarının 5 mm genişliğinde 2 mm kalınlığında şeritler halinde kesilmeleri sağlanmıştır. Hamurlar bıçak yardımı ile kesilerek yağlı kâğıt serilen tepsilere özenle birbirine yapışmayacak şekilde %10 su içeriğinin altına düşünceye kadar oda şartlarında kurutulmuştur.

Çizelge 1.Farklı oranlarda kavun çekirdeği tozu kullanılarak hazırlanan erişte formülasyonları  
 Table 1. Noodle formulations prepared using melon seed powder in different proportions

	Kontrol Control	%10	%20	%30	%40
Buğday unu (g) Wheat flour (g)	100	90	80	70	60
Kavun çekirdeği tozu (g) Powder melon seed (g)	0	10	20	30	40
Yumurta (g) Egg (g)	20	20	20	20	20
Tuz (g) Salt (g)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Su (mL) Water (mL)	36	31	28	24	21

### Hammadde ve Eriştelere Yapılan Analizler

Hammadde ve erişte örneklerinin nem miktarları AACC 44-19, kül miktarı tayini AACC 08-01, protein tayini AACC 46-12 metodu esas alınarak kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır. Azot çevirici faktör 5.70 olarak hesaplanmıştır. Ham yağ miktarı tespitinde ise AACC 30-25 metodundan faydalanılmıştır (AACC, 1999).

Mineral analizi için 0.5 g tartılan numunelere 10 mL HNO<sub>3</sub> eklenerek mikrodalga cihazında yaş yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında örnekler 50 mL'lik balon jøjeye alınarak mavi bant filtre cihazından süzölmüş ve geri kalan hacim saf su ile tamamlanmıştır. Elde edilen süzöntüler ICP-OES cihazına verilerek element miktarları tespit edilmiştir (Kaçar ve İnal, 2008).

Buğday unu, kavun çekirdeği tozu ve erişte örneklerinde yapılan diyet lifi analizleri  $\alpha$ -amilaz, proteaz ve amiloglikozidaz enzimlerini içeren toplam diyet lifi analiz kiti (Megazyme International Ireland Ltd, Wicklow, Ireland) kullanılarak yapılmıştır. Sindirilebilir nişastanın hidrolizi ve jelatinizasyonu için örneklere sırasıyla enzim ilavesi yapılmıştır. Her bir örnek karışım Gooch krozesinden (sinter cam filtreli, 30 mL, 1D, Por: 4) vakum pompasıyla filtre edilerek filtrenin üzeri saf su ile yıkanmış ve filtrat uzaklaştırıp üzerine yaklaşık dört katı kadar 60 °C'deki etanol eklenerek, çözünür diyet lifi analizinde kullanılmak üzere bir saat oda koşullarında bekletilmiştir. Filtrat uzaklaştırıldıktan sonra kalan kısım %95'lik etanol

ve asetonla tekrar yıkanmıştır. Çözünmeyen diyet lifini oluşturan bu kısım, aynı zamanda analiz sonrasinda yapılacak protein ve kül analizlerinde belirlenecek sindirilemeyen protein ve çözünmeyen mineralleri de bulundurmaktadır. Bir saat oda koşullarında bekletilip çözünür diyet lifinin çöktürölmesi sağlanan çökelti tekrar Gooch krozesinden vakumla filtre edilmiş, %78 ve %95'lik etanol ve asetonla yıkanmıştır. Bu kısım da çözünür diyet lifini oluşturmakta aynı zamanda sindirilemeyen protein ve mineralleri de içermektedir. Elde edilen çözünür ve çözünmeyen diyet lifini içeren kalıntılar 103 ± 2 °C'de etüvde 12 saat bekletilmiş ve tartıldıktan sonra içerisindeki protein ve minerallerin hesaplanması için protein ve kül analizleri yapılmıştır. Elde edilen verilerle çözünür ve çözünmeyen diyet lifi miktarları ayrı ayrı hesaplanmıştır (Tümer, 2017).

Hammadde (buğday unu ve kavun çekirdeği tozu) ve üretilen erişte örneklerinin renk analizleri Hunter LabScan Colorimeter (HunterLab MiniScan XE, Amerika) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Renk özellikleri olarak L (koyuluk-parlaklık), a (+kırmızı, -yeşil) ve b (+sarı, -mavi) değerleri saptanmıştır (Elgün vd, 2012).

Eriştelere tekstür özellikleri Brookfield Model No: CT3-4500 tekstür analiz cihazında hem erişte hamurları hem de pişmiş eriştelere yapılmıştır. Erişte hamurları ile eriştelere ayrı ayrı sertlik ve çekme özellikleri belirlenmiştir. Sertlik özelliklerini belirlemek için erişte hamurları 5 cmx10 cm, çekme değerini belirlemek için 2.5

cmx10 cm olacak şekilde kesilmiştir. Çalışma şartları sıkıştırma TA-DE probu, hedef değer 0,4 mm, tetikleme yükü 0.05 N test hızı 0.5 mm/s, çekme testinde ise TA-DGF probu, hedef değer 20.0 mm, tetikleme yükü 0.05 N test hızı 2 mm/s şartlarında yapılmıştır

Erişte örneklerinin ağırlık artışı belirlenirken 10 g erişte örneği 250 mL saf suda su banyosu içerisinde 15 dakika pişirilmiştir. Süzülüp yaklaşık 2 dakika dinlendirilen erişteler tartılmıştır. Eriştelerin pişirme öncesi ve pişirme sonrası ağırlıkları dikkate alınarak ağırlık artışı % olarak hesaplanmıştır. Hacim artışını belirlemek için öncelikle 10 g olarak tartılan erişte örnekleri için saf su dolu ölçü silindire koyularak ölçü silindire karşılık gelen değer yani eriştelerin taşıdığı su miktarı belirlenmiş sonrasında yine ağırlık artışında olduğu gibi pişirilip süzülen erişte örnekleri dinlendirildikten sonra ölçü silindire alınmış ve tekrar taşıdığı su miktarı kaydedilmiştir. Pişirme sonrası ve pişirme öncesi değer farkı alınarak % olarak hacim artışı hesaplanmıştır (Özkaya ve Özkaya, 2005; Aktaş, 2012). Suya geçen madde miktarı tayininde ise erişte örnekleri 10 g olacak şekilde tartılarak içerisinde 250 mL su bulunan 500-600 mL'lik beherlere alınmıştır. Beherler sıcaklığı  $98 \pm 2$  °C'ye ayarlanmış su banyosunda yaklaşık 18 dakika pişirilmiştir. Pişirme sonrasında erişteler porselen süzgeçler yardımı ile süzülmüştür. İçinde süzüntü bulunan beherler 135 °C'deki etüve koyularak bir gece boyunca kurumaları sağlanmıştır. Tartılan beherlere göre suya geçen kuru madde miktarları hesaplanmıştır (Aktaş, 2012).

Eriştelerin renk, koku, lezzet, tekstür ve genel beğeni özelliklerinin değerlendirmesi amacıyla yapılan duyu analizi için Gıda Mühendisliği Bölümü öğrencileri ve öğretim elemanlarından oluşan 20 kişilik panelist grubu belirlenmiştir. Panelistlerin yaş aralığı 20-50 olarak belirlenmiştir. Erişte örnekleri kodlanan rastgele numaralarla panelistlere sunulmuş ve panelistlerden 1 (Aşırı kötü) - 7 (Mükemmel) olacak şekilde değerlendirme yapmaları istenmiştir (Onoğur-Altuğ ve Elmacı, 2015).

Araştırma sonuçları IBM SPSS statistics 22 programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Farklar önemli bulunduğu ortalamalar Duncan testi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Arbuckle, 2014).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Eriştelerin Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Eriştelerin nem içeriklerinde en yüksek değer kontrol örneğinde görülmüştür (Çizelge 2). Kavun çekirdeği tozu ilave oranı arttıkça nem değerinde azalma görülmesine karşın istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır Kavun çekirdeği tozu katkısına bağlı olarak nem miktarının azalmasını yağ oranı yüksek olan bileşenlerin düşük oranlarda hidrofilik bileşikler içermesinden dolayı artan yağ içeriğine bağlayabiliriz (Manthey vd, 2004). Erişte yapımında keten tohumu kullanıldığı bir çalışmada keten tohumu ilavesiyle nem oranlarında önemli bir azalma gözlemlenmiştir (Yüksel vd, 2018).

Eriştelerin kül içerikleri kavun çekirdeği tozu ilavesine bağlı olarak artmıştır. Kavun çekirdeği tozu ve kullanılan özel amaçlı undaki kül oranları sırası ile %3.65 ve %0.45 olarak belirlenmiştir. Üretilen eriştelerde kül miktarının ise bu iki değer aralığında olması beklenir. Beklendiği gibi eriştelerde kül oranının buğday unundaki kül oranıyla mukayese edildiğinde 2.28 ile 4.17 kat arasında arttığı görülmektedir (Çizelge 2). Kavun çekirdeği tozundaki yüksek mineral içeriği eriştelerin kül miktarındaki artışın oluşmasında etkili olmuştur.

Kavun çekirdeğinin yağ içeriğinin oldukça fazla olduğu yapılan birçok çalışmalardan anlaşılmaktadır (Melo vd.,2000; Petkova ve Antova, 2009). Çalışmada kullanılan özel amaçlı buğday ununun yağ içeriği %1.56 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2). Üretilen eriştelerin yağ oranları ise %3.76 ile %19.12 arasında değiştiği gözlenmiştir Kontrol örneğine kıyasla %10 kavun çekirdeği tozu ilavesi ile üretilen eriştelerde 2.15 kat artarken %40 kavun çekirdeği tozu ilave edilen örnekte 5,08 kat artmıştır. Kavun çekirdeği tozu yüksek orandaki yağ içeriği ile (%45,59) üretilen eriştelerin yağ içeriğini önemli düzeyde artırmıştır.



Çizelge 2. Hammadde ve erişte kimyasal analiz sonuçları  
 Table 2. Chemical analysis results of raw materials and noodles

	Buğday unu Wheat flour	Kavun çekirdeği tozu Powder melon seed	Kontrol Control	%10	%20	%30	%40
Nem(%) Moisture(%)	10,31±0,93	4,25±0,06	9,10 ± 0,7 <sup>a</sup>	8,63 ± 0,8 <sup>a</sup>	8,34 ± 0,8 <sup>a</sup>	7,93 ± 1,1 <sup>a</sup>	7,51 ± 1,2 <sup>a</sup>
Kül(%) Ash(%)	0,45±0,01	3,65±0,39	0,85 ± 0,44 <sup>c</sup>	1,03 ± 0,65 <sup>c</sup>	1,34 ± 0,48 <sup>b</sup>	1,57 ± 0,17 <sup>b</sup>	1,88 ± 0,07 <sup>a</sup>
Yağ(%) Fat(%)	1,55±0,26	45,59±0,13	3,76 ± 1,07 <sup>c</sup>	8,10 ± 0,18 <sup>d</sup>	11,81 ± 1,40 <sup>c</sup>	16,47 ± 0,40 <sup>b</sup>	19,12 ± 0,01 <sup>a</sup>
Protein(%) Protein(%)	10,37±1,28	23,13±1,64	12,34 ± 0,56 <sup>b</sup>	13,51 ± 1,46 <sup>ab</sup>	14,57 ± 1,41 <sup>ab</sup>	15,86 ± 1,67 <sup>ab</sup>	16,71 ± 0,96 <sup>a</sup>
Çözünür diyet lifi (%) Soluble dietary (%)	1,09±0,07	3,05±0,69	1,19±0,07 <sup>b</sup>	1,22±0,16 <sup>b</sup>	1,34±0,09 <sup>ab</sup>	1,57±0,12 <sup>a</sup>	1,63±0,24 <sup>a</sup>
Çözünmez diyet lifi (%) Insoluble dietary (%)	1,49±0,05	27,08±0,84	2,84±0,11 <sup>c</sup>	3,99±0,40 <sup>c</sup>	5,73±0,22 <sup>b</sup>	6,53±0,44 <sup>ab</sup>	8,54±0,79 <sup>a</sup>
Toplam diyet lifi (%) Total dietary (%)	2,58±0,15	30,13±1,48	4,03 ± 0,18 <sup>c</sup>	5,21 ± 0,57 <sup>c</sup>	7,07 ± 0,31 <sup>b</sup>	8,10 ± 0,57 <sup>b</sup>	10,17 ± 1,03 <sup>a</sup>

Parametreler kuru madde üzerinden verilmiştir, Protein 5,70 faktörü ile hesaplanmıştır,

Parameters are given on dry matter, Protein is calculated with a factor of 5,70,

Satırda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0,05$ ).

Those shown with the same letter on the line are statistically insignificant ( $P < 0,05$ ).

Erişterlerin içerdikleri protein oranlarına bakıldığında en yüksek miktarı %40 kavun çekirdeği tozu içeren örnekte, en düşük protein miktarı ise kontrol örneğinde belirlenmiştir. Buğday unu kullanılarak üretilmiş olan kontrol erişterlerde buğday ununa göre protein miktarındaki artış 1.18 kat olurken, kavun çekirdeği tozu ilavesine bağlı olarak en yüksek değişim %40 ilaveli örnekte 1,61 kat arttığı gözlemlenmiştir.

Üretilen kavun çekirdeği tozu katkılı erişterlerin çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Çözünür ve çözünmez olarak iki farklı grupta incelenen diyet lifi miktarlarına bakıldığında genel anlamda çözünmez diyet liflerinin çözünür diyet liflerine göre toplam diyet lifi içerisinde daha büyük paya sahip oldukları görülmektedir. Çözünmeyen diyet liflerinin (selüloz, hemiselüloz, lignin) yüksek yağ tutma kapasiteleri sayesinde gıdalarda lezzetinin korunması ve gıdaların teknolojik özelliklerinin artırılması, gıdaların kalori değerlerinin düşürülmesi gibi etkilerine ilaveten, ağırlığının yaklaşık 20 katı kadar suyu absorbe edebilen bir posa olarak boşaltım sistemi ile atılarak bağırsakları rahatlatıcı etkisi de söz konusudur. Kolayca fermente olabilen çözünür diyet liflerinin (gum maddeleri, pektin ile diğer jel benzeri polisakkaritler,  $\beta$ -glukan) ise fermentasyon neticesinde kısa zincirli yağ asitleri ile oluşturduğu

çeşitli gazların ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ) bağırsak pH' sını değiştirdiği ve istenmeyen şişkinlik hissine neden olduğu bilinmektedir (Burdurlu, 2003). Erişte örneklerinde kavun çekirdeği tozu miktarındaki artışa bağlı olarak çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi miktarlarında belirgin bir şekilde artmış, en düşük diyet lif değerleri kontrol örneğinde belirlenmiş, en yüksek değerler %40 kavun çekirdeği tozu kullanılan erişte örneklerinde belirlenmiştir. Erişte formülasyon kavun çekirdeği tozu katkısının artışı ile toplam diyet lifi miktarının artması kavun çekirdeğinin oldukça yüksek oranda lif içermesiyle açıklanabilir. Yapılan bir çalışmada kavun çekirdeğine ait diyet lifi oranını % 25.32 olarak belirlemişlerdir (Mallek-Ayadi vd, 2018).

### Renk Analizleri

Hammadde ve üretilen kavun çekirdeği tozu içeren erişte hamurlarındaki renk analiz sonuçlarına ait L, a, b renk değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Kontrol örneği ile kavun çekirdeği tozu içeren erişte karşılaştırıldığında ise kavun çekirdeği tozu ilavesi ile erişte örneklerinin L değeri azalırken, a (kırmızılık) ve b (sarılık) renk değerleri artış göstermiştir. b renk değerlerinin artışında kavun çekirdeği tozunun kendine özgü sarı rengini veren karatenoidler etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 3. Hammadde ve erişte renk analiz sonuçları  
Table 3. Color analysis results of raw materials and noodles

Hammaddeler	L	a	b
Buğday unu <i>Wheat flour</i>	71,728±0,04	0,073±0,01	8,410±0,03
Kavun çekirdeği tozu <i>Powder melon seed</i>	56,080±0,19	1,360±0,01	13,010±0,04
Erişte <i>Noodles</i>	L	a	b
Kontrol <i>Control</i>	54,86 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,69 <sup>b</sup>	16,45 ± 0,84 <sup>b</sup>
%10	53,76 ± 0,36 <sup>ab</sup>	2,04 ± 0,34 <sup>ab</sup>	16,47 ± 1,08 <sup>b</sup>
%20	52,29 ± 1,23 <sup>abc</sup>	2,35 ± 0,89 <sup>a</sup>	17,21 ± 0,92 <sup>a</sup>
%30	51,50 ± 1,47 <sup>bc</sup>	2,33 ± 0,45 <sup>a</sup>	17,22 ± 0,60 <sup>a</sup>
%40	50,56 ± 0,13 <sup>c</sup>	2,56 ± 0,52 <sup>a</sup>	17,76 ± 0,58 <sup>a</sup>

Sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0.05$ ).

Those shown with the same letter on the column are statistically insignificant ( $P < 0.05$ ).

### Pişirme Analizleri

Kontrol erişte örneklerinde su absorpsiyon değeri %124,25 iken, kavun çekirdeği tozu içeren erişte formülasyonlarında kavun çekirdeği katkısına bağlı olarak su absorpsiyon değerleri önemli düzeyde artmış ve %171,87 değerine ulaşmıştır. Eriştelerin %10 kavun çekirdeği tozu ilaveli örnek dışında aralarında istatistiksel anlamda önemli bir farka rastlanmamıştır (Çizelge 4). Hacim artış değerlerine bakıldığında su absorpsiyon değerlerine paralel şekilde bir artış olduğu görülmektedir. Kontrol erişte örneğinde %124,16 gibi bir değer gözlenirken %40 kavun çekirdeği tozu içeren örnekte hacim artışı %153.05 olarak tespit edilmiştir. Örnekler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Dirençli mısır nişastasının erişte formülasyonunda kullanıldığı çalışmada eriştelerinde pişirmeye bağlı hacim artış değerlerini %110,56 - %150,19 olarak belirlemiştir (İnkaya Dündar, 2014). Yine benzer şekilde yulaf unu ilavesiyle üretilen eriştelerde kontrol örneğinde % 135.29 hacim artışı tespit edilirken %40 yulaf unu kullandığı örnekte hacim artışını %182.35 olarak belirlemiştir (Aydın, 2009). Pirinç kepeği ilavesinin erişte üretiminde kullanıldığı çalışmada pirinç kepeği ilavesinin artmasına bağlı olarak eriştelerin ağırlık ve hacim artış değerlerinin yükseldiği gözlemlenmiştir (Ertaş, 2014). Suya geçen kuru madde miktarı, eriştelerde pişirme sırasında suya geçen kuru madde miktarını belirtir. Suya geçen kuru madde

miktarına pişirme kaybı da denebilmektedir. Sonuçlara bakıldığında artan kavun çekirdeği tozu oranı ile birlikte suya geçen madde miktarının da arttığı yönündedir. Bu durum artan ikame oranı ile gluten yapısının zayıflamasına bağlanabilir. Kontrol örneğinde suya geçen kuru madde miktarı %3.75 iken %40 kavun çekirdeği tozu içeren formülasyonda %9.72 ulaşmıştır. Benzer şekilde nohut unu ilavesi ile üretilen eriştelerde suya geçen kuru madde miktarları %4.13 ile % 8.20 aralığında değiştiği tespit edilmiştir (Demir, 2008).

Erişte örneklerinde belirlenen fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, mangan, çinko ve bakır miktarları belirlenmiş, kavun çekirdeği tozu miktarındaki artışa bağlı olarak erişte örneklerinin mineral içeriğinin arttığı gözlemlenmiştir (Çizelge 5). Erişte örneklerinin mineral madde miktarlarındaki bu artışa paralel olarak erişte örneklerin kül miktarları da artış göstermiştir (Çizelge 2). Çizelgede 5' te en fazla artış kontrol erişteye kıyasla Magnezyumda 5.37, fosforda 3.11 kat gerçekleşmiştir (Çizelge 5). Üretilen kavun çekirdeği tozu içeren eriştelerinin günlük mineral ihtiyacını karşılamada önemli bir kaynak olabileceği düşünülmektedir.

### Tekstür Analizleri

Eriştelere örneklerine ait tekstür analiz sonuçları Çizelge 6'da sunulmuştur. Erişte hamurlarının

sertlik değerleri en yüksek kontrol örneğinde 0.06 N belirlenmiştir. Kavun çekirdeği tozu ilavesine bağlı olarak erişte örneklerinin sertlik değerleri azalmış, ancak sertlik değerindeki bu azalma istatistiksel anlamda önemli fark oluşturmamıştır.

Çekme kuvveti ölçümü yapılan çiğ eriştelerde kontrol örneğinde 0.088 N ve %10 kavun çekirdeği tozu katkılı eriştelerde 0.082 N belirlenirken %20, %30 ve %40 kavun çekirdeği tozu içeren örneklerde sırasıyla 0.069 N, 0.067 N

ve 0.066 N olarak belirlenmiş, kavun çekirdeği tozu içeren erişte örneklerinin çekme kuvveti değerlerindeki bu azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Pişirilmiş erişte örneklerinde ise çekme kuvveti değerleri erişte formülasyonuna dahil olan kavun çekirdeği tozu artışına bağlı olarak azalma gözlemlenmiştir. Bu durumu artan kavun çekirdeği oranına bağlı olarak azalan gluten yapısının kısmi olarak azalması ve elastikiyetin azalmasında etkili olmuştur.

Çizelge 4. Eriştelere ait pişirme analiz sonuçları

Table 4. Cooking analysis results of noodles

	Su absorpsiyonu (%) Water absorpsion (%)	Hacim artışı (%) Volume increase (%)	Suya geçen kuru madde (%) Water passing dry matter (%)
Kontrol Control	124,25 ± 2,43 <sup>c</sup>	124,16 ± 4,72 <sup>b</sup>	3,75 ± 0,17 <sup>c</sup>
%10	142,77 ± 0,01 <sup>b</sup>	150,61 ± 3,05 <sup>a</sup>	5,11 ± 1,60 <sup>bc</sup>
%20	162,05 ± 1,57 <sup>a</sup>	152,67 ± 0,49 <sup>a</sup>	6,96 ± 0,32 <sup>abc</sup>
%30	171,06 ± 0,26 <sup>a</sup>	152,95 ± 4,00 <sup>a</sup>	8,43 ± 0,58 <sup>ab</sup>
%40	171,87 ± 9,35 <sup>a</sup>	153,05 ± 3,96 <sup>a</sup>	9,72 ± 1,11 <sup>a</sup>

Sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0.05$ ).

Those shown with the same letter on the column are statistically insignificant ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 5. Hammadde ve eriştelere ait mineral madde analiz sonuçları (mg/100g)

Table 5. Mineral material analysis results of raw material and noodles (mg/100g)

	Kavun çekirdeği tozu Powder melon seed	Kontrol Control	%10	%20	%30	%40
P	967.50	147.70 ± 0.01 <sup>e</sup>	216.95 ± 1.76 <sup>d</sup>	301.65 ± 6.01 <sup>c</sup>	384.00 ± 2.40 <sup>b</sup>	460.10 ± 2.12 <sup>a</sup>
K	711.00	220.00 ± 0.01 <sup>e</sup>	255.00 ± 4.24 <sup>d</sup>	309.00 ± 11.31 <sup>c</sup>	362.00 ± 4.24 <sup>b</sup>	411.00 ± 1.41 <sup>a</sup>
Ca	128.87	81.54 ± 0.01 <sup>b</sup>	86.13 ± 2.24 <sup>ab</sup>	86.63 ± 1.15 <sup>ab</sup>	97.84 ± 11.76 <sup>a</sup>	99.18 ± 0.24 <sup>a</sup>
Mg	462.57	37.12 ± 0.01 <sup>e</sup>	66.36 ± 0.09 <sup>d</sup>	114.32 ± 1.23 <sup>c</sup>	159.85 ± 1.22 <sup>b</sup>	199.89 ± 0.73 <sup>a</sup>
Fe	9.71	2.71 ± 0.01 <sup>e</sup>	3.18 ± 0.09 <sup>d</sup>	3.63 ± 0.25 <sup>c</sup>	4.20 ± 0.11 <sup>b</sup>	5.03 ± 0.01 <sup>a</sup>
Mn	2.93	1.14 ± 0.01 <sup>e</sup>	1.29 ± 0.01 <sup>d</sup>	1.46 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.62 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.77 ± 0.01 <sup>a</sup>
Zn	9.61	1.81 ± 0.01 <sup>e</sup>	2.50 ± 0.01 <sup>d</sup>	3.24 ± 0.01 <sup>c</sup>	4.05 ± 0.25 <sup>b</sup>	4.83 ± 0.05 <sup>a</sup>
Cu	1.71	0.34 ± 0.01 <sup>e</sup>	0.45 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.60 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.02 <sup>a</sup>

Satırda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0.05$ ).

Those shown with the same letter on the line are statistically insignificant ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 6. Eriştelere ait tekstür analiz sonuçları

Table 6. Texture analysis results of noodles

	Hamurda sertlik (N) Hardness in dough (N)	Hamurda germe (N) Tension in dough (N)	Pişmiş eriştede germe (N) Tension in cooked noodle (N)
Kontrol Control	0,060 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,055 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,390 ± 0,01 <sup>a</sup>
%10	0,057 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,054 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,318 ± 0,03 <sup>ab</sup>
%20	0,052 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,052 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,284 ± 0,01 <sup>ab</sup>
%30	0,049 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,050 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,196 ± 0,12 <sup>ab</sup>
%40	0,048 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,033 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,118 ± 0,01 <sup>b</sup>

Sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0.05$ ).

Those shown with the same letter on the column are statistically insignificant ( $P < 0.05$ ).

### Duyusal Değerlendirme

Genel olarak erişte örneklerinde değerlendirilen bütün parametreler açısından kavun çekirdeği tozu içeren formülasyonlar kontrol erişte örneğine kıyasla panalistlerden daha düşük puanlar almıştır (Çizelge 7). Eriştelelerin tekstür parametrelerinde en yüksek değer 5.92 ile kontrol örneğinde olduğu en düşük değerin ise %40 kavun çekirdeği tozu katkılı eriştelelerde

olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan erişte örneklerimde kavun çekirdeği tozu oranı arttıkça tekstürün önemli ölçüde olumsuz yönde etkilendiği gözlemlenmiştir. Renk, koku, tekstür, lezzet ve genel beğeni anlamında en yüksek puanı kontrol örneği alırken en düşük puanı %40 kavun çekirdeği tozu katkılı erişteleler almıştır. %10 katkılı erişteleler diğer ikame oranlarına göre kabul edilebilir sonuçlar alınmıştır.

Çizelge 7. Erişte duyu analizi sonuçları  
Table 7. Sensory analysis results of noodles

	Renk (1-7 P) <i>Color</i> (1-7P)	Koku (1-7 P) <i>Odor</i> (1-7P)	Lezzet (1-7 P) <i>Taste</i> (1-7P)	Tekstür (1-7 P) <i>Texture</i> (1-7P)	Genel beğeni (1-7 P) <i>Over all</i> (1-7P)
Kontrol <i>Control</i>	5,81 ± 0,01 <sup>a</sup>	5,67 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,62 ± 0,03 <sup>a</sup>	5,92 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,21 ± 0,01 <sup>a</sup>
%10	5,36 ± 0,05 <sup>b</sup>	5,17 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,23 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,61 ± 0,01 <sup>b</sup>
%20	4,92 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,61 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,90 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,72 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,85 ± 0,01 <sup>c</sup>
%30	4,45 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,82 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,55 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,56 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,66 ± 0,01 <sup>d</sup>
%40	4,52 ± 0,03 <sup>d</sup>	4,28 ± 0,01 <sup>e</sup>	4,28 ± 0,01 <sup>e</sup>	3,96 ± 0,01 <sup>e</sup>	4,00 ± 0,03 <sup>e</sup>

Sütunda aynı harfle gösterilenler istatistiksel açıdan önemsizdir ( $P < 0.05$ ).

*Those shown with the same letter on the column are statistically insignificant ( $P < 0.05$ ).*

### SONUÇ

Kavun çekirdeği tozunun erişte formülasyonuna dâhil edildiği bu çalışmada, bitkisel atık olarak nitelendirilen kavun çekirdeğinin değerlendirilmesi ve kavun çekirdeğindeki yağ, mineral elementler, protein, karbonhidrat ve lif zenginliğinin erişteye kazandırılması ile eriştenin fonksiyonelliğinin artırılması amaçlanmıştır. Kavun çekirdeğinin erişte formülasyonunda kullanılması ile hem kavun üreticisi açısından yan ürünlerin değerlendirilmesi mümkün kılınabilecek hem de ürünü tüketen açısından besin maddelerince zengin bir ürüne sahip olunabilecektir. Kontrol erişteye göre %40 kavun çekirdeği tozu ilavesi sonucunda; hamur ve erişte tekstürel yapısı üzerinde direnci düşürücü etkide, protein, kül, yağ ve toplam diyet lif miktarında artma yönünde etkide bulunmuştur. Su absorpsiyonu, hacim artışı ve suya geçen kuru madde miktarını artırıcı, L değerini düşürücü etkisi olmuştur. Kavun çekirdeği tozu ilavesi eriştenin mineral madde varlığında P 3.11, K 1.86, Ca 1.21, Mg 5.37, Fe 1.84, Mn 1.55, Zn 2.66 ve Cu 2.55 kat artışa neden olmuştur. Duyusal açıdan

kontrol erişteye göre düşüş olmasına karşın %10 kavun çekirdeği tozu seviyesine kadar erişte üretiminde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2017FBE057 proje numarası ile maddi olarak destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yapılmasında, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

### KAYNAKLAR

AACC (1999). General methods. In approved methods of the american association of cereal chemists', (Method 44-19, Method 08-01, Method

- 30-25, Method 46-12). 11th ed. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN.,
- Aktaş, K. (2012). Sütçülük yan ürünleri ve  $\beta$  glukoz ilavesi ile eriştinin besinsel özelliklerinin artırılması üzerine bir çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 110 s.
- Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. (2015). Gıdalarda duyuşal değerlendirme. Sidas Medya Ltd. Şti. İzmir.
- Arbuckle J. L. (2014). IBM SPSS statistics 22 For Windows User's Guide. [http://www.sussex.ac.uk/its/pdfs/SPSS\\_Amos\\_User\\_Guide\\_22.pdf](http://www.sussex.ac.uk/its/pdfs/SPSS_Amos_User_Guide_22.pdf).
- Aydın, E. (2009). Yulaf katkısının eriştinin kalite kriterlerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa. 63 s.
- Bilgiçli, N. (2009). Effect of buckwheat flour on cooking quality and some chemical, antinutritional and sensory properties of erişte, Turkish noodle. *Int J Sci Nutr.* 60, 4. doi: 10.1080/09637480802446639.
- Burdurlu H., S., Karadeniz F. (2003). Gıdalarda diyet lifinin önemi, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara.
- Demir B. (2008). Nohut ununun geleneksel erişte ve kuskus üretiminde kullanım imkanları üzerine bir araştırma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 77 s.
- Elgün, A., Certel, M., Ertugay, Z., Kotancılar, H. G. (2012). Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Labaratuar Uygulama Kılavuzu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:335.
- Ertaş, N. (2014). Reutilisation of rice byproduct: study on the effect of rice bran addition on physical, chemical and sensory properties of erişte. *Qual Assur and Safety of Crops & Foods*, 6, (2) 249-255. doi: 10.3920/QAS2013.0252
- Eyidemiş, E. (2006). Kayısı çekirdeği ilavesinin eriştinin bazı kalite kriterlerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 84 s.
- Gulia, N., Dhaka, V., Khatkar, B.S. (2014). Instant noodles: Processing, quality, and nutritional aspects, critical. *Rev Food Sci Nutr*, 54(10), 1386-1399. doi: 10.1080/10408398.2011.638227.
- İnkaya Dündar A. N. (2014). Yüksek amilozlu mısır nişastasından dirençli nişasta eldesi ve erişte üretiminde kullanımı, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 134 s.
- Kaçar B., İnal A. (2008). Bitki analizleri. Nobel Yayınları No:1241.
- Kalkan, İ., Özarık, B. (2017). Tam buğday ekmeği ve sağlık üzerine etkileri, Aydın Gastronomy. (1) , 37-46.
- Mallek-Ayadi, S., Bahloul, N., Kechaou, N. (2018). Chemical composition and bioactive compounds of Cucumis melo L. seeds: Potential source for new trends of plant oils. *Process Safety Environ Prot* 113, 68-77. doi: 10.1016/j.psep.2017.09.016
- Manthey, F. A., Yalla, S. R., Dick, T. J., Badaruddin M. (2004). Extrusion properties and cooking quality of spaghetti containing buckwheat bran flour, *Cereal Chem*, 81 (2) 232-236. doi: 10.1094/CCHEM.2004.81.2.232
- Melo M.L.S., Narain N., Bora P.S. (2000). Characterisation of Some Nutritional Constituents of Melon (Cucumis melo hybrid AF-522) Seeds. *Food Chem*, 68:411-414. doi: 10.1016/S0308-8146(99)00209-5
- Öncel, E. (2017). Erişte üretiminde farklı oran ve kombinasyonlarda karabuğday, amarant ve kinoa unlarının kullanım imkanları, Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 85 s.
- Özkaya, H., Özkaya, B. (2005). Tahıl ve ürünleri analiz yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları Yayın No: 31, Ankara, Türkiye, 157 s.
- Petkova, Z., Antova, G. (2015). Proximate composition of seeds and seed oils from melon (Cucumis melo L.) cultivated in Bulgaria. *Cogent Food & Agri*, 1, 1018779. doi:10.1080/23311932.2015.1018779

Şahin, S. (2001) Türkiye 'de Mısır Ekim Alanlarının Dağılımı ve Mısır Üretimi, G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 21 (1) 73-90.

Tümer, G. (2017). Lokma ve tulumba tatlısı üretiminde kavurğa unu kullanım imkânının araştırılması ve bazı karakteristik özelliklerin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 59 s.

Yağcı, S., Altan A., Göğüş, F., Maskan, M. (2006) Gıda atıklarının alternatif kullanım alanları, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26.

Yüksel F., Akdoğan H., Çağlar S. (2018). Keten tohumu ile zenginleştirilmiş eriştelere, fizikokimyasal, duyuşal, pişme özellikleri ve yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi, *GIDA* (2018) 43(2) 222-230. doi:10.15237/gida.GD17051



## MİKRODALGA VE TERMOSONİKASYON HAŞLAMA YÖNTEMLERİ İLE PATATESİN HAŞLANMASI VE KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

**Hamza BOZKIR\***

Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Pamukova Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Sakarya, Türkiye

Geliş / Received: 05.05.2020; Kabul / Accepted: 07.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Bozkır, H. (2020). Mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile patatesin haşlanması ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(5) 917-928 doi: 10.15237/gida.GD20065.

Bozkır, H. (2020). *Blanching of potato using microwave and thermosonication blanching methods and determination of quality characteristics. GIDA* (2020) 45(5) 917-928 doi: 10.15237/gida.GD20065.

### ÖZ

Geleneksel haşlama yöntemi ürünlerin renk, doku ve tatlarında istenmeyen değişimlere sebep olmakta, suda çözünür kuru madde, vitaminler, mineraller, fenolik ve karotenoid bileşenlerinde kayıplara yol açmakta ve uygulama süresinin uzun oluşu enerji maliyetlerinin artmasına neden olmaktadır. Son yıllarda, geleneksel haşlama işleminin meyve ve sebzelerde oluşturduğu olumsuzlukları önlemek için yeni teknolojilerin kullanımı ile ilgili araştırmalar önem kazanmıştır. Bu çalışma mikrodalga, termosonikasyon ve geleneksel haşlama yöntemleri ile patates peroksidaz enziminin inaktivasyonu ve örneklerin toplam kuru madde, C vitamini, doku ve renk özelliklerinin karşılaştırılmasını amaçlamıştır. Mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama yöntemlerinin geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama sürelerini sırasıyla %50.38-85.71 ve %57.14 azalttığı tespit edilmiştir. Termosonikasyon haşlama tekniğinin C vitamini, L\*, a\*, b\*, ΔE, ΔC ve Hue° renk değerlerini diğer yöntemlere kıyasla daha iyi koruduğu belirlenmiştir. Mikrodalga haşlama yönteminin sertlik, iç yapışkanlık, dış yapışkanlık, sakızimsılık, esneklik, elastikiyet ve çiğnenabilirlik doku özelliklerinde en yüksek değişimi gösterdiği, buna karşılık termosonikasyon haşlama yönteminin ise en düşük değişimi oluşturduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Haşlama, mikrodalga, termosonikasyon, peroksidaz, kalite.

## BLANCHING OF POTATO USING MICROWAVE AND THERMOSONICATION BLANCHING METHODS AND DETERMINATION OF QUALITY CHARACTERISTICS

### ABSTRACT

The traditional blanching methods cause undesirable changes in color, texture and flavor and it leads to loss of soluble solids, vitamins, minerals, and phenolic compounds, and long application time increases the energy costs. In recent years, novel blanching applications that eliminate the negative impacts of blanching in fruit and vegetables, have gained importance. This study aimed to inactivate potato peroxidase enzyme using microwave, thermosonication, and traditional blanching methods and compare total dry matter, vitamin C, texture, and color properties of samples. The microwave blanching and the thermosonication blanching reduced blanching times 50.38-85.71% and 57.14%, respectively, compared to traditional blanching. The thermosonication blanching preserved vitamin

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: bozkirhamza@gmail.com

☎:(+90) 264 616 0820

☎:(+90) 264 616 0014

Hamza Bozkır; ORCID no: 0000-0002-8868-697X

C and color values of L\*, a\*, b\*, ΔE, ΔC, and Hue°. It was detected that the microwave blanching showed the highest change in tissue characteristics of hardness, cohesiveness, adhesiveness, gumminess, springiness, elasticity, and chewiness, whereas the thermosonication blanching produced the lowest change.

**Keywords:** Blanching, microwave, thermosonication, peroxidase, quality.

## GİRİŞ

Patates, *Solanum tuberosum* L. türüne giren kültür bitkilerinin yumrularıdır. Patates protein, lif, kompleks karbonhidratlar, karotenoidler, C ve B vitaminleri de dahil olmak üzere mineral maddelerce ve vitaminlerce de zengin bir bileşime sahiptir (Navarre vd., 2016). Patates çips, kızartma, dondurulmuş parmak patates, nişasta, püre, patates unu, konserve gibi çeşitli ürünlerin üretilmesinde kullanılmaktadır (Garcia-Alonso ve Goni, 2000).

Meyve ve sebzelerin çeşitli ürünlere dönüştürülmeden önce ön işlem olarak haşlama işlemi uygulanmaktadır. Haşlama işlemi sebzelerde ön işlem olarak uygulanan önemli bir aşamayı oluşturmaktadır (Xin vd., 2015). Haşlama işlemi ürünlerde mikrobiyal yükün azaltılması, dokulardaki havanın dışarı atılması, toksik bileşenlerin uzaklaştırılması ve ürün kalitesinin artırılması gibi avantajlar da sağlamaktadır (Sotome vd., 2009; Xiao vd., 2017). Ayrıca haşlama işlemi polifenol oksidaz, pektin metilesteraz ve peroksidaz gibi enzimlerin inaktive edilmesi ile biyokimyasal reaksiyonları engellemektedir. Haşlama prosesi ısıya en dirençli olan peroksidaz enzimi hedef alınarak yapılmaktadır (Soysal ve Söylemez, 2005).

Meyve sebze işleme sanayinde suda haşlama ve/veya buharla haşlama yöntemleri kullanılmaktadır (Ioannou ve Ghoul, 2013). Ancak geleneksel haşlama yöntemleri meyve ve sebzelerde suda çözünen kuru madde, vitamin, mineral, fenolik madde ve karotenoid gibi değerli biyoaktif bileşenler ile renk, doku, lezzet gibi duyuşsal özelliklerinde azalmalara sebep olmaktadır. Ayrıca konvansiyonel haşlama tekniklerinde proses süresinin uzun olması enerji maliyetlerinin artmasına da neden olmaktadır (Arroqui vd., 2001; Oboh, 2005; Yolmeh ve Najafzadeh, 2014). Geleneksel haşlama prosesinin meyve ve sebzelerde oluşturduğu olumsuzlukları gideren yeni haşlama uygulamaları son yıllarda önem kazanmıştır. Mikrodalga, termosonikasyon,

ohmik ısıtma ve radyo frekans ısıtma yeni haşlama teknikleri arasında bulunmaktadır (Demirdöven ve Baysal, 2008).

Mikrodalga ısıtma dielektrik ısıtma yöntemleri arasında yer alan, 300 MHz ile 300 GHz aralığında frekansa sahip iyonize olmamış elektromanyetik ışıdır (Schiffman, 1986). Gıdanın mikrodalga uygulaması ile ısıtılması, gıdanın yüzeyine gelen mikrodalgaları absorbe etmesine ve bünyesine aldığı bu elektromanyetik enerjinin etkisi sonucu polar moleküller arasında meydana gelen titreşim ve sürtünmeler sonucunda sıcaklığının artması prensibine dayanmaktadır (Platts, 1991; Stephen, 1997). Gıda sanayinde mikrodalga ısıtma yöntemi; haşlama, pişirme, pastörizasyon, enzimlerin inaktive edilmesi, ön ısıtma, kurutma ve çözündürme işlemlerinde kullanılmaktadır (Baysal vd., 2011).

Ihl vd. (1998) mikrodalga haşlama yönteminin suda haşlamaya kıyasla enginardaki C vitamini daha fazla koruduğunu tespit etmiştir. Havuç dilimlerine uygulanan mikrodalga haşlama uygulamasının fiziksel ve kimyasal açıdan daha kaliteli ürün elde etmek için geleneksel yöntemle alternatif olarak kullanılabilceği belirlenmiştir (Başkaya Sezer ve Demirdöven, 2015). Benzer şekilde meyve ve sebzelere uygulanan mikrodalga haşlama yöntemi geleneksel haşlamaya kıyasla yüksek ısıtma, kısa işlem süresi ve örneklerdeki besin bileşenlerinde daha az kayıp oluşturması gibi birçok avantajlara sahiptir (Ramaswamy ve Fakhouri 1998; Ramesh vd., 2002; Dorantes-Alvarez vd., 2011; Ruiz-Ojeda ve Peñas 2013; Xiao vd., 2017; Nguyen vd., 2019; Tang vd., 2019).

Ultrases sözlük anlamı itibarıyla, saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi olarak ifade edilmektedir. Genellikle, ultrases uygulamalarında 20 kHz'den 10 MHz'e kadar değişen frekanslar kullanılmaktadır (Dolatowski ve ark., 2007; Knorr



ve ark., 2004). Ultrases tekniği gıda endüstrisinde dondurma, dilimleme, kurutma, çözündürme, renk açma, pastörizasyon, ekstraksiyon gibi birçok işleme uygulanabilmektedir (Ergün vd., 2013). Ultrases bazı çalışmalarda enzim ve mikrobiyal inaktivasyonun sağlanmasında tek başına yeterli olurken bazılarında da yeterli inaktivasyon derecesine ulaşmak için ultrasesin ısı ve/veya basınç gibi işlemlerle kombine edilerek kullanılması önerilmektedir. Ultrases işleminin ısı işlem ile kombinasyonuna termosonikasyon adı verilmektedir (Rahman 2007; McClements 1995). Termosonikasyon işleminin oluşturduğu kaviteasyonun hidrojen bağlarını kırdığı, proteinlerin ve enzimlerin polipeptid zincirlerinde Wan der vaals etkileşimleri ile ikincil ve üçüncül yapılar da değişikliklere sebep olduğu böylelikle enzimlerin biyolojik aktivitelerinin kaybolduğu ifade edilmektedir (Terefe vd., 2009; Adiamo vd., 2018).

Gamboa-Santos vd. (2012) termosonikasyon ve suda haşlama uygulamalarının havucun kalitesine etkisini araştırmışlardır. Termosonikasyon haşlamanın geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama süresini önemli düzeyde azalttığı ve suda çözünür kuru madde, fruktoz, sakkaroz ve glikoz kayıp miktarının düşük olduğu belirtilmiştir. Yolmeh ve Najafzadeh, (2014) yeşil fasulyelere termosonikasyon ve suda haşlama tekniklerini uygulamışlardır. Termosonikasyon haşlamanın suda haşlama yöntemine kıyasla yeşil fasulyenin C vitamini ve kalitesini daha iyi koruduğu belirtilmiştir. Meyve ve sebzelerin haşlanması amacıyla kullanılan termosonikasyon haşlama tekniğinin geleneksel haşlamaya kıyasla renk değerlerini, tekstür, C vitamini, karotenidler gibi bileşenlerde daha az kayıplar oluşturduğu ve haşlama süresini azalttığı bildirilmiştir (Cruz vd., 2011; Rawson vd., 2011; Gamboa-Santos vd., 2012; Yolmeh ve Najafzadeh 2014; Amaral vd., 2016; Alvarez vd., 2019).

Literatür kapsamında, mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama tekniklerinin meyve ve sebzelerin kalite özelliklerini daha iyi koruduğu ve işlem süresini azalttığı görülmektedir. Ancak mikrodalga haşlama, termosonikasyon haşlama ve geleneksel haşlama tekniklerinin kıyaslandığı bir

çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma mikrodalga haşlama, termosonikasyon haşlama ve geleneksel haşlama teknikleri ile patates peroksidaz enziminin inaktivasyonu ve örneklerin toplam kuru madde, C vitamini, doku ve renk özellikleri açısından karşılaştırılmasını amaçlamıştır.

### MATERYAL VE METOT

#### Materyal

Haşlama denemelerinde kullanılan patates (*Russet burbank*) örnekleri Özgörkey Gıda Ürünleri San. ve Tic. A.Ş. İzmir, firmasından temin edilmiştir. Analitik saflıkta hidrojen peroksit, okzalik asit, boya çözültüsü (2,6-dichloroindophenol) (Merck, Almanya) ve guaiacol, askorbik asit (Sigma-Aldrich Corp., USA) haşlama yeterliliği ve C vitamini analizlerinde kullanılmıştır.

#### Haşlama Yöntemleri

Patatesler işlem öncesinde yıkanmış, kabuğu soyulmuş ve 1 cm x 1 cm x 1 cm boyutlarında küp şeklinde kesilerek, mikrodalga haşlama, termosonikasyon haşlama ve geleneksel haşlama işlemlerine tabii tutulmuştur.

#### Geleneksel Haşlama

Geleneksel yöntemle haşlama işlemi su banyosuna (Wise Clean, Kore) 400 ml cam behere  $90 \pm 1$  °C'de ısıtılmış 200 ml demineralize su ve 40 g örnek (ağırlıkça 1:5) konularak ve 0-420 s boyunca her 20 s'de bir peroksidaz testi kontrol edilerek gerçekleştirilmiştir.

#### Mikrodalga Haşlama

Mikrodalga haşlama işlemi Samsung ME732K (2450 MHz ve 300, 450, 600, 800 W) markalı cihazda uygun plastik kap içerisine 40 g örnek konularak döner tablanın ortasına yerleştirilmiş, 0-200 s boyunca her 20 s'de ve son 20 s'de de 5 s aralıklı olarak peroksidaz testi kontrol edilerek yapılmıştır.

#### Termosonikasyon Haşlama

Termosonikasyon haşlama işlemi Bandelin SONOPULS HD 2200 (20 kHz, 70 W %100) markalı ultrason cihazı ve TT 13 prob (13 mm çap) kullanılarak yapılmıştır. Prob daldırma derinliği sıvı yüzeyinden  $2 \pm 0.5$  cm'ye patates örneklerine ise  $3 \pm 0.5$  cm olacak şekilde

ayarlanarak gerçekleştirilmiştir. 400 ml cam behere  $90 \pm 1$  °C'de ısıtılmış 200 ml demineralize su ve 40 g örnek (ağırlıkça 1:5) konularak sürekli sistemde termosonikasyon haşlama uygulanmıştır. Sistemin sıcaklık kontrolü için su banyosu kullanılmıştır. T tipi ısı eş, cam beherin tabanından 1 cm uzaklıkta ölçüm alacak şekilde yerleştirilerek sıcaklık 90 °C'de sabit tutulmuştur. Termosonikasyon ile haşlanan patates örnekleri 0-200 s boyunca her 20 s'de bir peroksidaz testi kontrol edilerek gerçekleştirilmiştir.

Geleneksel haşlama ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile haşlanan patatesler süzgeçte 1 dk bekletilerek örneklerdeki fazla suyun uzaklaştırılması gerçekleştirildikten sonra analizlere geçilmiştir.

### Analiz Yöntemleri

#### Peroksidaz inaktivasyonu (Haşlama yeterliliği testi)

Haşlama yeterliliğinin belirlenmesi için peroksidaz testi yapılmıştır. 5 gr örnek alınarak, 5 ml demineralize su ve sırasıyla %1'lik guaiacol (1 ml) ve % 0.5'lik hidrojen peroksit çözeltisi (1 ml) ilave edilerek kırmızımsı kahverengi bir renk gözlemlendiğinde test pozitif, renk oluşmıyorsa negatif olarak değerlendirilmiştir (Cemeroğlu, 2010).

#### Toplam Kuru Madde Tayini

Ham madde ve farklı haşlama teknikleri ile haşlanan patates örneklerinin toplam kuru madde miktarları, etüvde (Nüve, Türkiye) 105 °C sıcaklıkta sabit tartıma ulaşınca kadar kurutulması yoluyla belirlenmiştir (AOAC, 1990).

#### C Vitamini (Askorbik Asit) Tayini

Örneklerin C vitamini içerikleri spektrofotometrik yöntemle göre Varian Cary 50 Scan (Avustralya) model spektrofotometre kullanılarak 518 nm dalga boyunda absorban değerleri okunarak gerçekleştirilmiştir. Ham madde ve farklı yöntemler ile haşlanan patates örneklerinin askorbik asit içerikleri mg/100 g k.m. olarak verilmiştir (AOAC, 1995).

#### Tekstür Profil Analizi

Taze ve farklı haşlama yöntemleri ile haşlanan patateslerin tekstür profil analizi, Texture

Analys (TA-XT Plus Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Patateslerin tekstür profil analizi silindirik paslanmaz çelik prob (P/36N) kullanılarak yapılmıştır. Tekstür analizi için uygulama parametreleri; test öncesi hız 1.0 mm/s, test hızı 1.0 mm/s, test sonrası hız 1.0 mm/s, mesafe 5 mm ve tetikleme kuvveti 5.0 kg'dır (Çiçer, Çokgezme ve Sabancı, 2017). Örneklerin sertlik, iç yapışkanlık, dış yapışkanlık, sakızimsilik, esneklik, elastikiyet ve çignenebilirlik özellikleri saptanmıştır.

#### Renk Tayini

Renk özelliklerinin incelenmesinde Konica Minolta Chroma Meter CR-400 (Japan) marka renk ölçüm cihazı kullanılmıştır. Aydınlik değeri olan  $L^*$ ; "0" siyahtan "100" beyaza kadar değişir. " $a^*$ " değeri, " $-a^*$ " ile yeşil, " $+a^*$ " ile kırmızılığı gösterir. " $b^*$ " değeri ise " $-b^*$ " ile mavi, " $+b^*$ " ile sarılığı göstermektedir. Bu değerler kullanılarak toplam renk farkı ( $\Delta E$ ), kroma değeri ( $\Delta C$ ) ve Hue açısı değerleri kontrol grubu referans kabul edilerek formül 1, 2 ve 3'e göre hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2} \quad (1)$$

$$\Delta C = \sqrt{(a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2} \quad (2)$$

$$Hue^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3)$$

#### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler %95 güven aralığında varyans analizinden (ANOVA) yararlanılarak SPSS paket programı kullanılarak (SPSS, 2011, 20.0 for Windows Version; SPSS Inc., Chicago, Ill) Duncan çoklu testi ile yapılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Haşlama Uygulamalarının Karşılaştırılması

Geleneksel, mikrodalga ve termosonikasyon yöntemleri ile haşlanan patateslerin haşlama süresi (peroksidaz enziminin inaktive olduğu süre) Çizelge 1'de verilmiştir. Geleneksel haşlama ile haşlanan patateslerin haşlama süresinin 420 s olduğu belirlenmiştir. Patateslerin mikrodalga

haşlama süresinin incelenen koşullarda 60 ile 200 s arasında değiştiği belirlenmiştir. Mikrodalga güç seviyesindeki (300, 450, 600 ve 800 W) artışa bağlı olarak patateslerin haşlama süresinin azaldığı saptanmıştır. Aynı şekilde yapılan bir çalışmada havucun haşlanması amacıyla kullanılan mikrodalga haşlamada güç seviyesindeki (70, 210, 350 ve 700 W) artışa paralel olarak haşlama süresinin 720'den 60 s düştüğü belirlenmiştir (Soysal ve Söylemez 2005). Termosonikasyon işlemi ile haşlanan patateslerin haşlama süresi 180 s olarak saptanmıştır. Mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama yöntemlerinin geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama sürelerini sırasıyla %50.38-85.71 ve %57.14 kısalttığı tespit edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada patateslerin haşlanmasında kullanılan mikrodalga haşlamasının su ya da buharda haşlama işlemlerine göre en az %64 daha kısa sürede gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Baysal vd., 2011). Mikrodalga haşlamasının, geleneksel buhar ve suda haşlamaya kıyasla peroksidaz enziminin inaktivasyon süresini bezelyede %50, havuçta %44,4 ve enginarıda %60 azalttığı tespit edilmiştir (Baysal, 1994). Ruiz-Ojeda ve Peñas'ın (2013) çalışmasında mikrodalga ve geleneksel haşlamaların yeşil fasulyenin kalitesi üzerine etkilerini kıyaslamışlardır. Haşlama ön

işlemlerinde peroksidaz enziminin inaktive edilmesi hedef alınmıştır. Geleneksel haşlama yöntemine alternatif olabilecek mikrodalga haşlama tekniğinin proses süresini azalttığı belirlenmiştir. Başkaya Sezer ve Demirdöven (2015), havuç dilimlerinin peroksidaz ve pektin metilesteraz enzimlerinin inaktive edilmesi için mikrodalga haşlama ve geleneksel haşlama uygulamalarını kullanmıştır. Mikrodalga haşlamasının (630-900 W, 170-190 s) geleneksel haşlama (94 °C, 300 s) kıyasla haşlama süresini azalttığı bildirmiştir. Aynı şekilde Severini vd. (2016) brokolinin peroksidaz enzimini inaktive etmek için mikrodalga haşlama ve geleneksel haşlama uygulamalarını kullanmışlardır. Mikrodalga haşlamasının geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama süresini %50 azalttığı bildirilmiştir. Benzer şekilde brokoli, karnabahar, mango, muz püresi, kuşkonmaz, mısır, patates, lahana, çin kerevizi ve yeşil biberin haşlanmasında geleneksel haşlamaya alternatif olarak mikrodalga haşlama kullanılmış olup haşlama süresini önemli derecede kısalttığı tespit edilmiştir (Dos Reis vd., 2015; Norafida, ve Aminah, 2018; Xanthakis vd., 2018; Kumarasiri vd., 2018; Nguyen vd., 2019; Tang vd., 2019).

Çizelge 1. Farklı haşlama yöntemleri için peroksidaz testi sonuçları

Table 1. Peroxidase test results for different blanching methods

Haşlama süresi Blanching time (s)	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300	320	340	360	380	400	420	
GH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
TSH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-												
MH 300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-												
MH 450	+	+	+	+	+	-																
MH 600	+	+	+	-																		
MH 800	+	+	-																			

GH: Geleneksel haşlama/Traditional blanching; TSH:Termosonikasyon haşlama/Thermosonication blanching; MH 300, MH 450, MH 600, MH 800: 300 W, 450 W, 600 W ve 800 W Mikrodalga haşlama/MH 300, MH 450, MH 600, MH 800: Microwave blanching at 300 W, 450 W, 600 W, and 800 W; (+): Peroksidaz aktivitesi var/ There is peroxidase activity; (-): Peroksidaz aktivitesi yok/ There is no peroxidase activity.

Gamboa-Santos vd. (2012) yaptıkları çalışmada; geleneksel haşlama ve termosonikasyon haşlama uygulamalarının havucun kalitesine, peroksidaz ve pektin metilesteraz enzimlerinin inaktivasyonu üzerine etkisini araştırmıştır. Enzimlerin inaktivasyon sürelerinin geleneksel haşlamada 60 °C'de 40 dk, termosonikasyon haşlama uygulamasında ise 60 °C'de 10 dk olduğu belirlenmiştir. Cruz vd. (2006) su teresinin

peroksidaz enziminin inaktive edilmesi için termosonikasyon haşlama ve geleneksel haşlama uygulamalarının etkilerini araştırmışlardır. Termosonikasyon haşlama tekniğinin geleneksel haşlamaya kıyasla daha etkin olduğu ve proses süresini kısalttığı bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada su teresinin haşlanmasında kullanılan termosonikasyon haşlamasının geleneksel haşlama işlemine göre en

az 14 kat daha kısa sürede gerçekleştirildiği belirtilmiştir (Cruz vd., 2008). Xin vd. (2015) simli pelin yaprağının (*Artemisia argyi*) peroksidaz enzimini inaktive edilmesi için termosonikasyon haşlama ve geleneksel haşlama uygulamalarını kullanmıştır. Termosonikasyon haşlamasının (11.94 W/cm<sup>2</sup>, 85 °C, 60 s ve 20 kHz) geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama süresini azalttığı ve peroksidaz enziminin %90.7 oranında inaktive edildiği bildirmiştir. Yolmeh ve Najafzadeh, (2014) yeşil fasulyenin peroksidaz enziminin inaktive edilmesi için termosonikasyon ve geleneksel haşlama tekniklerinin etkilerini araştırmışlardır. Termosonikasyon haşlamasının (1.5 kW, 20 kHz, 90 °C, 58.27 s) geleneksel haşlama yöntemine (90 °C, 240 s) kıyasla haşlama süresini %75 azalttığı belirtilmiştir. Benzer şekilde havuç, patates, domates, yeşil fasulye, kırmızı biber, su teresi, çilek, guava dilimlerinin haşlanmasında termosonikasyon haşlama yöntemi kullanılmış olup, konvansiyonel haşlamaya kıyasla haşlama süresini önemli derecede kısalttığı belirlenmiştir (Alexandre vd., 2011; Rawson vd., 2011; Amaral vd., 2016; Pinheiro vd., 2016; Alvarez vd., 2019).

### **Haşlama Yöntemlerinin Kalite Özellikleri Üzerindeki Etkileri**

Hammadde patates ve geleneksel haşlama, mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama teknikleri ile haşlanan patateslerin toplam kuru madde değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Hammaddenin toplam kuru madde miktarı ortalama  $19.58 \pm 0.10$  olarak saptanmıştır. Bilişli vd. (2002) bazı patates çeşitlerinin toplam kuru madde miktarlarının %18.2 ile %24.6 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan patatesin toplam kuru madde miktarının, daha önce yapılan çalışmalarda bulunan değerlerle uyum gösterdiği saptanmıştır. Geleneksel, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama teknikleri ile üretilen patateslerin toplam kuru madde değerleri %18.42-22.34 arasında değişmekte olup, gruplar arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Dos Reis vd. (2015) çalışmalarında suda, buharda, vakum altında ve mikrodalga haşlamaların brokoli ve karnabaharın toplam kuru madde değerlerini karşılaştırmıştır. Suda, buharda, vakum altında ve

mikrodalga haşlama yöntemlerinin toplam kuru madde değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Gamboa-Santos vd. (2012) termosonikasyon haşlama ile haşlanan havuçların suda haşlananlara kıyasla suda çözünür kuru madde içeriğini daha iyi koruduğu bildirilmiştir. Mikrodalga güç seviyesindeki artışa bağlı olarak patateslerin toplam kuru madde içeriğinde artış olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada havucun haşlanması amacıyla kullanılan mikrodalga haşlamada güç seviyesinde (360, 630 ve 900 W) artışa paralel olarak toplam kuru madde içeriğinde de artışların olduğu belirlenmiştir (Başkaya Sezer ve Demirdöven, 2015).

Hammadde ve üç farklı yöntemle haşlanan patateslerin C vitamini değerleri kuru madde cinsinden Çizelge 2'de gösterilmiştir. Hammadde patatese ait örneklerde C vitamini değerleri 34.16 g/100 g k.m. olarak tespit edilmiştir. Farklı patates türlerinin C vitamini içerikleri 22.2-121.4 g/100 g k.m. arasında değiştiği bildirilmiştir (Burgos vd., 2009). Çalışmada kullanılan patatese ait C vitamini miktarının, daha önce yapılan çalışmalarda bulunan değerlerle uyum gösterdiği belirlenmiştir. Suda, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile haşlanan patateslerin C vitamini içerikleri 20.17-28.22 g/100 g k.m. arasında değişmekte olup, haşlama grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Cruz vd. (2008) termosonikasyon haşlama ve konvansiyonel haşlama teknikleri ile haşlanan su teresinin askorbik asit içeriklerindeki kayıpları sırasıyla %6 ve %71 olarak saptanmıştır. Yolmeh ve Najafzadeh, (2014) termosonikasyon haşlamasının geleneksel haşlama yöntemine kıyasla yeşil fasulye kalitesini ve C vitaminini daha iyi koruduğu belirtmiştir. Gamboa-Santos vd. (2013) yaptıkları çalışmada; termosonikasyon haşlama gruplarının suda haşlamaya kıyasla daha yüksek C vitamini içeriğine sahip olduğunu bildirmiştir. Enginarın mikrodalga, buharla ve suda haşlama yöntemlerinin uygulandığı bir çalışmada peroksidaz enziminin inaktive edilmesi amaçlanmıştır. Suda haşlanan enginarlarda C vitamini kaybının %17 olduğu, mikrodalga haşlamada ise C vitamini kaybının olmadığı tespit edilmiştir (Ihl vd., 1998). Ruiz-Ojeda ve Peñas'ın

## Mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile patatesin haşlanması

(2013) çalışmasında mikrodalga haşlama ile geleneksel haşlamanın yeşil fasulye kalitesi üzerine etkilerini kıyaslamışlardır. Mikrodalga haşlama tekniğinin suda haşlamaya kıyasla askorbik asidi daha iyi koruduğu ifade edilmektedir. Başka bir çalışmada ise mikrodalga haşlama, suda haşlama ve buhar haşlama yöntemleri ile haşlanan tatlı mısırın askorbik asit içerikleri hammaddeye

kıyasla azaldığı, ancak en düşük kaybın mikrodalga haşlama grubunda olduğu belirlenmiştir (Kumarasiri vd., 2018). Tang vd. (2019) yaptıkları çalışmada; mikrodalga haşlama ile haşlanan Çin kerevizinin suda haşlamaya kıyasla C vitamini daha iyi koruduğunu, mikrodalga ve suda haşlama grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bulmuştur.

Çizelge 2. Farklı yöntemler ile haşlanan patateslere ait kalite özellikleri  
Table 2. *Quality properties of blanched potatoes using different methods*

	Hammadde Raw material	GH	MH 300	MH 450	MH 600	MH 800	TSH
Toplam kuru madde Total dry matter (%)	19.58±0.10	18.42±0.33 <sup>f</sup>	20.01±0.24 <sup>d</sup>	20.84±0.16 <sup>e</sup>	21.45±0.40 <sup>b</sup>	22.34±0.22 <sup>a</sup>	19.00±0.27 <sup>c</sup>
C Vitamini Vitamin C (mg/100 g d.m.)	34.16±0.50	25.40±0.43 <sup>c</sup>	20.17±0.55 <sup>f</sup>	23.03±0.20 <sup>e</sup>	24.59±0.29 <sup>d</sup>	27.48±0.50 <sup>b</sup>	28.22±0.25 <sup>a</sup>
L*	69.40±0.91	67.65±0.13 <sup>b</sup>	68.79±0.87 <sup>a</sup>	68.53±0.76 <sup>a</sup>	65.35±0.94 <sup>b</sup>	64.20±0.33 <sup>b</sup>	68.43±0.73 <sup>a</sup>
a*	-6.81±0.22	-9.03±0.34 <sup>b,c</sup>	-7.94±0.12 <sup>a</sup>	-9.45±0.20 <sup>c</sup>	-9.08±0.40 <sup>b,c</sup>	-8.71±0.34 <sup>b</sup>	-7.93±0.10 <sup>a</sup>
b*	27.70±0.95	15.64±0.24 <sup>c</sup>	16.17±0.31 <sup>c</sup>	24.53±0.78 <sup>a</sup>	24.19±0.69 <sup>a</sup>	19.29±0.27 <sup>b</sup>	24.39±0.24 <sup>a</sup>
ΔE		12.39±0.50 <sup>b</sup>	11.62±0.33 <sup>a</sup>	4.28±0.55 <sup>d</sup>	5.85±0.95 <sup>c</sup>	10.07±0.41 <sup>b</sup>	3.67±0.35 <sup>d</sup>
ΔC		12.27±0.50 <sup>b</sup>	11.58±0.31 <sup>a</sup>	4.15±0.53 <sup>c</sup>	4.20±0.60 <sup>c</sup>	8.62±0.32 <sup>b</sup>	3.49±0.24 <sup>c</sup>
Hue°	103.82±0.08	120.00±1.23 <sup>a</sup>	116.16±0.52 <sup>b</sup>	111.07±0.39 <sup>d</sup>	110.57±0.91 <sup>d</sup>	114.30±1.10 <sup>c</sup>	108.01±0.30 <sup>c</sup>
Sertlik Hardness (g)	2545.34±97.91	738.63±23.05 <sup>b</sup>	373.04±14.90 <sup>c</sup>	309.23±15.21 <sup>d</sup>	247.44±11.86 <sup>e</sup>	221.77±7.59 <sup>c</sup>	944.18±32.76 <sup>a</sup>
Dış yapışkanlık Adhesiveness (g s <sup>-1</sup> )	-2.60±0.44	-6.62±0.60 <sup>a</sup>	-13.58±0.50 <sup>c</sup>	-17.96±2.13 <sup>d</sup>	-23.05±1.22 <sup>e</sup>	-26.23±1.26 <sup>f</sup>	-10.73±0.48 <sup>b</sup>
Esneklik Springiness	0.868±0.019	0.829±0.026 <sup>c</sup>	0.907±0.043 <sup>a</sup>	0.915±0.009 <sup>a</sup>	0.899±0.005 <sup>ab</sup>	0.833±0.028 <sup>c</sup>	0.859±0.019 <sup>bc</sup>
İç yapışkanlık Cohesiveness	0.770±0.004	0.710±0.018 <sup>b</sup>	0.732±0.021 <sup>b</sup>	0.765±0.016 <sup>ab</sup>	0.818±0.065 <sup>a</sup>	0.769±0.012 <sup>ab</sup>	0.716±0.010 <sup>b</sup>
Sakızimsılık Gumminess	1977.48±94.46	469.83±14.64 <sup>b</sup>	258.37±14.61 <sup>c</sup>	231.55±6.93 <sup>d</sup>	170.62±7.61 <sup>f</sup>	194.87±3.97 <sup>e</sup>	628.71±18.79 <sup>a</sup>
Çiğnenebilirlik Chewiness	1706.54±81.45	449.39±32.41 <sup>b</sup>	242.10±16.62 <sup>c</sup>	210.96±9.22 <sup>c</sup>	158.71±8.76 <sup>d</sup>	215.48±9.29 <sup>c</sup>	554.30±26.58 <sup>a</sup>
Elastikiyet Elasticity	0.534±0.019	0.443±0.018 <sup>b</sup>	0.438±0.004 <sup>b</sup>	0.433±0.004 <sup>b</sup>	0.424±0.013 <sup>b</sup>	0.441±0.015 <sup>b</sup>	0.479±0.009 <sup>a</sup>

GH: Geleneksel haşlama/Traditional blanching; TSH:Termosonikasyon haşlama/Thermosonication blanching; MH 300, MH 450, MH 600, MH 800: 300 W, 450 W, 600 W ve 800 W Mikrodalga haşlama/MH 300, MH 450, MH 600, MH 800: Microwave blanching at 300 W, 450 W, 600 W, and 800 W; <sup>a-f</sup>Aynı satırdaki farklı harflerle işaretlenen gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05). <sup>a-f</sup> Different letters within rows are significantly different (P <0.05).

Taze patatesin renk değerleri sırasıyla L\*; 69.40±0.91, a\*; -6.81±0.22 ve b\*; 27.70±0.95 olarak saptanmıştır. Geleneksel haşlama, termosonikasyon haşlama ve mikrodalga haşlama teknikleri ile haşlanan patateslerin L\* değerleri 64.20-68.43 arasında değişmekte olup, geleneksel, termosonikasyon ve mikrodalga haşlama (MH 300 W, MH 450 W) grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (p>0.05). Bu çalışmada üç farklı yöntem ile haşlanan örneklerinin a\* değerleri -7.93 ile -9.45 arasında değişmekte olup, geleneksel, termosonikasyon ve mikrodalga haşlama (MH 800 W) grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Haşlanan patatesin b\* değerleri 15.64 ile 24.39 arasında değişmekte

olup, geleneksel, termosonikasyon ve mikrodalga haşlama (MH 800 W) grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0.05). Patatesin haşlanmasında yüksek mikrodalga güç seviyesinin düşük L\*, a\* ve b\* renk değerlerini sağladığı tespit edilmiştir. Latorre vd. (2012) kırmızı pancarın peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerin inaktive edilmesi için mikrodalga haşlama ve geleneksel haşlama uygulamalarını kullanmışlardır. Mikrodalga haşlamada mikrodalga güç seviyesindeki artışın L\*, a\* ve b\* renk değerlerinde artışa neden olduğu, ayrıca mikrodalga haşlama ve geleneksel haşlama yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (p<0.05). Kumarasiri vd. (2018) çalışmalarında suda, buharda ve

mikrodalga haşlamaların tatlı mısırın renk değerlerini karşılaştırmıştır. Suda, buharda ve mikrodalga haşlama yöntemlerinin L\*, a\* ve b\* renk değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. Termosonikasyon haşlamasının mikrodalga ve suda haşlamalara kıyasla L\*, a\* ve b\* renk değerlerinde en az değişimi oluşturduğu belirlenmiştir. Cruz vd. (2007)'nin yaptıkları çalışmada termosonikasyon haşlamasının konvansiyonel haşlamaya kıyasla su teresinin L\*, a\* ve b\* renk değerlerinde daha az değişiklikler oluşturduğu rapor edilmiştir. Amaral vd. (2016) termosonikasyon haşlama tekniğinin suda haşlamaya kıyasla patateslerin renk değerlerini daha iyi koruduğunu bildirmişlerdir.

Suda, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile haşlanan patates örneklerinin toplam renk farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Patates gruplarında en yüksek ve en düşük toplam renk değişimi sırasıyla geleneksel haşlama ve termosonikasyon haşlama olarak saptanmıştır. Patates örneklerinin kroma değerleri 3.49 ile 12.39 arasında değişmekte olup, üç yöntem arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Patates örneklerinde en yüksek ve en düşük kroma değişimi sırasıyla geleneksel haşlama ve termosonikasyon haşlama olarak belirlenmiştir. Patates örneklerinin hue açısı değerleri 108.01 ile 120.00 arasında değişmekte olup, haşlama grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Mikrodalga haşlamada mikrodalga güç seviyesindeki artışın patates örneklerinin toplam renk değişimi ve kroma değerlerinde azalmalara neden olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada havucun haşlanmasında kullanılan mikrodalga haşlamada güç seviyesindeki (360, 630 ve 900 W) artışa paralel olarak toplam renk değişimi ve kroma değerlerinde azalmaların olduğu belirlenmiştir (Başkaya Sezer ve Demirdöven, 2015). Üç farklı yöntemle haşlanan patates örneklerinde toplam renk değişimi, kroma ve hue açısı renk değerlerinde en az değişimin termosonikasyon haşlama yönteminin olduğu saptanmıştır. Termosonikasyon işlemi ile haşlanan su teresi, patates, kırmızı biber, çilek ve guavanın toplam renk değişimi ve hue açısı

değerlerinin geleneksel haşlama kıyasla daha az bulunduğu ve haşlama yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Cruz vd., 2007; Alexandre vd., 2011; Amaral vd., 2016; Alvarez vd., 2019).

Hammadde ve geleneksel haşlama, mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama ile haşlanan patates örneklerinin doku özellikleri Çizelge 2'de gösterilmiştir. Hammaddenin sertlik değeri  $2545.34\pm 97.91$  g olarak saptanmıştır. Geleneksel, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile haşlanan patateslerin sertlik değerleri 221.77-944.18 g arasında değişmekte olup, gruplar arasında istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Geleneksel, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemlerinin haşlanan patates örneklerinin dış yapışkanlık değerlerinin arttığı ve üç yöntem arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Geleneksel haşlama, mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama teknikleri ile haşlanan patates örneklerinin esneklik değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Geleneksel, mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile haşlanan patates örneklerinin sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Termosonikasyon haşlama ile haşlanan patates örnekleri en yüksek elastikiyet değeri gösterirken en düşük değeri ise geleneksel ve mikrodalga haşlama gruplarında olduğu tespit edilmiştir. Geleneksel haşlama ile haşlanan patates örneklerinin sertlik, iç yapışkanlık, dış yapışkanlık, sakızimsılık, esneklik, elastikiyet ve çiğnenebilirlik özelliklerinin mikrodalga haşlamaya kıyasla daha iyi korunduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde mikrodalga haşlama ile haşlanan havuç ve kırmızı pancarın doku özelliklerinin geleneksel haşlamada daha düşük bulunmuştur (Latorre vd., 2012; Başkaya Sezer ve Demirdöven, 2015). Bunun nedeni gıda maddesinin sertliğini oluşturan hemiselüloz köprüleri ve selülozun hidrojen bağlarının üzerine mikrodalga etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Latorre vd., 2013). Termosonikasyon haşlama ile haşlanan patateslerin sertlik, iç yapışkanlık, dış yapışkanlık,

sakızimsılık, esneklik, elastikiyet ve çiğnenebilirlik özelliklerinin geleneksel ve mikrodalga haşlamalara kıyasla daha iyi olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde termosonikasyon haşlama ile haşlanan su teresi, patates, kırmızı biber ve çileğin sertlik değerlerinin geleneksel haşlama kıyasla yüksek olduğu ve haşlama yöntemleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Alexandre vd., 2011; Amaral vd., 2016).

### SONUÇ

Bu çalışma patates küplerinin mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama uygulamalarının geleneksel yöntemle alternatif olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Mikrodalga haşlama ve termosonikasyon haşlama yöntemlerinin geleneksel haşlamaya kıyasla haşlama süresini azalttığı tespit edilmiştir. Termosonikasyon haşlama yönteminin geleneksel haşlama ve mikrodalga haşlama uygulamalarına kıyasla C vitamini koruduğu belirlenmiştir. Termosonikasyon haşlama tekniğinin renk değerlerinde ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ,  $\Delta C$  ve  $Hue^\circ$ ) en az değişimleri gösterdiği, geleneksel haşlamanın ise en yüksek değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir. Termosonikasyon haşlama ile haşlanan patateslerin doku özelliklerindeki değişimin en az olduğu, mikrodalga haşlama ile haşlanan örneklerde ise bu değişim en yüksek bulunmuştur. Bu çalışmanın meyve ve sebze işlemede mikrodalga ve termosonikasyon haşlamalarının kullanım olanağının araştırılmasında ileride yapılabilecek haşlama proseslerine yol gösterici olacağı ön görülmektedir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar, bu makalenin çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### YAZAR KATKILARI

Yazar, bu makalenin yapılmasını, yazılmasını ve yayınlanmasını sağlamıştır. Yazar makalenin son halini okudu ve onayladı.

### KAYNAKLAR

Adiamo, O.Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E.E., Mohamed Ahmed, I.A. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing

orange peel and pulp extracts. *Food Chem*, 245, 79-88.

Alexandre, E.M.C., Santos-Pedro, D.M, Brandão, T.R.S., Silva, C.L.M. (2011). Study on thermosonication and ultraviolet radiation processes as an alternative to blanching for some fruits and vegetables. *Food Bioprocess Technol*, 4,1012-1019.

Alvarez, C., Ospina, S., Orrego, C.E. (2019). Effects of ultrasound-assisted blanching on the processing and quality parameters of freeze-dried guava slices. *J Food Process Preserv*, 2019;00:e14288

Amaral, R.D.A.A., Benedetti, B.C., Pujolà, M. (2016). A first approach of using ultrasound as an alternative for blanching in vacuum-packaged potato strips. *Food Bioprocess Technol*, 9, 794-1801.

AOAC. 1990. In: (15th Edn. Ed.), Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

AOAC. 1995. Ascorbic acid determination. In Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, , Method No. 967.21 (K. Helrich, ed.) A.O.A.C Inc., Arlington, VA.

Arroqui, C., Rumsey, T.R., Lopez, A., Virseda, P. (2001). Effect of different soluble solids in the water on the ascorbic acid losses during water blanching of potato tissue. *J Food Eng*, 47, 123-126.

Başkaya Sezer, D., Demirdöven, A. (2015). The Effects of Microwave Blanching Conditions on Carrot Slices: Optimization and Comparison. *J Food Process Preserv*, 39(6), 2188-2196.

Baysal T. (1994). Bazı Sebzelerin Kalitesine Mikrodalga ve Diğer Haşlama Yöntemlerinin Etkileri Üzerine Araştırma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi İzmir, Türkiye, 164 s.

Baysal, T., İçier, F. ve Baysal, H.A. (2011). Güncel elektriksel ısıtma yöntemleri, Sidas Medya Yayınları, No:14-1B, 348 s, İzmir.

Bilişli, A., Çevik, İ., Şentürk, A. (2002). Bazı patates çeşitlerinin derin dondurmaya elverişliliği

- üzerine araştırmalar. *Gıda Yem Bil Teknol*, 204; 0(1), 12-18.
- Burgos, G., Auqui, S., Amoros, W., Salas, E., Bonierbale, M. (2009). Ascorbic acid concentration of native Andean potato varieties as affected by environment, cooking and storage. *J Food Compost Anal*, 22, 533-538.
- Cemeroğlu, B. (2010). *Gıda Analizleri*, (2. Basım) Ankara.
- Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, C.L.M. (2006). Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). *J Food Eng*, 72:8-15.
- Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, C.L.M. (2007). Modelling kinetics of watercress (*Nasturtium officinale*) colour changes due to heat and thermosonication treatments. *Innov Food Sci Emerg Technol* 8,244-252.
- Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, C.L.M. (2008). Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 9:483-488.
- Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Fonseca, S.C., Silva, C.L.M. (2011). Impact of Thermal Blanching and Thermosonication Treatments on Watercress (*Nasturtium officinale*) Quality: Thermosonication Process Optimisation and Microstructure Evaluation. *Food Bioprocess Technol*, 4(7), 1197-1204.
- Demirdöven, A., Baysal, T. (2008). Meyve ve sebze işleme sanayinde yeni uygulamalar, Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Dolatowski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci Pol Technol Aliment*, 6 (3) 89-99.
- Dorantes-Alvarez, L., Jaramillo-Flores, E., González, K., Martinez, R., Parada, L. (2011). Blanching peppers using microwaves. *Procedia Food Sci*, 1, 178-183.
- Dos Reis, L.C.R., de Oliveira, V.R., Hagen, M.E.K., Jablonski, A., Flôres, S.H., de Oliveira Rios, A. (2015). Effect of cooking on the concentration of bioactive compounds in broccoli (*Brassica oleracea* var. Avenger) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. Alphina F1) grown in an organic system. *Food Chem*, 172, 770-777.
- Ergün, A.R., Baysal, T., Bozkır, H. (2013). Ultrases yöntemiyle karotenoidlerin ekstraksiyonu. *GIDA*, 38 (4): 239-246.
- Gamboa-Santos, J., Cristina Soria, A., Pérez-Mateos, M., Carrasco, J. A., Montilla, A., Villamiel, M. (2013). Vitamin C content and sensorial properties of dehydrated carrots blanched conventionally or by ultrasound. *Food Chem*, 136(2), 782-788.
- Gamboa-Santos, J., Montilla, A., Soria, A.C. (2012). Effects of conventional and ultrasound blanching on enzyme inactivation and carbohydrate content of carrots. *Eur Food Res Technol*, 234, 1071-1079.
- Garcia-Alonso, A, Goni, I. (2000). Effect of processing on potato starch: in vitro availability and glycemic index. *Nahrung*, 44,19-22.
- Icier, F., Cokgezme, O. F., Sabanci, S. (2017). Alternative thawing methods for the blanched/non-blanched potato cubes: microwave, ohmic, and carbon fiber plate assisted cabin thawing. *J Food Process Eng*, 40(2), e12403.
- Ihl, M., Monsalves, M., Bifani, V. (1998). Chlorophyllase inactivation as a measure of blanching efficacy and colour retention of artichokes (*Cynara scolymus* L.). *LWT-Food Sci Technol*, 31, 1, 50-56.
- Ioannou, I., Ghoul, M. (2013). Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *Eur Sci J*, 9(30):310-341.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.U. (2004). Applications and potential of ultrasonic in food processing. *Trends Food Sci Technol*, 15: 261-266.
- Kumarasiri, U.W.L.M., Premakumar, K., Khurdiya, D.S. (2018). Effects of microwave blanching on the nutritional qualities of banana puree. *Biol Life Sci*, 12(1), 1-8.
- Latorre, M.E., Bonelli, P.R., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N. (2012) Microwave



- inactivation of red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) peroxidase and polyphenoloxidase and the effect of radiation on vegetable tissue quality. *J Food Eng*, 109:676–684.
- Latorre, M.E., de Escalada Plá, M.F., Rojas, A.M., Gerschenson, L.N. (2013). Blanching of red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) root. Effect of hot water or microwave radiation on cell wall characteristics. *LWT-Food Sci Technol*, 50(1), 193–203.
- McClements, D.J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci Technol*, 6: 293-299.
- Navarre, D.A., Shakya, R., Hellman, H. (2016). Vitamins, phytonutrients, and minerals in potato. In *Advances in potato chemistry and technology: Second edition*, 117–166.
- Nguyen, T. V. L., Tran, T. Y. N., Lam, D. T., Bach, L. G., & Nguyen, D. C. (2019). Effects of microwave blanching conditions on the quality of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) butt segment. *Food Sci Nutr*, 7, 3513–3519.
- Norafida, A., Aminah, A. (2018). Effect of blanching treatments on antioxidant activity of frozen green Capsicum (*Capsicum annuum* L. var bell pepper). *Int Food Res J*, 25,4,1427-1434.
- Oboh, G. (2005). Effect of blanching on the antioxidant properties of some tropical green leafy vegetables. *LWT-Food Sci Technol*, 38(5), 513–517.
- Pinheiro, J.C., Alegria, C.S.M., Abreu, M.M.M.N. (2016). Evaluation of Alternative Preservation Treatments (Water Heat Treatment, Ultrasounds, Thermosonication and UV-C Radiation) to Improve Safety and Quality of Whole Tomato. *Food Bioprocess Technol*, 9, 924–935.
- Platts, J. (1991). *Microwave Ovens*, Peter Pergrinus Ltd. London UK.
- Rahman, S.M. (2007). *Handbook of Food Preservation*. (2nd Ed.). CRC Press. London. 713-739.
- Ramaswamy, H.S., Fakhouri, M.O. (1998). Microwave Blanching: Effect On Peroxidase Activity, Texture, And Quality Of Frozen Vegetables. *J Food Sci Technol*, 35: 216-222.
- Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D., Bognar, A. (2002). Microwave Blanching of Vegetables. *J Food Sci*, 67(1): 390-398.
- Rawson, A., Tiwari, B.K., Tuohy, M.G. (2011). Effect of ultrasound and blanching pretreatments on polyacetylene and carotenoid content of hot air and freeze dried carrot discs. *Ultrason Sonochem*, 18,1172-1179.
- Ruiz-Ojeda, L.M. Peñas, F.J. (2013). Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 20, s 191-197.
- Schiffman, R.F. (1986) Food Product Development for Microwave Processing. *Food Technol*, 40(6), 94-98.
- Severini, C., Giuliani, R., De Filippis, A. (2016). Influence of different blanching methods on colour, ascorbic acid and phenolics content of broccoli. *J Food Sci Technol*. 53, 501-510.
- Sotome, I., Takenaka, M., Koseki, S., Ogasawara, Y., Nadachi, Y., Okadome, H., Isobe, S. (2009). Blanching of potato with superheated steam and hot water spray. *LWT-Food Sci Technol*, 42(6), 1035- 1040.
- Soysal, Ç., Söylemez, Z. (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. *J Food Eng*, 68, 349–356.
- Stephen, J.H. (1997). *Microwave Enhanced Chemistry (Fundamentals, Sample Preparation and Application)*, American Chemical Society, Washington DC., USA.
- Tang, M., Sun, H., Zhang, Z., Zhao, J., Cao, J., Thakur, K., He, S. (2019). Evaluation of hot water and microwave blanching on qualities and sensory characteristics of water dropwort (*Oenanthe javanica* DC.). *J Food Process Preserv*, 43:e14104.
- Terefe, N.S., Gamage, M., Vilku, K., Simons, L., Mawson, R., Versteeg, C. (2009). The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. *Food Chem*, 117(1), 20–27.

Xanthakis, E., Gogou, E., Taoukis, P., Ahrné, L. (2018). Effect of microwave assisted blanching on the ascorbic acid oxidase inactivation and vitamin C degradation in frozen mangoes. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 48, 248-257.

Xiao, H., Pan, Z., Deng, L., El-Mashad, H. M., Yang, X., Mujumdar, A. S., Gao, Z., Zhang, Q. (2017). Recent developments and trends in thermal blanching-A comprehensive review. *Inf Process Agric*, 4, 101-127.

Xin, Y., Zhang, M., Yang, H., Adhikari, B. (2015). Kinetics of argy wormwood (*Artemisia argyi*) leaf peroxidase and chlorophyll content changes due to thermal and thermosonication treatment. *J Food Sci Technol*, 52(1), 249-257.

Yolmeh, M., Najafzadeh, M. (2014). Optimisation and modelling green bean's ultrasound blanching. *Int J Food Sci Technol*, 49(12), 2678-2684.

***Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'NİN FARKLI ORGANLARINDAN ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTESİ VE BAZI FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

**Sevim Çolak<sup>1</sup>, Sevilay Çolak<sup>1</sup>, Fatma Dağlı<sup>1</sup>, Nazan Çömlekçioğlu<sup>1\*</sup>, Yusuf Ziya Kocabaş<sup>2</sup>, Ashabil Aygan<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

<sup>2</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Aromatik Bitkiler Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

Geliş / Received: 23.03.2020; Kabul / Accepted: 24.08.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Çolak, S., Çolak, S., Dağlı, F., Çömlekçioğlu, N., Kocabaş, Y.Z., Aygan, A. (2020). *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*'nın farklı organlarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi ve bazı fitokimyasal özellikleri. GIDA (2020) 45(5) 929-941 doi: 10.15237/gida.GD20048

Çolak, S., Çolak, S., Dağlı, F., Çömlekçioğlu, N., Kocabaş, Y.Z., Aygan, A. (2020). Antimicrobial activity and some phytochemical properties of extracts from *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*. GIDA (2020) 45(5) 929-941 doi: 10.15237/gida.GD20048

**ÖZ**

*Achillea* L. bitkisi, dünyada en yaygın kullanılan şifalı bitkiler arasındadır. Bu çalışmada, Kahramanmaraş'taki farklı lokalitelerden toplanan *Achillea aleppica* D.C. subsp. *aleppica* türünün farklı bitkisel organlarından (çiçek ve yaprak) elde edilen ekstraktların, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi ile toplam fenolik ve flavonoid içeriği incelenmiştir. Ayrıca ekstraktların sabit yağ içeriği GC-MS analizi ile incelenmiş ve sonuç olarak 31 farklı yağ asidi belirlenmiştir. Bitki ekstraktlarının başlıca yağ asidi bileşenlerini bütirik asit, oleik asit, linoleik asit, palmitik asit ve cis-4,7,10,13,16,19-dokosaheksaenoik asit oluşturmaktadır. Bitki ekstraktlarının toplam fenolik madde değeri 8.42-38.49 mg/g, toplam flavonoid miktarı 4.54-14.04 mg/g, FRAP değeri 14.48-48.31 µg/g ve DPPH değeri 0.7-33.37 mg/g arasında değişmektedir. Toplam 10 mikroorganizma üzerinde gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite denemeleri sonucunda, ekstraktların sadece *Sarcina lutea* ve *Candida albicans* üzerinde inhibisyon etkisi görülmemiştir. Ayrıca metanolik ekstraktlarda Sarıçukur lokasyonundan toplanan bitkiler, Ahrıdağı lokasyonundan toplananlara göre daha iyi sonuç vermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, biyoaktif bileşikler, yağ asitleri, *Achillea aleppica* subsp. *aleppica*

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SOME PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF EXTRACTS FROM *Achillea aleppica* subsp. *aleppica***

**ABSTRACT**

*Achillea* L., is one of the most widely used medicinal plants in the world. In this study, antioxidant, antimicrobial activity and total phenolic and flavonoid contents of extracts obtained from flower and stem of *Achillea aleppica* D.C. subsp. *aleppica*, were investigated. Fixed oils content of the extracts was

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author;

✉ noktem80@gmail.com

☎ (+90) 344 300 1414

☎ (+90) 344 300 1352

Sevim Çolak; ORCID no: 0000-0003-0424-8938

Sevilay Çolak; ORCID no: 0000-0003-3366-1326

Fatma Dağlı; ORCID no: 0000-0002-3230-1890

Nazan Çömlekçioğlu; ORCID no: 0000-0001-7729-5271

Yusuf Ziya Kocabaş; ORCID no: 0000-0003-2831-8910

Ashabil Aygan; ORCID no: 0000-0003-4936-9872

examined by GC-MS analysis. Totally 31 different fatty acids were determined. The main fatty acid components of plant extracts were butyric acid, oleic acid, linoleic acid, palmitic acid and cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid. Total phenolic content, flavonoid amount, FRAP value and DPPH value of the plant extracts ranged between 8.42-38.49 mg/g; 4.54-14.04 mg/g; 14.48-48.31 µg/gand 0.7-33.37 mg/g, respectively. Antimicrobial activity assay carried out against 10 microorganisms showed no inhibitory effect against only *Sarcina lutea* and *Candida albicans*. In addition, methanolic extracts from the plants from Sarıçukur location produced better results than that of Ahir mountain.

**Keywords:** Antimicrobial activity, antioxidant activity, bioactive compounds, fatty acids, *Achillea aleppica* D.C. subsp. *aleppica*

## GİRİŞ

Gelişen yaşam şartları birçok rahatsızlığı da beraberinde getirmiştir. Geçmişte yaşanan hastalıkların tekrar tedavi edilemez duruma gelmesi, günümüzde başta kanser olmak üzere bazı ciddi hastalıkların tedavisinin yetersiz olması doğal kaynaklı ilaçlara yönelimi arttırmıştır. Bitkiler doğrudan veya dolaylı olarak bu tür hastalıkların tedavisinde kullanılan en temel ürünlerdir (Taşkın, 2015). Günümüzde temel ihtiyaçların karşılanması dışında başta ilaç sanayii olmak üzere; kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele gibi çeşitli alanlarda bitkilerin biyoaktif bileşikleri olan sekonder metabolitlerden faydalanılmaktadır (Hatipoğlu, 2010). Sekonder metabolitler başlıca glikozitler, fenoller, terpenler, tanenler ve saponinler olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Aydın ve Mammadov, 2017). Doğal yaşam ortamlarında bakteri, virüs, böcek, otçul hayvan gibi düşmanlarla ve sıcaklık değişimi, su, UV gibi abiotik stres koşullarıyla karşı karşıya kalan bitkiler, bu tür zararlılardan kaçamadıklarından kendilerini sekonder metabolitleriyle koruma altına alırlar (Çakıcı, 2014; Yılmaz, 2015).

İnsanoğlu bitkilerin bu özelliğinden faydalanarak birçok hastalığın tedavisinde kullanmak üzere tedavi amaçlı olarak bitkilere yönelmişlerdir. Sentetik ilaçların yan etkileri, özelliklere karşı bakterilerin direnç kazanması gibi nedenlerden dolayı, günümüzde bitki kaynaklı ilaçların önemi daha da artmıştır. Sağlık açısından önem arz eden doğal antioksidanların kaynaklarına ve klinik değerlerine odaklanmayı ve yaygın hastalıkları en aza indirmeyi amaçlayan bu tür çalışmalar da giderek artmaktadır (Hatipoğlu, 2010; Taşkın, 2015). Çünkü güçlü hastalıklara karşı daha etkili,

daha az toksik madde içeren ilaçların üretimi için bu bitkiler hakkında yeterli donanıma sahip olmak gerekmektedir (Bali, 2012).

Türkiye florasında Asteraceae familyası 140 cins ve 1195 tür ile temsil edilmektedir. Buna göre hem tür hem de cins bakımından floramızın en zengin familyasıdır (Abak ve Akan, 2014). Toplam 446 endemik tür içeren Asteraceae'nin endemizm oranı %37.3'tür. Bu cinsler arasında *Achillea* Türkiye Florası'nda 42 tür (48 takson) ile temsil edilmektedir. Bunlardan 27'si endemik olup dar yayılışıdır (Taşar ve ark., 2017). *Achillea* bitkisi çok eski yıllardan beri sağlık alanında kullanılmakla beraber çiçeklerinin güzelliğinden ötürü kültürü de yapılmaktadır (Hatipoğlu, 2010). *Achillea* bitkisinin idrar söktürücü, iştah açıcı, yara iyileştirici ve özellikle bitkiyle yapılan çayın karın ağrısını gidermesi gibi faydaları bulunmaktadır (Taşkın, 2015).

*Achillea* türlerinin uçucu yağları (Pino ve ark., 1998; Rustaiyan ve ark., 1998; Orav ve ark., 2001); antimikrobiyal aktiviteleri (Baser ve ark., 2002; Sokmen ve ark., 2003; Tabanca ve ark., 2011; Küçükbay ve ark., 2012; Akcin ve ark., 2014) ve insektisidal etkileri (Tozlu ve ark., 2011; Kesdek ve ark., 2013) ile ilgili yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır. Ülkemizde *Achillea* türleri ile ilgili yapılan çalışmalar son zamanlarda hız kazanmış olsa da, bazı *Achillea* türlerinin biyokimyasal kompozisyonlarına ilişkin çalışmalar hala çok sınırlı sayıdadır veya hiç yoktur. Bu çalışmada *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinden elde edilen ekstraktların biyoaktif bileşen, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış olup, ayrıca GC-MS yardımıyla da yağ asidi profili incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Bitki Materyali

Bu çalışmada kullanılan *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisine ait örnekler, 2018 yılının Temmuz ayında Kahramanmaraş'ta yetiştiği doğal alanlar olan Sarıçukur/Türkoğlu ve Ahırdağı olmak üzere iki farklı lokasyondan toplanmıştır. Bitkiler Flora of Turkey'e göre teşhis edilmiş ve herbaryum numarası verilen örnekler KSU Herbaryumunda muhafazaya alınmıştır (Davis, 1965).

### Örnek hazırlığı

*A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin toprak üstü kısımları oda sıcaklığında, gölge ve rutubetsiz bir ortamda kurutulmuştur. Kurutulmuş bitkinin yapraklı gövde aksamı ve çiçekleri, laboratuarda bulunan Waring blender ile ayrı ayrı öğütülerek toz haline getirilmiştir. Ardından deneyde kullanılmak üzere ışık ve nemden korunacak şekilde cam şişelerde saklanmıştır.

### Kül ve Protein Tayini

Kül içeriği Avrupa standart metodu UNIEN 14775(2010)'a göre; protein ise Kjeldahl metoduna göre yapılmıştır.

### Ekstraksiyon yöntemi

Analizden önce ekstraksiyon hazırlığı Karaalp ve ark. (2009)'nın yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. *Achillea* bitkisiyle yapılan biyoaktivite çalışmalarında, yaygın olarak tercih edildiği için metanol (Polarite indeksi: 5.1) ve kloroform (Polarite indeksi: 2.7) olmak üzere iki farklı çözücü kullanılarak, iki çözücünün kıyaslanması amaçlanmıştır (Karaalp ve ark., 2009; Serdar ve ark., 2015; Taşkın ve ark., 2018) Bitki örneği 10'ar g olacak şekilde ayrı ayrı tartılarak, üzerlerine 100'er ml olacak şekilde metanol ve kloroform çözücüleri eklenmiştir. Ultrasonik Su Banyosu'nda 1 saat ekstrete edildikten sonra 12000 g (3500 rpm) değerinde, 15 dk santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı kısım başka bir tüpte toplanmış ve bitki örneği bir kez daha aynı şekilde ekstrete edilmiştir. Ekstraktlar bir araya getirilerek vakumlu rotary evaporatörde çözücü uzaklaştırılmış ve kuru ekstrakt elde edilmiş ve bu ekstraktlar analize kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### Bitki Ekstraktlarının Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi

Soksalet yöntemiyle elde edilen sabit yağ içerisindeki yağ asitlerinin analizi GC-MS ile Comlekcioglu (2019)'a göre yapılmıştır. GC-MS analizleri Shimadzu GC 2025 sistemi ile gerçekleştirilmiştir. TRCN-100 (60m x 0.25 mm x 0.20 µm film thickness) SE-54 fused silika kapiler kolon kullanılmıştır. Elektron enerjisi 70 eV'tur. Enjeksiyon miktarı 1 µl'dir. Numunelerin analizi 80 °C'de 2 dakika bekletildikten sonra dakikada 5°C artırılıp 140 °C sıcaklığa ulaştıktan sonra, bu sıcaklıkta 2 dakika tutulmuştur. Bu işlemi takiben, dakikada 3°C'lık bir artışla 240 °C'da 5 dakika daha bekletilmiştir. Toplam analiz süresi 61 dakika olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyonlar split modda (1:50) 240 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir ve dedektör sıcaklığı 250 °C'dir. Helyum taşıyıcı gaz olarak kullanılıp ve akış hızı 30ml/dk'ya ayarlanmıştır. Kullanılan gaz akışları H<sub>2</sub>=40ml/dk ve kuru hava=400 ml/dk olarak belirlenmiştir.

### Antioksidan Kapasitenin Belirlenmesi

#### Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi

Örneklerin toplam fenolik içeriği Folin-Ciocalteou Reaktif (FCR) yöntemi kullanılarak Blainski ve ark., (2013)'nin prosedürü modifiye edilerek yapılmıştır. Standart olarak gallik asit (Sigma) kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonlar spektrofotometrede (Perkin-Elmer Lambda EZ 150, USA) 750 nm'de okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit çözeltileri ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru örnek ağırlığı cinsinden verilmiştir.

#### Toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi:

Bitki ekstraktlarındaki toplam flavonoid içeriği Chang ve ark., (2002)'a göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Standart solüsyon farklı konsantrasyonlarda (25-200 µg/mL) yukarıdaki prosedüre göre hazırlanan quercetin (Sigma) ile hesaplanmıştır. Absorbans 415 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri µg quercetin eşdeğeri/g kuru örnek ağırlığına dönüştürülmüştür.

#### DPPH metodu:

Antioksidan kapasite (serbest radikallerin indirgenme kapasitesi) Brand-Williams ve ark. (1995) tarafından tanımlanan DPPH metodu modifiye edilerek belirlenmiştir. Her bitki ekstraktından seyreltilerek beş farklı konsantrasyonda solüsyon hazırlanmıştır. Sonuçlar, DPPH serbest radikallerinin %50'sini indirgemek için gereken konsantrasyon değeri olan IC<sub>50</sub> olarak gösterilmiştir. Tüm deneyler üç tekerrürlü olarak yapılmış ve askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Antioksidan kapasite:  $\%AA = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}}] \times 100$

#### FRAP metodu:

FRAP yöntemi Benzie ve Strain (1996)'a göre yapılmıştır. Bitki ekstraktlarından 50 µl, 2ml'lik ependorf tüplerine aktarılmış ve üzerine 600 µl FRAP ajanı eklenmiştir. Absorbans 593 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar askorbik asit (100-1000 µmol/L) kalibrasyon grafiği kullanılarak µmol askorbik asit eşdeğeri/g kuru bitki ağırlığı olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar µmol/g kuru bitki ağırlığı olarak verilmiştir.

#### Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi:

Elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi'ne (NCCLS) göre oyuk agar difüzyon metodu ile belirlenmiştir (NCCLS, 1993). Test mikroorganizmaları olarak; *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *MRSA (Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus)*, *Sarcina lutea* ATCC 9341NA, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* olmak üzere klinik izolatlar ve standart suşlar kullanılmıştır. Test mikroorganizmaları 24 saat önceden LB (Luria-Bertani) ve Sabouraud dextrose broth besiyerlerine ekilerek 0.5 Mcfarland standart turbiditesine karşılık gelen (1x10<sup>8</sup> bakteri ve 0.5-3x10<sup>4</sup> maya/mL) steril serum fizyolojik ile sulandırılmış kültürlerden 0.1mL alınarak otoklavdan sonra 50-55°C'ye kadar soğutulan Müeller Hinton Agar ve Sabouraud Dextrose Agara aşılama yapıldıktan sonra petrilere dökülmüştür. Oda sıcaklığında katlaşılan petrilere 4

mm çapında aseptik kurallara uygun bir şekilde çukurcuklar açılmıştır. Bitki ekstraktları DMSO içerisinde çözülmüştür (16mg/ml). Daha sonra hazırlanan ekstraktlar bu çukurcuklara mikropipet yardımı ile 100 µL eklenmiştir. Bu şekilde hazırlanan petrilere 45 dakika kadar buzdolabında bekletildikten sonra, bakteri kültürleri 37°C'de 24 saat, maya aşılama petrilere ise 25 °C'de 2 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür. DMSO (50 µl) çözücü kontrolü olarak kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite gösteren bitki ekstraktlarının, daha sonra farklı konsantrasyonlarda Mueller Hinton Broth ve Sabouraud Dextrose Broth içerisinde MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir (Collins ve ark., 1989). MİK değerleri, gözlemlenebilir gelişmeyi/bulanıklığı önleyen tüplerdeki en düşük ekstrakt konsantrasyonu olarak kaydedilmiştir.

#### SONUÇ VE TARTIŞMA

##### Protein, Kül, Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonuna Ait Sonuçlar

Ahırdağı ve Sarıçukur olmak üzere iki farklı lokasyondan toplanan *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin çiçek ve yapraklarındaki protein, kül ve yağ içerikleri ölçülmüş olup bu değerler Çizelge 1'de verilmiştir. Ahırdağı lokasyonuna ait bitkilerin çiçek ve yaprak kısımlarının protein değerleri sırasıyla %9.34 ve %5.55 iken Sarıçukur lokasyonundan toplanan bitkilerde bu değerler %9.37 ve %5.09 olarak bulunmuştur. Kül analizlerinde ise Ahırdağı lokasyonundaki çiçek ve yaprak kısımlarının miktarları sırasıyla %7.36-7.49 ve Sarıçukur lokasyonundakiler ise %8.69-11.38 olarak elde edilmiştir. Sokslet ekstraksiyonu sonucunda Ahırdağı lokasyonundan toplanan bitkilerin çiçek ve yaprak ekstraktlarının yağ miktarları sırasıyla %1.45 ve 2.57 iken Sarıçukur'dan toplanan bitkilerin yağ oranları ise %1.96 ve 3.03 olarak saptanmıştır.

Bitkilerin yağ içerikleri GC/MS ölçümleri sonucunda ortaya çıkartılmış olup, ekstraktların yağ asidi kompozisyonuna ait veriler Çizelge 2'de ve GC-MS kromatogramları Şekil 1.'de verilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre her iki lokasyondan toplanan bitkilerin çiçek ve yaprak ekstraktlarında,

15 tanesi doymuş 16 tanesi doymamış olmak üzere toplamda 31 adet yağ asidi tayin edilmiştir. Ahırdağı ve Sarıçukur lokasyonlarından toplanan bitkilerin çiçek ekstraktlarının başlıca yağ asidi bileşenlerini bütirik asit (sırasıyla %51.04 ve 36.11), palmitik asit (%11.62 ve 11.29), cis-4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoik (%7.08 ve

10.03) oluşturmaktayken; yaprak ekstraktlarının başlıca yağ asidi bileşenlerinin ise yine bütirik asit (%17.76 ve 11.89) ve palmitik asidin yanısıra (%16.14 ve 12.79), çiçekten farklı olarak oleik asit (%22.15 ve 33.50) ve linoleik asitten (%13.82 ve 19.47) oluştuğu görülmektedir.

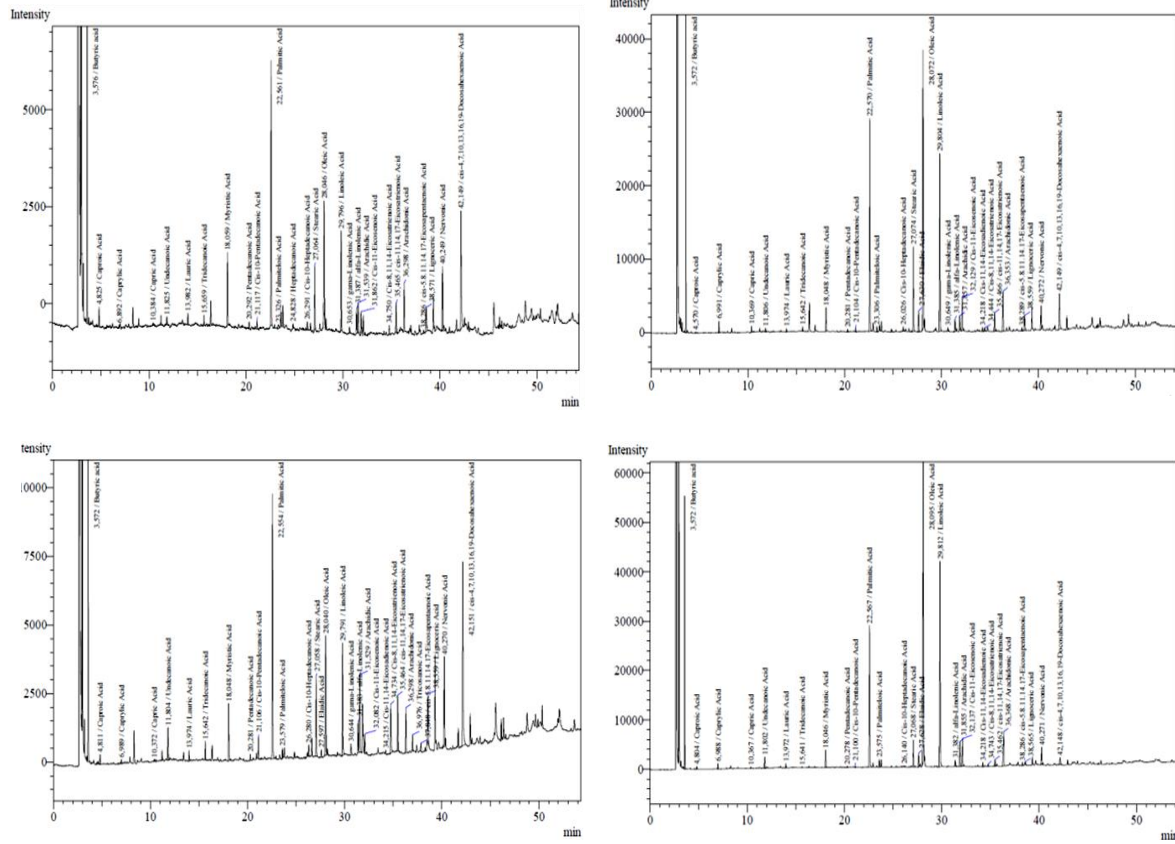
Çizelge 1. Çiçek ve yaprakların protein, kül ve yağ miktarları  
Table 1. Protein, ash and fat contents of flowers and leaves

	Çiçek / Flower			Yaprak / Leaf		
	Protein Miktarı <i>Protein amount (%)</i>	Kül Miktarı <i>Ash Amount (%)</i>	Yağ Miktarı <i>Oil Amount (%)</i>	Protein Miktarı <i>Protein amount (%)</i>	Kül Miktarı <i>Ash Amount (%)</i>	Yağ Miktarı <i>Oil Amount (%)</i>
Ahırdağı	9.34 ± 0.56	7.36 ± 0.76	1.45 ± 0.76	5.55 ± 0.64	7.49 ± 0.83	2.57 ± 0.26
Sarıçukur	9.37 ± 0.42	8.69 ± 0.65	1.96 ± 0.56	5.09 ± 0.61	11.38 ± 0.94	3.03 ± 0.53

Çizelge 2. Çiçek ve yaprakların yağ asidi kompozisyonları (%)  
Table 2. Fatty acid compositions of flowers and leaves (%)

			Ahırdağı		Sarıçukur	
			Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>
1	C4:0	Butyric acid	51.03	17.76	36.11	11.89
2	C6:0	Caproic Acid	0.69	0.04	0.39	0.21
3	C8:0	Caprylic Acid	0.09	0.66	0.15	0.35
4	C10:0	Capric Acid	0.07	0.33	0.05	0.08
5	C11:0	Undecanoic Acid	0.43	0.29	1.58	1.10
6	C12:0	Lauric Acid	0.38	0.20	0.38	0.32
7	C13:0	Tridecanoic Acid	0.32	0.25	0.56	0.06
8	C14:0	Myristic Acid	3.04	1.65	2.28	1.45
9	C15:0	Pentadecanoic Acid	0.29	0.18	0.23	0.11
10	C16:0	Palmitic Acid	11.62	16.14	11.29	12.79
11	C17:0	Heptadecanoic Acid	0.19	-	-	-
12	C18:0	Stearic Acid	2.79	6.36	3.39	2.40
13	C20:0	Arachidic Acid	1.47	0.94	3.98	2.28
14	C23:0	Tricosanoic Acid	-	-	0.55	-
15	C24:0	Lignoceric Acid	1.42	1.42	2.46	0.36
16	C16:1	Palmitoleic Acid	0.33	0.42	0.40	0.69
17	C17:1	Cis-10-Pentadecanoic Acid	0.33	0.21	0.71	0.08
18	C17:1	Cis-10-Heptadecanoic Acid	0.39	0.28	0.54	0.10
19	C18:1	Elaidic Acid	-	1.57	0.33	1.24
20	C18:1	Oleic Acid	4.59	22.15	5.22	33.50
21	C20:1	Cis-11-Eicosenoic Acid	0.78	2.81	0.85	2.80
22	C24:1	Nervonic Acid	2.77	1.82	4.03	1.68

23	C18:2	Linoleic Acid	4.39	13.82	5.02	19.47
24	C18:3	gama-Linolenic Acid	0.29	0.35	0.63	-
25	C18:3	alfa-Linolenic Acid	1.06	0.93	1.22	0.52
26	C20:2	Cis-11,14-Eicosadienoic Acid	-	0.31	0.14	0.36
27	C20:3	Cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid	0.47	0.29	2.61	0.20
28	C20:3	cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid	1.29	1.39	2.48	0.60
29	C20:4	Arachidonic Acid	2.21	3.66	1.96	4.08
30	C20:5	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid	0.17	0.23	0.42	0.25
31	C22:6	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic	7.07	3.54	10.03	1.01
Doymuş Yağ asidi Oranı (SFA) Ratio of saturated fatty acid			73.83	46.4	63.4	33.4
Tekli Doymamış Yağ Asidi Oranı (MUFA) Ratio of monounsaturated fatty acid			9.19	29.26	12.08	40.09
Çoklu Doymamış Yağ Asidi Oranı (PUFA) Ratio of polyunsaturated fatty acid			16.95	24.52	24.51	26.49



Şekil 1. *A. aleppica* subsp. *aleppica*’ya ait çiçek ve yaprakların GC-MS kromatogramları. Ahırdağı lokasyonu-Çiçek (a) ve Yaprak (b), Sarıçukur lokasyonu-Çiçek (c) ve Yaprak (d).  
Figure 1. GC-MS chromatograms of flowers and leaves of *A. aleppica* subsp. *aleppica*. Ahırdağı location-flower (a) and Leaves (b), Sarıçukur location-flower (c) and Leaves (d).



Bitki ekstraktlarının yağ asidi ölçümü sonuçları lokasyonlar bakımından karşılaştırıldığında; doymuş yağ asidi oranı açısından Ahırdağı lokalitesinden, tekli doymamış yağ asidi ve çoklu doymamış yağ asidi oranı açısından ise Sarıçukur lokalitesinden toplanan bitkilerin daha zengin olduğu tespit edilmiştir. Yağ asidi miktarlarının lokasyona ve çalışılan bitki kısmına (çiçek ve yaprak) göre değiştiği görülmüştür. Sonuçlar çalışılan organlar bakımından karşılaştırıldığında, benzer şekilde toplam doymuş yağ asitleri açısından çiçeklerin, tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından ise yaprak yaprakların daha zengin olduğu belirlenmiştir. Yapılan literatür taramasında *A. aleppica* subsp. *aleppica*'nın yağ asidi kompozisyonu ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ertaş ve ark. (2014) *A. cappadocia* türüyle yaptıkları çalışmada, bitkinin toprak üstü kısımlarının antioksidan, antikolinesteraz, antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra yağ asitlerini de incelemişlerdir. Çalışmalarında toplamda 17 yağ asidi tayin edilmiş olup, başlıca yağ asitlerini oleik asit (%34.7), palmitik asit (%23.1) ve linoleik asit (%20.7) oluşturmaktadır. İçerik olarak benzer olmakla birlikte, oransal olarak bu çalışmada daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada farklı olarak yüksek oranda doymuş bir yağ asidi olan bütirik asit (%51.03) bulunmuştur. Zonuz (2016), 11'i endemik olmak üzere 16 farklı *Achillea* türüne ait tohumların yağ asidi bileşenlerini ve oranlarını incelemiş ve genel olarak ana yağ asitlerinin palmitik asit, oleik asit ve linoleik asitten oluştuğunu belirtmiştir. Oransal olarak en yüksek değerler palmitik asit %35.15 (*A. schischkini*), oleik asit %17.23 (*A. wilhelmsii*) ve linoleik asit %73.01 (*A. nobilis*) şeklindedir. Bu çalışmadaki oransal farklılıkların, çalışılan organların farklı olmasının yanı sıra, lokasyon, iklim, ekolojik farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir.

Dias ve ark. (2013) dünyada en yaygın bulunan ve en çok çalışılan tür olan *A. millefolium*'un yabani ve ticari formlarının kimyasal kompozisyonunu karşılaştırmışlardır. Toprak üstü aksamdaki yağ ekstraktının major yağ asidi oranlarını ticari formlara kıyasla yabani olan türlerde daha yüksek miktarlarda bulmuşlardır. Yabani formlardaki

major yağ asidi bileşenleri linoleik (%47.16), oleik (%28.23) ve palmitik (%15.54) asittir. Bu çalışmada Dias ve ark.'nın (2013) inceledikleri yabani türlerle benzer sonuçlar bulunmuş olup, ticari forma kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiştir.

Yüksek enerji kaynağı olan ve temel gıdalarda bulunan yağlar insan sağlığı için çok önemli bir yere sahiptir (Çakmakçı, 2012). Yağ asidi kompozisyonlarının belirlenmesinin amacı yağların insan sağlığı ve rahatsızlıklarındaki rollerini belirlemektir. Karbonlar arasında tekli bağ içeren ve oda koşullarında katı halde bulunan yağlara doymuş yağlar denir. Bu yağlardan biri olan bütirik asit, bitkisel ve hayvansal yağlarda bulunur. Bütirik asit gıda maddelerinde ve içecek endüstrisinde iyi bilinmesinin yanı sıra diğer yağ asitlerine oranla epitel hücreleri için iyi bir enerji kaynağıdır. Gıda endüstrisinde gıdaların korunması, tereyağı benzeri tat ve aroma oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır. Sağlık alanında ise kolon mukozasını korumak, iltihaplanmayı önlemek, tokluğu arttırmak amacıyla kullanılır (Çağlar, 2017; Dwidar ve ark., 2012). Karbon atomları arasında en az iki bağ içeren yağlara doymamış yağlar denir. Oleik asit ve linoleik asit doymamış yağ asitlerinden olup bitkisel yağlarda ve margarinlerde fazla oranda bulunur. Bunun sebebi ise raf ömrünün uzun, tatlarının iyi olmasındandır. Bu yağların insan sağlığı açısından iyi huylu kolesterol miktarını arttırarak damar sertliğini geriletme, tansiyon düşürme, kanser riskini azaltma gibi önemli yararları vardır (Duru ve Konuşkan, 2014). Bu önemli yağ asitlerini major miktarda içerdiği göz önüne alındığında, *A. aleppica* subsp. *aleppica*'nın sağlıklı bir bitki olduğu düşünülmektedir.

### **Toplam Fenol, Flavonoid İçerikleri ve Antioksidan Aktivitesine Ait Sonuçlar**

İnsanlar yaşamı boyunca birçok rahatsızlıktan korunmak veya bu rahatsızlıkların giderilmesini sağlamak için doğal antioksidanlar olan bitkilerden yararlanmaktadır (Tekeli ve ark., 2008). Antioksidanlar vücutta var olan ve dış etmenlerle artan (UV, sigara, alkol, gıda vb.) serbest radikallerin etkilerini azaltan veya yok eden maddelerdir (Erbaş ve ark., 2011; Kanbur,

2012). Antioksidanların en temel kaynağı olan fenoller ve flavonoidler, bitkilerde en fazla bulunan sekonder bileşenlerdir (Taşkın, 2015). Farklı radikal ve oksidanlara antioksidanların cevabı da farklı mekanizmalarla olduğundan antioksidan kapasiteyi ölçmenin tek bir yolu yoktur (Işık ve ark., 2015). Bu nedenle bu çalışmada *A. aleppica* subsp. *aleppica* bitkisinin fenol ve flavonoid içeriklerinin karşılaştırılabilmesi için, polaritesi yüksek bileşikler için metanol ve polaritesi daha düşük bileşikler için kloroform olmak üzere iki farklı çözücü ile ekstrakt hazırlanarak Folin-Ciocalteu ve AlCl<sub>3</sub> analizleri uygulanmıştır. Antioksidan aktiviteyi belirlemek için ise DPPH ve FRAP analizleri kullanılmış olup sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir. Ölçüm sonuçlarına göre *A. aleppica*

subsp. *aleppica* bitkisinin fenol miktarları çiçek ekstraktlarında 8.42 ile 38.49 mg/g; yaprak ekstraktlarında ise bu değerlerin 14.69 ile 34.01 mg/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Bitkinin flavonoid miktarlarının ise çiçek ekstraktlarında 4.54-14.04 mg/g, yaprak ekstraktlarında 5.84-9.57 mg/g arasında olduğu görülmüştür. Bu türün bu değerleriyle ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Antioksidan aktivite değeri ile DPPH analizi kullanılarak hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri arasında ters bir orantı olduğundan, bu değer düşük olması istenir (Çelik, 2009). Ekstraktlardaki IC<sub>50</sub> değerinin 0.7-33.37 mg/mL ve FRAP değerinin 14.48-48.31µg/g arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 3. Toplam fenolik ve flavonoid içerik ile antioksidan aktivite değerleri  
Table 3. Total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity values

		Ahırdağı		Sarıçukur	
		Çiçek Flower	Yaprak Leaf	Çiçek Flower	Yaprak Leaf
Fenol <i>Phenol</i> (mg GAE g)	Metanol <i>Metbanol</i>	38.49 ± 0.22	34.01 ± 0.10	20.21 ± 0.10	23.98 ± 0.18
	Kloroform <i>Chloroform</i>	9.56 ± 0.12	14.69 ± 0.29	8.42 ± 0.20	16.54 ± 0.10
Flavonoid <i>Flavonoid</i> (µg QE g)	Metanol <i>Metbanol</i>	14.04 ± 0,01	9.57 ± 0.06	10.35 ± 0.05	5.84 ± 0.04
	Kloroform <i>Chloroform</i>	6.07 ± 0.04	8.52 ± 0.08	4.54 ± 0.06	5.89 ± 0.14
IC50 değeri <i>IC50 value</i> (%DPPH) (mg mL)	Metanol <i>Metbanol</i>	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.08	1.16 ± 0.02	1.3 ± 0.09
	Kloroform <i>Chloroform</i>	15.17 ± 0.12	33.37 ± 1.11	9.41 ± 0.64	18.05 ± 0.56
FRAP <i>FRAP</i> (µg AAE g)	Metanol <i>Metbanol</i>	32.75 ± 0.51	22.10 ± 2.55	22.88 ± 0.57	14.48 ± 0.42
	Kloroform <i>Chloroform</i>	37.42 ± 0.83	48.31 ± 1.96	29.47 ± 0.16	39.98 ± 1.98

Barış ve ark. (2011) *Achillea* cinsine ait üç türün toprak üstü kısımlarını etanolla ekstrakte ederek antimikrobiyal ve antioksidan aktivite tayini yaptıkları çalışmalarında; IC<sub>50</sub> değerlerini *A. aleppica* subsp. *aleppica*, *A. aleppica* subsp. *zederbaueri* ve *A. Bibersteinii* bitkilerinde sırasıyla 33, 33, ve 32 µg/g olarak bulmuşlardır. Barış ve ark., (2011) ile kıyaslandığında, bu çalışmada elde

edilen değerler daha yüksek olduğu, dolayısıyla bu bitkinin daha güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Benedek ve ark. (2007) *Achillea*'nın 18 türüne ait metanol ve sulu ekstraktlardaki toplam flavonoid değerlerini 0.21-1.76 mg/g arasında bulmuşlardır ki, bu değerler bizim değerlerimize kıyasla oldukça düşük dolayısıyla antioksidan gücü de yüksektir.

Bali (2012), *Achillea teretifolia* Willd. türünün toprak üstü kısmını kullanarak iki farklı çözücüyle (su ve metanol) antioksidan analizi yapmıştır. Çalışmada IC<sub>50</sub> değerini metanol özütünde 42.3 µg/ml su özütünde ise 62.5 µg/ml olarak bulmuş olup, bu değerler bizim değerlerimizin altında bulunmaktadır. Fenolik içerik miktarını, metanol özütünde 55.60 µg/mg, su özütünde 34.45 µg/mg olarak elde etmiştir. Metanol ekstrakt değeri çalışmamıza kıyasla daha yüksek iken, su ekstrakt değeri daha düşüktür. Şabanoglu ve ark. (2019), metanolla ekstrakte ettikleri üç *Achillea* türüne ait (*A. biebersteinii*, *A. setacea*, *A. wilhelmsii*) çiçek, yaprak ve köklerinin toplam fenolik içerik ve IC<sub>50</sub> değerlerini incelemişlerdir. Çiçek ekstraktlarındaki fenolik içerik ve IC<sub>50</sub> değerlerini; *A. biebersteinii*'de sırasıyla 131.4 mg/g ve 0.67 mg/ml, *A. setacea*'de 121.2 mg/g ve 0.95 mg/ml ve *A. wilhelmsii*'de 119.4 mg/g ve 1.50 mg/ml olarak elde etmişlerdir. Yaprakta en yüksek fenolik içerik ve IC<sub>50</sub> değeri *A. biebersteinii* türünde sırasıyla 178.4 mg/g ve 0.38 mg/ml, kökte ise *A. setacea*'da 154.1 mg/g ve 0.497 mg/ml olarak bulmuşlardır. Araştırmacıların fenol değerleriyle kıyaslandığında metanol ve kloroform ekstrakt sonuçlarımız daha düşük iken, IC<sub>50</sub> değerinde ise metanol ekstrakt sonuçlarımız ile birbirine yakındır.

Feroli ve ark. (2013), aynı türe ait bitkilerin biyoaktif bileşenleri ve miktarlarının farklılık göstermesinin sebebinin lokalite, toprağın besin değeri, iklim, yükselti, nem ve sıcaklık gibi faktörlerden kaynaklandığını belirtmektedir. Çizelge 3.'te lokasyonlar arasındaki farklılıklar incelendiğinde Ahırdağı'ndan toplanan *A. aleppica* subsp. *aleppica* ekstraktlarından elde edilen fenol, flavonoid ve antioksidan aktivite değerlerinin, Sarıçukur'dan toplanan bitki örneklerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Çözücüler kıyaslandığında ise, genel olarak metanol kloroforma göre, FRAP testinde ise kloroform metanole göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Metanolla hazırlanan ekstraktlarda çiçek ekstraktları yaprak ekstraktlarına göre daha iyi sonuçlar verirken, kloroform ekstraktlarında tam tersi bir durum söz konusudur. Ahırdağı lokasyonundan toplanan bitkilerin Sarıçukur lokasyonuna nazaran biyoaktivitesinin yüksek olduğu ve çözücüler açısından da metanolün

kloroforma göre daha etkili bir çözücü olduğu görülmüştür. Polarite değerleri farklı olduğundan çözücülerde çözünen madde çeşitliliği ve miktarları da farklı olabilmektedir.

#### **Antimikrobiyal Aktiviteye ait Sonuçlar**

Farklı lokasyonlarda yetişen *A. aleppica* subsp. *aleppica* örneklerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildiğinde, çalışılan bitki organına (çiçek ve yaprak) göre çözücülerin önemli bir farklılık oluşturduğu gözlemlenmiştir. Petride yapılan testlere bakıldığında, Sarıçukur lokasyonuna ait bitki ekstraktlarının test mikroorganizmaları arasında daha geniş bir spektrum ile antimikrobiyal etkinlik göstermiştir (Çizelge 4 ve 5). Kullanılan çözücülerden metanol kloroforma nazaran Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler ile mayalara karşı biyoaktif ajanların ekstraksiyonunda daha etkili olduğu test edilmiştir. Her iki lokasyon bitkilerinden elde edilen antimikrobiyal etkinlik hem yaprak hem de çiçek ekstraktlarında gözlenmesine rağmen çiçek ekstraktları daha yüksek bir etki ürettiği tespit edilmiştir.

Klinik izolatlar içerisinde en yüksek antimikrobiyal etki, Gram pozitif olan MRSA ve Gram negatif olan *K. pneumonia*'a karşı elde edilmiştir. Bu etki hastane enfeksiyonlarının problem organizmalarından biri olan MRSA için önemli bir sonuçtur. Ahırdağı lokasyonundan elde edilen metanolik ekstraktın, *C. albicans* ve *C. parapsilosis* organizmaları üzerine etki göstermezken, Ahırdağı lokasyonu bitkisinin kloroform ekstraktı ile Sarıçukur lokasyonu bitkisinin hem metanol hem de kloroform ekstraktı *C. parapsilosis*'e karşı bir antifungal etki üretmiştir. Bitkisel ekstraktlarda gözlenen antimikrobiyal etkiler flavonoid, polifenolik bileşikler, taninler ve terpenler gibi çok sayıda fitokimyasal maddenin sebep olduğu bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Mojab ve ark., 2008). Yapılan ölçümler de *A. aleppica* subsp. *aleppica* yüksek oranlardaki fenol ve flavonoid içeriklerinin antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olmaları muhtemeldir.

Çizelge 4. *A. aleppica* subsp. *aleppica* ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri  
Table 4. Antimicrobial activity of extracts of *A. aleppica* subsp. *aleppica*

Organizma <i>Organism</i>	Ahırdağı				Sarıçukur				Kontrol	
	Metanol <i>Methanol</i>		Kloroform <i>Chloroform</i>		Metanol <i>Methanol</i>		Kloroform <i>Chloroform</i>		Cxm	Nys
	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>		
<i>E.coli</i> *	16	15	11	10	15	15	10	11	0	TE
<i>K. pneumonia</i> *	17	16	20	18	19	15	19	21	13	TE
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0	0	11	12	18	19	10	10	0	TE
MRSA*	25	23	13	10	25	22	12	10	23	TE
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0	0	0	0	0	0	0	0	0	TE
<i>S. lutea</i> ATCC 9341NA	0	0	0	0	0	0	0	0	50	TE
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0	0	0	0	11	8	0	0	30	TE
<i>E. faecium</i> *	6	5	11	11	11	9	12	11	0	TE
<i>C. albicans</i> *	0	0	0	0	0	0	0	0	TE	18
<i>C. parapsilosis</i> *	0	0	15	15	15	8	13	13	TE	18

AK: Antibiyotik Kontrol (Antibiotic control); Cxm: Cefuroxime sodium (30µg)-Oxoid; Nys: Nystatine 100U; TE: Test edilmedi; \* : Klinik izolat (Clinical isolate)

Çizelge 5. *A. aleppica* subsp. *aleppica* ekstraktlarının MİK değerleri (mg/ml)  
Table 5. MIC values of extracts of *A. aleppica* subsp. *aleppica* (mg/ml)

Organizma <i>Organism</i>	Ahırdağı				Sarıçukur			
	Metanol <i>Methanol</i>		Kloroform <i>Chloroform</i>		Metanol <i>Methanol</i>		Kloroform <i>Chloroform</i>	
	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>	Çiçek <i>Flower</i>	Yaprak <i>Leaf</i>
<i>E.coli</i> *	2	2	2	2	2	4	4	2
<i>K. pneumonia</i> *	2	2	4	4	1	2	4	4
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	2	4	1	2	1	2	2	1
MRSA*	4	2	4	2	2	2	2	2
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1	2	1	1	1	2	2	1
<i>S. lutea</i> ATCC 9341NA	2	2	2	2	1	2	4	2
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	2	2	2	2	2	2	4	4
<i>E. faecium</i> *	2	4	4	2	2	4	2	2
<i>C. albicans</i> *	2	2	2	2	2	2	1	2
<i>C. parapsilosis</i> *	1	1	2	2	1	2	2	4

\* : Klinik izolat (Clinical isolate)

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

NÇ, araştırmanın planlanması, yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. AA, antimikrobiyal analizlerin takibi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. YZK bitki örneklerinin temin edilmesi ve bitki teşhisinin yapılmasını sağlamıştır. SÇ, SÇ ve FD ise laboratuvar çalışmalarının yürütülmesi ve takibini sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

## KAYNAKLAR

Abak, F., Akan, H. (2014). The flora of Asteraceae family in Şanlıurfa/Turkey. *Biological Diversity and Conservation. Academic Food Journal*,7(1): 68-78.

Akcin, A., Aytas, Akcin, T., Seyis, F., Coban, A.Y., Durupinar, B. (2014). Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil of the Turkish Endemic Species *Achillea phrygia* Boiss. & Bal. *J Essent Oil Bear Plants*, 17(2): 219-227.

Aydın, Ç., Mammadov, R. (2017). İnsektisit Aktivite Gösteren Bitkisel Sekonder Metabolitler ve Etki Mekanizması. *J Res Pharm*, 21: 30-37.

Bali, E.B. (2012). *Achillea teretifolia* Willd. Özütlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Barış, D., Kızıl, M., Aytekin, Ç., Kızıl, G., Yavuz, M., Çeken, B., Ertekin, A.S. (2011). In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Three *Hypericum* and Three *Achillea* Species From Turkey. *Int J Food Prop.*, 14(2): 339-355.

Baser, K.H.C., Demirci B., Demirci, F., Kocak, S., Akinci, C., Malyer, H., Guleryuz, G. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multijida*. *Planta Medica*, 68 (10): 941-943.

Benedek, B., Gjoncaj, N., Saukel, J., Kopp, B. (2007). Distribution of phenolic compounds in

Middle European taxa of the *Achillea millefolium* L. aggregate. *Chem&Biodivers*, 4(5): 849-857.

Benzie, I. F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239(1): 70-76.

Blainski, A., Lopes, G.C., De Mello, J.C.P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. 18: 6852-6865.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28(1): 25-30.

Çağlar, A., Tomar, O., Ekiz, T. (2017). Bütirik Asit: Yapısı, Özellikleri Ve Sağlık Üzerine Etkileri. *KVJ*, 10(3):213-225.

Çakıcı, A.V. (2014). Bingöl ilinde yetişen bazı *Achillea* L. (Asteraceae) taksonlarının uçucu yağ kompozisyonlarının araştırılması. Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bingöl.

Çakmakçı, S., Tahmas-Kahyaoglu, D. (2012). Yağ Asitlerinin Sağlık ve Beslenme Üzerine Etkilerine Genel Bir Bakış. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 10(1): 103-113.

Çelik, E., Çelik, G.Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab Online Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2): 1-6.

Çelik, F. (2009). *Kızılağın (Cornus mas L.) ekstraksiyonu ve antioksidan bileşenlerinin belirlenmesi*. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.

Çetin, H. (2013). Bazı *Achillea* Türleri Uçucu Yağlarının Kimyasal Bileşimlerinin ve Eser Elementlerinin Tayini. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal*, 10(3): 178-182.

- Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. (1989). Collins and Lyne's Microbiological Methods, Sixth Edition, Butterworths Co. Ltd. London.
- Comlekcioglu, N. (2019). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Leaves of Endemic and Native *Isatis* spp in Turkey. *Braz Arch Biol Technol*, 62: 1-13.
- Davis, P.H. (ed). (1965). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press.
- Dias, M.I., Barros, L., Dueñas, M., Pereira, E., Carvalho, A.M., Alves, R.C., ... Ferreira, I.C. (2013). Chemical Composition of Wild and Commercial *Achillea millefolium* L. and Bioactivity of The Methanolic Extract, Infusion and Decoction. *Food Chem*, 141(4): 4152-4160.
- Duru, S., Konuşkan, D.B. (2014). Bitkisel Yağlarda Oleik Asit Miktarının Arttırılması ve Yağ Kalitesi Üzerine Etkileri. *GIDA*, 39(6):1-7.
- Dwidar, M., Park, J.Y., Mitchell, R. J., Sang, B.I. (2012). The future of butyric acid in industry. *TSWJ*, Article ID 471417.
- Erbaş, M., Şekerci, H. (2011). Serbest Radikallerin Önemi ve Gıda İşleme Sırasında Oluşumu. *GIDA*, 36(6): 367-374.
- Ertaş, A., Boşa, M., Haşimi, N., Yeşil, Y., Gören, A. C., Topçu, G. and Kolak, U. (2014). Antioxidant, Anticholinesterase, and Antimicrobial Activities and Fatty Acid Constituents of *Achillea cappadocica* Hausskn. et Bornm. *Turk J Chem*, 38: 592-599.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniv Orman Fak. Derg*, 11(1): 52-67.
- Feroli, F., Giambanelli, E., D'Antuono, L. F., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Silva, A. S., ... Koçoğlu, B. (2013). Comparison of Leafy Kale Populations from Italy, Portugal, and Turkey for Their Bioactive Compound Content: Phenolics, Glucosinolates, Carotenoids, and Chlorophylls. *J Sci Food Agric*, 93(14): 3478-3489.
- Hatipoğlu, G. (2010). *Achillea biserrata* ve *Hyssopus officinalis* türlerinin antioksidan aktiviteleri ve fenolik bileşen analizleri. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon.
- Kanbur, H. (2012). *Teucrium chamaedrys* L. ve *Achillea biebersteinii* Afan. Bitkilerinin Antioksidan Aktivitelerinin Mukayesesi. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzincan.
- Karaalp, C., Yurtman, A.N., Karabay Yavasoglu, N.U. (2009). Evaluation of antimicrobial properties of *Achillea* L. flower head extracts. *Pharm Biol*, 47(1): 86-91.
- Kesdek, M., Bayrak, N., Kordali, S., Usanmaz, A., Contuk, G., Ercisli, S.(2013). Larvicidal Effects of some Essential Oils against Larvae of the Pine Processionary Moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Egypt J Biol Pest Control*, 23(2): 201-207.
- Küçükbay F.Z., Kuyumcu, E., Bilenler, T., and Yıldız, B. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea cretica* L. (Asteraceae) from Turkey. *Nat Prod Res*, 26(18): 1668-1675.
- Maswadeh, H.M., Semreen, M. H., Naddaf, A.R. (2006). Anti-inflammatory activity of *Achillea* and *Ruscus* topical gel on carrageenan-induced paw edema in rats. *Acta Pol Pharm*, 63(4): 277-280.
- Mojab, F., Poursaeed, M., Mehrgan, H., Pakdaman, S. (2008). Antibacterial activity of *Thymus daenensis* methanolic extract. *Pak J Pharm Sci*, 21(10): 210-213.
- Nickavar, B., Kamalinejad, M., Haj-Yahya, M., Shafaghi, B. (2006). Comparison of the free radical scavenging activity of six Iranian *Achillea* species. *Pharm Biol*, 44(3): 208-212.
- Orav, A., Kailas, T., Ivask, K. (2001) Composition of the essential oil from *Achillea millefolium* from Estonia, *J Essent Oil Res*, 13(4): 290-294.
- Özçelik, H., Muca, B. (2010). Habitat Characteristics and Distributions in Turkey of species belonging to Genus *Ankyropetalum* Fenzl (Caryophyllaceae). *J Biol Sci Res*, 3(2): 47-56.
- Pino, A.J., Rosado, A., Fuentes, V. (1998), Chemical composition of the leaf oil of

- Achillea millefolium* L. grown in Cuba. *J Essent Oil Res*, 10(4): 427-428.
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Shariatpanahi, M.S., Jassbi, A., Masoudi, S. (1998). Comparative study of the essential oils of three *Achillea* species from Iran. *J Essent Oil Res*, 10(2): 207-209.
- Serdar, G., Sökmen, M., Demir, E., Sökmen, A., & Bektaş, E. (2015). Extraction of antioxidative principles of *Achillea biserrata* M. Bieb. and chromatographic analyses. *Int J Second Metab*, 2(2): 3-15.
- Sokmen, A., Vardar-Unlu G., Polissiou, M., Daferera, D., Sokmen, M., Donmez, E. (2003). Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (*Asteraceae*). *Phytother Res*, 17(9): 1005-1010.
- Şabanoğlu, S., Gökbulut, A., Altun, M.L. (2019). Characterization of Phenolic Compounds, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Three *Achillea* Species. *J Res Pharm*, 23(3): 567-576.
- Şenkardeş, İ., Bulut, G., Doğan, A., Tuzlacı, E. (2019). An Ethnobotanical Analysis on Wild Edible Plants of the Turkish Asteraceae Taxa. *Agric Conspec Sci*, 84(1): 17-28.
- Tabanca, N., Demirci, B., Gürbüz, İ., Demirci, F., Becnel, J.J. (2011). Essential oil composition of five collection of *Achillea biebersteinii* from Central Turkey and their antifungal and insecticidal activity. *Nat Prod Commun*, 6 (5): 701-706.
- Taşar, N., Kıran, Y., Doğan, G. (2017). *Cyanus depressus* (M. Bieb.) Sojak Türünün Karyolojik ve Palinolojik Yönden İncelenmesi. *DÜBİTED*, 5(1): 299-305.
- Taşkın, D. (2015). *Achillea grandifolia* Friv. Bitkisinin İçerdiği Flavonoidlerin Saptanması ve Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi), İstanbul.
- Taşkın, T., Taşkın, D., Rayaman, E., Dikpınar, T., Süzgeç-Selçuk, S., Arabacı, T. (2018). Characterization of the biological activity and phenolics in *Achillea lycanica*. *Anal Lett*, 51: 33-48.
- Tekeli, Y. (2008). Konya Bölgesindeki Bazı *Centaurea* Türlerinin Bazı Kimyasal ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.
- Yılmaz, M.A. (2015). Bazı *Achillea* L. Türlerinin LCMS-IT/TOF ve LC-MS/MS ile Metabolik Profillerinin Çıkarılması ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Diyarbakır.
- Zonuz, N. (2016). Bazı *Achillea* L. (*Asteraceae*) Türlerine Ait Tohumlarda Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

## GELENEKSEL YÖNTEMLE ÜRETİLEN OTLU PEYNİRLERİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN VE BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Sümeyya Kara, Şenol Köse\*

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Van, Türkiye

Geliş / Received: 04.05.2020; Kabul / Accepted: 05.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Kara, S., Köse, Ş. (2020). Geleneksel yöntemle üretilen otlu peynirlerin bazı kalite özelliklerinin ve biyoaktivitesinin belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(5) 942-953 doi: 10.15237/gida.GD20063.

Kara, S., Köse, Ş. (2020). Determination of some quality parameters and bioactivity of herby cheese produced by traditional method. *GIDA* (2020) 45(5) 942-953 doi: 10.15237/gida.GD20063.

### ÖZ

Bu çalışmada, Van ilinde yerel üreticilerden temin edilen salamura ve basma yöntemleriyle olgunlaştırılmış Otlu peynirlerin kimyasal içeriği ve bu peynirlerin suda çözünür ekstraktlarının biyokimyasal özellikleri, toplam fenolik madde (TFM) içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Salamura yöntemiyle olgunlaştırılmış 15 adet Otlu peynirde ortalama suda çözünen azot (SÇN) %16.11±3.72, %12 trikloroasetik asitte (TCA) çözünen azot %13.05±6.20, %5 fosfotungustik asitte (PTA) çözünen azot %7.93±2.75, lipoliz 13.39±6.11 ADV, toplam fenolik madde 647.72±259.80 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg, 2,2-difenil-1-pikrilihidrazil (DPPH) inhibisyonu %6.58±2.36 ve troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAK) 1.51±0.51 mmol troloks eşdeğeri (TE)/g olarak bulunmuştur. Basma yöntemiyle olgunlaştırılmış 15 adet Otlu peynirde SÇN %16.48±3.98, %12 TCA' da çözünen azot %17.34±3.31, %5 PTA' da çözünen azot %8.40±4.12, lipoliz 9.81±5.58 ADV, TFM 742.81±110.60 mg GAE/kg, DPPH inhibisyonu %8.35±2.31 ve TEAK 1.62±0.56 mmol TE/g olarak saptanmıştır. Ayrıca Otlu peynir ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11303'e karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Otlu peynir, kalite özellikleri, biyoaktivite

### DETERMINATION OF SOME QUALITY PARAMETERS AND BIOACTIVITY OF HERBY CHEESE PRODUCED BY TRADITIONAL METHOD

#### ABSTRACT

In this study, the chemical content of herby cheeses ripened with pickled and pressing methods obtained from local producers in Van province and the biochemical properties, total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of the water soluble extracts of these cheeses were determined. The following average values were found for ripened 15 Herby cheeses by pickled method; water soluble nitrogen (WSN) 16.11±3.72%, 12% trichloroacetic acid (TCA) soluble nitrogen 13.05±6.20%, 5% phosphotungustic acid (PTA) soluble nitrogen 7.93±2.75%, lipolysis 13.39±6.11 ADV, total phenolic content (TPC) 647.72±259.80 mg gallic acid equivalent (GAE)/kg, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) inhibition 6.58± 2.36%, trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 1.51±0.51 mmol trolox equivalent (TE)/g. The following average values were found for

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: senolkose28@gmail.com

☎:(+90) 432 225 1024

☎:(+90) 432 225 1730

Sümeyya Kara; ORCID no: 0000-0002-2979-4559

Şenol Köse; ORCID no: 0000-0003-0599-6030



ripened 15 Herby cheeses by pressing method; WSN  $16.48 \pm 3.98\%$ , 12% TCA soluble nitrogen  $17.34 \pm 3.31\%$ , 5% PTA soluble nitrogen  $8.40 \pm 4.12\%$ , lipolysis  $9.81 \pm 5.58$  ADV, TPC  $742.81 \pm 110.60$  mg GAE/kg, DPPH inhibition  $8.35 \pm 2.31\%$ , TEAC  $1.62 \pm 0.56$  mmol (TE)/g. Also, it was determined that Herby cheese extracts no antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 11303.

**Keywords:** Herby cheese, quality properties, bioactivity

### GİRİŞ

Otlu peynir, ülkemizin daha çok Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde üretilen ve hem üretildiği bölgelerde hem de diğer bölgelerde sevilerek tüketilen bir peynir çeşidimizdir. Fakat daha yoğun bir şekilde Van'da üretilmesi ve yörenin Otlu peynire katılan otlar açısından zengin olması, dolayısıyla Van'da üretilen Otlu peynirin daha aromatik ve hoşça giden yanının bulunması, peynirin "Van Otlu peyniri" olarak adlandırılmasına da neden olmuştur (Ocak ve Köse, 2015).

Geleneksel bir peynir çeşidimiz olan Van Otlu peyniri, üretim şekli bakımından Beyaz peynire benzemektedir fakat katılan endemik otlar açısından farklılık arz etmektedir. Kışın uzun sürmesi nedeniyle bitkisel gıdalardan uzak kalan yöre halkının, vitamin eksikliğinden ileri gelebilecek beslenme yetersizliklerini bir ölçüde önlemede peynire katılan otların etkisi olabileceği ileri sürülmüştür (Kurt, 1968). Ayrıca otların peynire özel bir tat ve aroma kattığı, peynirin besin değeri ve sindirilme derecesiyle depolama süresinin bu otlar sayesinde arttırıldığı bilinmektedir (Coşkun, 2005).

Geleneksel Otlu peynir üretiminde daha ziyade koyun sütü kullanılmaktadır. Bazen koyun sütüne inek ve keçi sütleri de karıştırılmaktadır (Coşkun, 2005; Tunçtürk vd., 2014). Geleneksel yöntemde sütler çiğ olarak  $30^{\circ}\text{C}$  civarında mayalanmakta ve mayalama sıcaklığı elle tespit edilmektedir. Yaklaşık 80 litre süte 100 mL olacak şekilde, önceden geleneksel şekilde hazırlanmış mayadan ilave edilerek 1-2 saat pıhtılaşması için beklenilmektedir. Pıhtılaşma gerçekleşikten sonra pıhtı bez torbaya alınmakta ve bu esnada özel hazırlanmış otlardan ilave edilmektedir. Pıhtı ve ot karışımı üzerine baskı konularak 3-4 saat süzme işlemi gerçekleştirilmektedir. Süzme işlemi ile elde edilen teleme 2-3 cm kalınlığında ve el büyüklüğünde dilimler haline getirilmektedir.

Elde edilen peynir dilimleri salamurada veya kuru tuzlama olmak üzere iki şekilde tuzlanmaktadır (Kurt ve Akyüz, 1984; Coşkun, 2005).

Salamura tuzlamada, peynir dilimleri salamura suyunda bir müddet bekletilerek teneke ya da plastik kaplara yerleştirilmektedir. Kaplar daha sonra serin bir yere konarak sonbahara kadar olgunlaştırılmaya bırakılmaktadır (Coşkun, 2005). Kuru tuzlamanın yapılışında, dilimler üzerine göz kararı iri mutfak tuzu serpilme ve bu haliyle 3-4 gün kadar bekletilmektedir. Sonra dilimler bol su ile iyice yıkanarak bir kat peynir bir kat cacık olacak şekilde plastik kaplara ya da toprak küplere konulmaktadır. Peynirler kaplara doldurulurken hiç boşluk kalmamasına dikkat edilmekte ve sıkıca yerleştirilmektedir. Doldurma işi bitince kapların ağzına üzüm yaprağı konmakta ve çamurla sıvanmaktadır. Kabin ağzı aşağı gelecek şekilde genelde toprak altına konmakta ve üzeri gevşek bir toprakla veya kumla örtülmektedir. Peynir kabının topraktaki bu pozisyonu peynirdeki nem kaybını hızlandırmaktadır. Peynirler bu şekilde 2-3 ay olgunlaşmaya bırakılmakta ve olgunlaşma tamamlandıktan sonra tüketime hazır hale gelmektedir. Bir kısım Otlu peynirler taze iken satılmakta, alıcı peyniri kendi arzusuna göre küpe doldurup olgunlaştırmaktadır (Kurt ve Akyüz, 1984). Bazı üreticiler peynirlerin küplere doldurulması esnasında çökelek kullanmamakta, bunun yerine peynir dilimlerinin dış yüzeylerine sarımsaklı yoğurt sürmekte ve bu şekilde kaplara sıkıca doldurmaktadır. Basma işleminde ayrıca peynir kırıntıları ve lor da kullanılmaktadır (Coşkun, 2005).

Otlu peynirin küplere doldurulması sırasında cacık adı verilen, özel olarak bu iş için hazırlanan çökelek kullanılmaktadır. Cacık yapımında; bir miktar süt süzülüp kaynatıldıktan sonra yaklaşık  $30^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulmaktadır. İçerisine 20 litre süt için 1 kaşık yoğurt ilave edilip 1-2 gün mayalanmaya bırakılmaktadır. Yayıkılarak yağı alınan

yoğurttan arta kalan ayran bir kazanda 5-10 dakika kaynatıldıktan sonra ocaktan indirilmekte ve proteinlerin çökmesi beklenmektedir. Üstte biriken yeşilimtırak su alınmakta, bir süzme beziyle süzülmekte ve sonra üzerine ağırlık konularak iyice suyun uzaklaşması sağlanmaktadır. Bu işlem 2 gün sürmektedir. Oluşan çökelek tuzlanmakta, önceden hazırlanmış otlar ilave edilerek tekrar torbaya konularak süzülmektedir. Cacıkta kullanılan ot miktarı 0.8-11.3 g ot/100 g cacık arasında değişmekle birlikte ortalama düzeyi 6 g ot/100 g cacık oranındadır (Çakmakçı, 2011).

Son yıllarda piyasadan temin edilen Otlu peynir örnekleri üzerine yapılan araştırmalarda daha çok rutin bazı fiziksel ve kimyasal özellikler ile mikrobiyolojik yönden Otlu peynir örnekleri değerlendirilmiştir (Eralp, 1953; Kurt, 1968; Kurt ve Akyüz, 1984; Sancak, 1989; Sancak vd., 1993; Sönmezsoy, 1994; İşleyici, 1999; Coşkun ve Tunçtürk, 2000; Tarakçı vd., 2005; Tarakçı ve Küçüköner, 2006; ; İşleyici ve Akyüz, 2009; Özrenk vd., 2009; Andiç vd., 2010; Ocak ve Köse, 2010; Tarakçı vd., 2011; Kavaz vd., 2013; Tunçtürk vd., 2014; Ocak vd., 2014; Andiç vd., 2015; Ocak ve Köse, 2018; Köse ve Ocak, 2019). Ayrıca Otlu peynir üretiminde kullanılan otların antioksidan özellikleri DPPH, CUPRAC, ABTS/persulfate, FRAP ve Folin metotları kullanılarak belirlenmiştir (Çelik vd., 2008; Köse ve Ocak, 2018). Yine otların antimikrobiyal özellikleri çeşitli çalışmalarla saptanmıştır (Ağaoğlu vd., 2005; Sağun vd., 2006; Durmaz vd., 2006; Dağdelen, 2010; Köse, 2015; Köse ve Ocak, 2018). Otlu peynire katılan önemli otların antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri üzerine çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen, Otlu peynirin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri üzerine sadece bir çalışmaya (Köse, 2015) rastlanmıştır. Geleneksel yöntemlerle üretilen Otlu peynirler üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde ise peynirlerin biyoaktivitesini belirlemeye yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, yapılan bu çalışmayla farklı sütlerden farklı otlar kullanılarak geleneksel yöntemlerle üretilen Otlu peynirlerin suda çözünebilir ekstraktlarının antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *Materyal*

Araştırma materyali olarak Van'ın Tuşba, İpekyolu ve Edremit ilçelerinde bulunan yerel üreticilerden 15 adet salamura, 15 adet basma yöntemiyle olgunlaştırılmış Van Otlu peyniri temin edilmiştir. 2018 yılının Kasım ayında toplanan peynirler cam kavanozlara alınarak laboratuvara getirilmiş ve analiz edileceye kadar  $4\pm 1$  °C' de muhafaza edilmiştir.

## YÖNTEM

### *Kimyasal ve biyokimyasal analizler*

Otlu peynir örneklerinde kurumadde, titrasyon asitliği (% laktik asit cinsinden) ve toplam protein oranı AOAC (1990)'ye, yağ tayini Case vd. (1985)'ne, tuz ve kül tayini Kurt vd. (2003)'ne göre belirlenmiştir. pH tayini; pH metrenin (Hanna Instrument pH 211; Microprocessor pH meter, Germany) 1:1 sulandırılmış peynir örneğine doğrudan daldırılmasıyla ile yapılmıştır (Kosikowski, 1982).

Suda çözünen azot oranı (WSN), % 12 Trikloroasetik asitte çözünen azot oranı (TCA-SN) ve % 5 Fosfotungustik asitte çözünen azot oranının (PTA-SN) belirlenmesinde Bütikofer vd. (1993)'nin bildirdikleri metot kullanılmıştır. Lipoliz oranı ise ADV (Acid Degree Value) cinsinden IDF (1991)' nin bildirdiği yöntemle saptanmıştır.

### *Toplam fenolik madde, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite tayini için suda çözünen ekstraktların hazırlanması*

Suda çözünebilir ekstraktların hazırlanması Kuchroo ve Fox (1982) tarafından tanımlanan metodun modifiye edilmesiyle yapılmıştır. Bu amaçla; alınan peynir örneği ağırlığının (10 g) 2 katı kadar deiyonize su (20 ml) ile birlikte 10 dakika boyunca ve 20 °C' de bir Stomacher (Mayo, homogenius) içinde homojen hale getirilmiştir. Elde edilen karışım su banyosunda 40 °C' de bir saat tutulduktan sonra 4 °C' de 10000 g'de 20 dk. boyunca santifriji edilmiştir. Üstte biriken yağ fazı spatül ile uzaklaştırılmış ve elde edilen süpernatantlar 0,45 µm çaplı membran filtreden geçirilmiştir. Bu ekstraktlarda toplam fenolik madde, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır.

### **Toplam fenolik madde tayini**

Toplam fenolik madde miktarı suda çözünen ekstraktlarda Folin & Ciocalteu's yönteminde bildirilen esaslara göre yapılmıştır. Bu amaçla deney tüplerine 150 µL örnek ve 3 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (%2) konulmuştur. Yaklaşık 2 dk. sonra tüplere, ultra saf su ile 1:1 oranında seyreltilerek Folin-Ciocalteu's belirtecinden 150 µL eklenmiştir. Bu karışım vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra karanlık bir yerde ve oda sıcaklığında 45 dk. bekletilmiştir. Bu süre sonunda spektrofotometrede 765 nm' de (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan) okuma yapılmıştır. Toplam fenolik madde konsantrasyonu gallik asit ile oluşturulan kalibrasyon grafiğinden hesaplanarak, gallik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (Bae ve Suh, 2007).

### **Antioksidan aktivite tayini**

#### **DPPH testi**

DPPH radikal süpürme gücü Brand-Williams vd. (1995)'nin uyguladığı yöntemle yapılmıştır. DPPH çözeltisi (25 mg DPPH/L metanol) günlük olarak hazırlanmış ve çözeltinin absorbansı 520 nm'de  $0.700 \pm 0.020$  olacak şekilde seyreltilmiştir. Suda çözünen ekstraktlardan 100 µL tüplere konulmuş ve üzerlerine 2.4 ml DPPH çözeltisi eklenmiştir. 30 dk. karanlıkta bekletilen örneklerin absorbansı çift ışın yollu UV-VIS spektrofotometrede (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan) 520 nm'de okunmuştur. Örneklerin antiradikal aktivitesi % inhibisyon cinsinden ifade edilmiştir.

#### **TEAK testi**

TEAK değerinin belirlenmesi için önce 2.45 mM potasyumpersülfat içeren 7 mM ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda en az 12-16 saat bekletilerek ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan radikal çözeltisi 2-3 gün sabit kalabilmektedir. Bu radikal çözelti hazırlandıktan sonra %80' lik etanol kullanılarak 734 nm'de  $0.700 \pm 0.2$  absorbans verecek şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilen radikal çözeltisinden 2.97 ml bir deney tüpüne alınmış olup üzerine suda çözünen ekstraktlardan 30 µL eklenerek, vorteks yardımıyla hızlıca karıştırılmış ve 6 dk. sonunda

spektrofotometrede (UV Mini-1240, Shimadzu, Japan) 734 nm' de okuma yapılmıştır. Aynı işlemler troluks için de yapılarak antioksidan aktivite değeri mmol/g troluks eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (Kırca ve Özkan, 2007).

### **Antimikrobiyal aktivite tayini**

Antimikrobiyal aktivite testinde *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 11303 bakterileri için Müeller Hinton Agar (Oxoid) kullanılmıştır. Bakterilerin aktivasyonu için ise, bakteri suşları Mueller Hinton Broth (Oxoid)' a aşılansak  $37 \pm 0.1$  °C' de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir (Bağcı ve Dığrak, 1996). Daha sonra, 18-24 saatlik taze bakteri kültürlerinden bir öze dolusu bakteri kolonisi steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içinde süspanse edilerek bakteri süspanسیونlarının yoğunluğu 0.5 Mc Farland standardına göre ayarlanmıştır. Ayarlanan bakteri süspanسیونlarından 100 µL alınarak Drigalski özesiyle petrilere yayılmıştır. Steril 10 mL'lik pipet yardımıyla besiyerlerinin belirli noktalarına 5 mm çapında kuyular açılarak bu kuyulara 100 µL suda çözünen Otlu peynir ekstraktlarından konulmuştur. Bu şekilde hazırlanan petri kutuları 4 °C'de 2 saat bekletildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları dijital kumpas yardımıyla ölçülerek mm olarak değerlendirilmiştir (Perez ve ark., 1990). Çalışmalar iki paralel olarak yürütülmüş olup pozitif kontrol olarak standart antibiyotik diskleri (10µg ampicillin ve 30µg tetracycline) karşılaştırma yapmak amacıyla kullanılmıştır.

### **BULGULAR ve TARTIŞMA**

Geleneksel yöntemlerle farklı üreticiler tarafından üretilmiş Otlu peynir örneklerine ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Salamura yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynir örneklerinin ortalama % kurumadde 51.94, % yağ 24.88, % kül 8.43, pH 5.10, % l.a 1.41, % tuz 6.12 ve % protein 17.24 olarak tespit edilirken, basma yöntemiyle olgunlaştırılmış Otlu peynir örneklerinin ortalama % kurumadde 54.76, % yağ 25.85, % kül 7.86, pH 4.94, % l.a 2.22, % tuz 10.89 ve % protein 19.69 olarak saptanmıştır. Elde edilen bulgular literatür ile karşılaştırıldığında, Emirmustafaoğlu ve Coşkun (2012)'un Otlu

peynirlerde belirlemiş olduğu % kurumadde, % protein ve % yağ değerlerine yakın, pH, % la ve

% tuz değerlerinden ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Otlu peynir örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

Table 1. The results of chemical analysis of Herby cheese samples

Örnek No/ Sample No	Km%/ DM %	Yağ%/ Fat %	Kül%/ Ash%	pH/ pH	Asitlik%/ Acidity	Tuz%/ Salt%	Protein%/ Protein%
S1	52.27	22.75	11.12	5.25	1.75	8.66	16.70
S2	51.33	24.50	5.26	5.17	1.28	4.45	17.83
S3	45.83	20.00	8.84	5.22	0.34	5.50	16.96
S4	52.27	23.50	12.28	5.56	0.70	9.01	16.24
S5	50.28	25.50	6.43	5.24	1.39	6.35	17.42
S6	55.18	30.00	6.08	4.50	1.44	5.70	18.63
S7	53.29	25.75	6.84	4.90	2.19	5.03	18.50
S8	57.72	26.50	6.88	4.54	2.23	5.47	19.06
S9	50.11	25.25	8.13	4.67	2.93	5.32	19.05
S10	51.62	24.25	9.24	4.98	2.29	6.64	15.20
S11	51.36	23.75	9.14	4.94	0.90	5.97	17.37
S12	55.54	25.50	11.92	5.55	0.95	7.97	15.51
S13	47.70	24.00	6.56	5.44	1.13	3.79	17.50
S14	54.37	25.50	11.11	5.35	0.81	7.40	16.43
S15	50.29	26.50	6.70	5.30	0.86	4.64	16.23
En düşük/ Minimum	47.70	20.00	5.26	4.50	0.70	3.79	15.20
En yüksek/ Maximum	57.72	30.00	12.28	5.56	2.93	8.66	19.06
Ortalama±S.S/ Mean±S.D	51.94±3.04	24.88±2.18	8.43±2.30	5.10±0.34	1.41±0.73	6.12±1.55	17.24±1.22
B1	52.03	27.25	6.33	4.94	2.23	15.94	19.28
B2	58.17	27.50	6.39	4.28	1.93	6.03	18.41
B3	57.63	29.25	6.86	4.97	2.24	14.04	21.88
B4	51.23	23.50	7.29	4.96	2.23	19.66	21.98
B5	52.41	24.50	6.14	4.68	2.11	7.90	19.56
B6	57.74	26.75	11.74	5.38	2.42	9.89	18.50
B7	55.44	28.25	5.76	5.12	2.30	8.19	19.13
B8	55.90	26.75	6.40	4.69	2.11	10.06	19.38
B9	52.13	24.25	12.51	5.54	2.50	9.48	15.04
B10	51.20	21.75	11.61	5.36	2.41	12.67	17.55
B11	55.43	26.75	8.34	5.15	2.32	12.58	22.32
B12	55.69	25.50	8.48	4.91	2.21	15.94	20.05
B13	51.85	21.25	7.07	4.93	2.22	7.58	20.88
B14	54.00	25.75	5.32	4.48	2.02	4.24	19.79
B15	60.59	28.75	7.76	4.77	2.15	9.27	21.67
En düşük/ Minimum	51.20	21.25	5.32	4.28	1.93	4.24	15.04
En yüksek/ Maximum	60.59	28.75	12.51	5.54	2.42	14.04	22.32
Ortalama±S.S/ Mean±S.D	54.76±2.93	25.85±2.40	7.86±2.30	4.94±0.34	2.22±0.15	10.89±4.18	19.69±1.93

S:Salamura yöntemi ile olgunlaştırılan peynir örneği/S: Sample of cheese ripened by pickled method, B:Basma yöntemiyle olgunlaştırılan peynir örneği/ B: Sample of cheese ripened by pressing method, S.S.:Standart sapma/S.D: Standart deviation

Salamurada muhafaza edilen Otlu peynirlerin ortalama lipoliz değeri 13.39 ADV olarak tespit edilirken, basma yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynirlerin lipoliz değeri 9.81 ADV olarak saptanmıştır. Bunda, basma yöntemiyle olgunlaştırılan peynirlerin tuz içeriğinin salamura

yöntemiyle olgunlaştırılan peynirlerden daha yüksek olmasının etkisi büyüktür. Görüldüğü gibi, peynir içeriğinde bulunan tuz, konsantrasyonuna bağlı olarak doğal süt ve bakteri lipazlarının aktivitelerini etkileyebilmektedir. Laktik asit bakterileri kökenli lipazlar genellikle tuzdan

## Otlu peynirlerin biyoaktivitesinin belirlenmesi

olumsuz yönde etkilenmektedir (Collins vd., 2003; Köse, 2015). Nitekim, Azarnia vd. (1997) tarafından yapılan bir araştırmada, İran salamura peyniri ve Teleme peynirinde bakteriler tarafından

gerçekleştirilen lipoliz üzerine yüksek tuz konsantrasyonunun engelleyici bir etkisi olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 2. Otlu peynir örneklerinin biyokimyasal analiz sonuçları

*Table 2. The results of biochemical analysis of Herby cheese samples*

ÖrnekNo/ <i>Sample No</i>	Lipoliz (ADV)/ <i>Lipolysis(ADV)</i>	WSN%/ <i>WSN</i>	TCA-SN%/ <i>TCA-SN</i>	PTA-SN%/ <i>PTA-SN%</i>
S1	16.06	17.88	8.81	6.92
S2	21.93	19.24	17.51	9.98
S3	18.57	11.72	6.39	5.84
S4	27.77	16.19	5.64	4.30
S5	14.60	13.31	11.73	9.76
S6	11.25	9.04	8.40	7.29
S7	13.04	19.87	18.68	12.96
S8	13.10	13.34	12.83	9.40
S9	14.72	15.71	13.38	8.45
S10	8.76	14.27	10.39	8.14
S11	13.04	18.13	17.22	7.67
S12	7.21	20.08	9.60	5.44
S13	3.48	23.52	8.95	4.37
S14	8.66	14.96	11.92	5.00
S15	8.76	14.53	9.37	4.46
En düşük/ <i>Minimum</i>	3.48	9.04	5.64	4.30
En yüksek/ <i>Maximum</i>	21.93	23.52	18.68	12.96
Ortalama±S.S/ <i>Mean±S.D</i>	13.39±6.11	16.11±3.72	11.39±3.95	7.48±2.51
B1	7.38	21.14	17.03	8,61
B2	4.48	21.33	19.28	11,18
B3	6.13	20.45	19.12	9,73
B4	5.18	20.45	18.29	8,42
B5	22.28	16.40	12.84	9,98
B6	7.78	18.80	16.62	4,03
B7	8.09	21.87	16.69	7,16
B8	18.21	14.78	13.08	8,4
B9	12.26	26.96	19.50	13,5
B10	18.43	19.29	14.66	6,21
B11	7.96	24.92	20.64	10,39
B12	8.82	21.26	17.61	9,63
B13	5.93	11.32	9.09	4,06
B14	10.25	18.24	16.30	5,53
B15	3.99	15.10	13.43	6,38
En düşük/ <i>Minimum</i>	3.99	11.32	9.09	4.06
En yüksek/ <i>Maximum</i>	22.28	24.92	20.64	13.05
Ortalama±S.S/ <i>Mean±S.D</i>	9.81±5.58	19.48±3.98	16.11±3.14	8.21±2.67

S:Salamura yöntemi ile olgunlaştırılan peynir örneği/ *S: Sample of cheese ripened by pickled method*, B:Basma yöntemiyle olgunlaştırılan peynir örneği/ *B: Sample of cheese ripened by pressing method*, S.S.:Standart sapma/ *S.D: Standart deviation*

Salamura yöntemiyle muhafaza edilen Otlı peynir örneklerinin ortalama % WSN oranı 9.04-23.52, % 12 TCA'da çözünen azot oranı 5.64-18.68 ve % 5 PTA'da çözünen azot oranı 4.30-12.96 aralığında tespit edilmiştir. Basma yöntemiyle muhafaza edilen Otlı peynir örneklerinin ortalama % WSN oranı 11.32-24.92, % 12 TCA'da çözünen azot oranı 9.09-20.64 ve % 5

PTA'da çözünen azot oranı ise 4.06-13.05 aralığında saptanmıştır. Bu değerler; Tarakçı ve Küçüköner (2006) ve Tarakçı vd. (2004)'nın Otlı peynirlerde belirlemiş olduğu % WSN, % 12 TCA'da çözünen azot ve % 5 PTA'da çözünen azot oranlarına yakın bulunmuştur.

Çizelge 3. Otlı peynir örneklerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite sonuçları  
Table 3. The results of total phenolic content and antioxidant activity of Herby cheese samples

Örnek No Sample No	TFM (mg/kg) TFM (mg/kg)	DPPH İnhibisyon % DPPH İnhibisyon %	TEAK (mmol/g) TEAK (mmol/g)
S1	520.22	4.17	1.42
S2	865.04	4.71	2.48
S3	349.11	2.72	0.81
S4	413.19	8.21	1.01
S5	655.04	3.80	2.02
S6	430.22	7.65	1.17
S7	1030.22	8.88	2.25
S8	1117.26	7.51	1.72
S9	1024.30	8.27	1.81
S10	675.04	7.45	1.34
S11	642.81	9.90	1.55
S12	679.11	7.44	1.78
S13	616.52	9.59	1.23
S14	352.81	4.83	0.63
S15	345.04	3.60	1.55
En düşük/ Minimum	345.04	3.60	0.63
En yüksek/ Maximum	1117.26	9.59	2.48
Ortalama±S.S/ Mean±S.D	647.72±259.80	6.58±2.36	1.52±0.51
B1	718.74	7.03	1.31
B2	651.7	7.33	1.56
B3	670.22	9.24	1.45
B4	790.22	8.26	1.62
B5	670.96	6.28	1.78
B6	715.78	7.46	1.86
B7	639.11	11.48	2.53
B8	756.15	7.17	0.97
B9	665.04	8.51	1.94
B10	685.41	5.59	1.45
B11	1030.96	4.31	0.32
B12	796.52	10.49	2.58
B13	935.41	13.05	2.08
B14	748.37	10.43	1.65
B15	667.63	8.74	1.31
En düşük/ Minimum	639.11	4.31	0.32
En yüksek/ Maximum	1030.96	13.05	2.52
Ortalama±S.S/ Mean±S.D	742.81±110.60	8.35±2.31	1.62±0.56

S:Salamura yöntemi ile olgunlaştırılan peynir örneği / S: Sample of cheese ripened by pickled method, B:Basma yöntemiyle olgunlaştırılan peynir örneği / B: Sample of cheese ripened by pressing method, S.S.:Standart sapma / S.D: Standart deviation

Salamurada muhafaza edilen Otlu peynirlerin ortalama TFM içeriği  $647.72 \pm 259.80$  mg GAE/kg, basma yöntemiyle muhafaza edilen Otlu peynirlerin ortalama TFM içeriği  $742.81 \pm 110.60$  mg GAE/kg olarak belirlenmiştir. Çizelge 3'de görüldüğü gibi salamurada muhafaza edilen Otlu peynirlerin, basma yöntemiyle muhafaza edilen peynirlerden daha düşük TFM içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Nitekim, Köse (2015) tarafından Otlu peynir üzerine yapılan çalışmada da salamurada muhafaza edilen peynirlerin vakum ambalajda muhafaza edilen peynirlerden daha düşük TFM içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Hala ve ark. (2010)'na göre tuzlama, fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu ayırıcı ile reaksiyona girmesine engel olduğu için fenolik bileşiklerin tamamının belirlenmesini zorlaştırmakta ve düşük çıkmasına sebep olmaktadır. Bunun yanında tuzlama  $Ca^{+2}$ 'ün çözündürülmesini harekete geçirerek yüzey yükünün artışına, hacimliliğe ve kazein misellerinde hidrasyona neden olmaktadır. Bu durum fenolik bileşiklerin bazılarının su ile hidrojen bağları boyunca interaksiyona girmesine yol açarak sonuçta fenolik bileşiklerin değerlerinde düşüşe neden olmaktadır (Hala ve ark., 2010).

Elde edilen veriler literatür ile karşılaştırıldığında, El-Tahra vd. (2015)'nin farklı oranlarda sıvı tütsü ve tütsü tozu ilave ederek ürettikleri Domiati peynirlerinin 90. günde toplam fenolik madde içeriğini 29.81 mg/100 g, %0.4, %0.5 ve %0.6 sıvı tütsü içeren keçi sütünden ürettikleri peynirlerin toplam fenolik madde içeriğini sırasıyla 42.15, 54.64 ve 74.73 mg/100 g olarak tespit ettiği görülmektedir. Bulduğumuz TFM sonuçları, El-Tahra vd. (2015)'nin Domiati keçi peynirinin 90. gün TFM değerinden yüksek, tütsülenmiş Domiati keçi peynirinin TFM değerine ise yakındır. Bu durumun peynir üretim aşamalarındaki, depolama koşullarındaki ve olgunluk seviyesindeki farklılığın neden olduğu düşünülmektedir.

Salamura yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynirlerin en düşük ve en yüksek DPPH inhibisyon oranlarının %3.6 ile %9.59, basma yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynirlerde en

düşük ve en yüksek DPPH inhibisyon oranlarının %4.31 ile %13.05 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Öztürk (2015), Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince elde ettiği inhibisyon değerlerini 120. günün sonunda inek Tulum peyniri için %30.96 ve keçi Tulum peyniri için %29.87 olarak bulmuştur. Erkaya ve Şengül (2015), Beyaz peynirlerin suda çözünebilir ekstraktlarının DPPH inhibisyon değerini %5.10–10.38 aralığında bulmuşlardır. Elde edilen DPPH değerlerinin, Öztürk (2015)'ün bulmuş olduğu değerlerden daha düşük ve Erkaya ve Şengül (2015)'ün bulmuş olduğu değerlere daha yakın olduğu tespit edilmiştir.

Salamura yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynirlerin en düşük ve en yüksek TEAK değerlerinin 0.63 ile 2.48 mmol TE/g arasında değiştiği gözlemlenirken, bu peynirlere ait ortalama TEAK değeri  $1.52 \pm 0.51$  mmol TE/g olarak hesaplanmıştır. Basma yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynirlerin en düşük ve en yüksek TEAK değerlerinin 0.32 ile 2.52 mmol TE/g arasında değiştiği gözlemlenirken, bu peynirlere ait ortalama TEAK değeri  $1.62 \pm 0.56$  mmol TE/g olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi, basma yöntemiyle olgunlaştırılan peynirlerin ortalama TEAK değerlerinin, salamura yöntemiyle üretilenlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, basma yöntemiyle muhafaza edilen peynirlerin proteoliz derecesinin salamura yöntemiyle muhafaza edilen peynirlere göre daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, Gupta vd. (2009) tarafından Cheddar peyniri üzerine yapılan çalışmada, yüksek proteoliz derecesine sahip olan peynirlerin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, depolamanın 120. gününe kadar TEAK değerinin arttığı, olgunlaşmanın son döneminde ise azalmaya başladığı tespit edilmiştir. Bu durumun, antioksidan peptitlerin 120.günden sonra oluşan proteolize daha fazla dayanamamasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Erkaya ve Şengül (2015) tarafından Beyaz peynirlerde yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Meira vd. (2012) Brezilya ve Uruguay'da koyun sütünden üretilmiş Feta, Roquefort, Pecorino ve

Cerillano tip peynirlerinin TEAK değerlerini ortalama olarak sırasıyla  $0.74 \pm 0.04$ ,  $2.02 \pm 0.01$ ,  $1.37 \pm 0.01$ ,  $1.73 \pm 0.04$  (mM Troloks) değerinde bulmuştur. Öztürk (2015), farklı tip sütlerden ürettiği Tulum peyniri örneklerinden olgunlaşma süresince elde ettiği TEAK değerlerini (mM Troloks) 120. günün sonunda inek Tulum peyniri için 0.39, keçi Tulum peyniri için 0.36 olarak saptamıştır. Elde edilen TEAK verilerinin, Öztürk (2015)'ün bulduğu değerlerden yüksek, Meira vd. (2012)'nin bulmuş olduğu değerlere ise yakın olduğu görülmektedir.

Antimikrobiyal aktivite testinde pozitif kontrol olarak kullanılan Tetracycline (30 µg) ve Ampicillin (10 µg)'in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213' e karşı oluşturduğu zon çapları sırasıyla 38 ve 28 mm olarak tespit edilmiştir. Tetracycline (30 µg) ve Ampicillin (10 µg)'in *Escherichia coli* ATCC 11303' e karşı ise sırasıyla 20 ve 21 mm zon çapı oluşturduğu saptanmıştır. Hem salamura hem de basma yöntemi ile olgunlaştırılan Otlu peynir örneklerinde suda çözünen ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 11303' e karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Salamura ve basma yöntemiyle olgunlaştırılan Otlu peynir örneklerinin bulguları göz önüne alındığında sonuçların birbirinden farklılığı ön plana çıkmaktadır. Bu farklılığın Otlu peynir üretiminde belirli bir standardın olmayışı, kullanılan süt çeşidi, kullanılan tuz miktarı, baskıda kalma süresi gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu nedenle Otlu peynirin yapım metodlarının standardize edilmesi, üretimde çiğ süt yerine pastörize süt kullanılması, starter kültür eklenerek daha hijyenik şartlarda üretimin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## YAZAR KATKILARI

SK, örneklerin toplanması, makalenin metodoloji, veri elde edilmesi, biçimsel analiz, yazma-rijinal taslak ve görselleştirmesine katkı sunmuştur. ŞK, kavramsallaştırma, metodoloji, biçimsel analiz,

yazma-rijinal taslak, yazma-inceleme ve düzenleme, görselleştirme ve danışman olarak katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okudu ve onayladı.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Sümeyya KARA'nın Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi FYL-2018-7486 nolu proje kapsamında desteklenen "Geleneksel Yöntemle Üretilen Otlu Peynirlerin Bazı Kalite Özelliklerinin ve Biyoaktivitesinin Belirlenmesi" başlıklı yüksek lisans tezinden (Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yök Tez No:581660) üretilmiştir.

## KAYNAKLAR

Ağaoğlu, S., Dostbil, N., Alemdar, S. (2005). The antibacterial efficiency of some herbs used in Herby Cheese. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (2):39-41.

Andiç, S., Gençcelep, H., Köse, Ş. (2010). Determination of biogenic amines in Herby Cheese. *International Journal of Food Properties*, 13 (6): 1300-1314.

Andiç, S., Tunçtürk, Y., Javidipour, I., Gençcelep, H. (2015). Effects of different herbs on biogenic amine contents and some characteristics of herby cheese. *GIDA*, 40 (1):1-8.

AOAC (1990). *Official Methods of Analysis*. 15th Edition. Association of Official Analysis Chemists, Washington, DC, USA.

Azarnia, S., Ehsani, M.R., Mirhadi, S.A. (1997). Evaluation of the physico-chemical characteristics of the curd during the ripening of Iranian brine cheese. *International Dairy Journal*, 7: 473-478.

Bae, S.H., Suh, H.J. (2007). Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. *Food Science and Technology*, 40 (6): 955-962.

Bağcı, E., Diğrak, M. (1996). Antimicrobial activity of essential oils of some abies (fir) species from Turkey. *Journal Flavour Fragrance*, 11: 251-256.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate



- antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28 (1): 25-30.
- Bütikofer, U., Ruegg, M., Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese: Evaluation of a collaborative study. *Lebensmittel wissenschaft und Technologie*, 26 (3): 271-275.
- Case, RARL., Bradley, Jr., Williams, RR. (1985). Chemical and Physical Methods. (page 327-404). *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. (Ed; G. H. Richardson), 15th ed. Am. Publ. Health Assoc., Inc., Washington, DC.
- Çakmakçı, S. (2011). Türkiye Peynirleri, 19. Bölüm. *Peynir Biliminin Temelleri* (Editör: A.A. Hayaloğlu, B. Özer).1. Baskı. Sidas Medya, 013-1B, İzmir.643.
- Çelik, S.E., Özyürek, M., Altun, M., Bektaşoğlu, B., Güçlü, K., Berker, I., Özgökçe, F.Apak, R. (2008). Antioxidant capacities of herbal plants used in the manufacture of Van herby cheese: "Otlu Peynir". *International Journal of Food Properties*, 11: 747-761.
- Coşkun, H., Tunçtürk, Y. (2000). The effect of *Allium* sp. on the extension of lipolysis and proteolysis in herby cheese during maturation. *Nahrung*, 44 (1):52-55.
- Coşkun, H. (2005). *Otlu Peynir*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Bolu, (31): s.1-25.
- Collins, Y.F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13 (11): 841-866.
- Dağdelen, Ş. (2010). Otlu peynire katılan önemli ot türlerinin antimikrobiyal, antioksidan etkileri, aroma profili ve bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Türkiye.
- Durmaz, H., Sağun, E., Tarakçı, Z., Özgökçe, F. (2006). Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodum* and *Prangos ferulacea*. *African Journal of Biotechnology*, 5 (19): 1795-1798.
- Eralp, M. (1953). Türkiye'nin bazı mahalli peynir çeşitleri üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16: 227-229.
- Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2012). Keçi sütü, inek sütü ve bu sütlerin karışımından yapılan Otlu peynirlerde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA*, 37 (4):211-218.
- El-Tahra, M.A.A., İsmail, M.M., El-Metwally, R.I. (2015). Effect of adding smoke liquid or powder to goat's milk on some characteristics of Domiatti cheese. *American Journal of Food Science and Nutrition Research*. 2 (2): 47-56.
- Erkaya T., Şengül M. (2015). Bioactivity of water soluble extracts and some characteristics of white cheese during the ripening period as effected by packaging type and probiotic adjunct cultures, *Journal of Dairy Research*, 82: 47-55.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R., Sangwan, R.B. 2009. Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *Int J Dairy Technol*, 62(3): 339-347.
- Hala, M.F.E., Ebtisam, I.G., Sana, M.A.B., Gad, A.S., Marwa, M.E.S. (2010). Manufacture of low fat UF-soft cheese supplemented with rosemary extract (as natural antioxidant). *Journal of American Science*, 6 (10), 570-579.IDF (1991). *Routine methods for determination of free fatty acids in milk*. Bulletin of the IDF. no. 265, p. 26-32.
- İşleyici, Ö. (1999). Otlu Peynir Mikroflorasındaki Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Bu Peynir Yapımında Kullanılabilecek Starter Kültürlerin Tespiti. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van, Türkiye.
- İşleyici, Ö., Akyüz, N. (2009). Van ilinde satılsa sunulan Otlu peynirlerde mikrofloranın ve laktik asit bakterilerinin belirlenmesi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2): 59-64.
- Kavaz, A., Bakırcı, İ., Kaban, G. (2013). Some physico-chemical properties and organic acid profiles of herby cheeses. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (1):89-95.
- Kırca, A., Özkan, M. (2007). *Değişik Amaçlı Bazı Test ve Analiz Yöntemleri*, Bölüm,11. Gıda Analizleri (Editör: Bekir Cemeroglu). Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, 34, Ankara. 535.

- Kose, S. (2015). The effect of some herbs added to Herby cheese on antimicrobial properties, antioxidant capacity and phenolic compounds of cheese. PhD Thesis. Yuzuncu Yil University Department of Food Engineering, Van, Turkey.
- Kose, S., Ocak, E. (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of sirmo (*Allium vineale* L.), mendî (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and siyabo (*Ferula rigidula* DC.). *GIDA* 43 (2): 294-302, doi: 10.15237/gida.GD17099.
- Köse, Ş., Ocak, E. (2019). Mineral composition of Herby cheese produced from raw and pasteurized milk. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(3):7189-7201.
- Kosikowski, F.V. (1982). *Cheese and Fermented Milk Foods*, Published by F.V.Kosikowski and Associates, New York, p.1-711.
- Kuchroo, C.N., Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37: 331-335.
- Kurt, A. (1968). Van Otlu peynirleri üzerinde araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraai Araştırmalar Enstitüsü Bülteni*, No. 33:1-29.
- Kurt, A., Akyüz, N. (1984). Van Otlu peynirinin yapılışı ve mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal nitelikleri. *Gıda*, 9 (3):141-146.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A. (2003). *Süüt mamülleri muayene ve analiz metotlar rehberi*. 8. Baskı. Atatürk Üniversitesi Yayınları, Yay. No: 252-D, Erzurum. 284.
- Meira, S. M. M., Daroit, D. J., Helfer, V. E., Corrêa, A. P. F., Segalin, J., Carro, S., Brandelli, A. (2012). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Res Int*, 48 (1): 322-329.
- Ocak, E., Köse, Ş. (2010). Van piyasasında satılan Otlu peynirlerin mineral madde içeriği. 1. Uluslararası Adriyatik'ten Kafkaslar'a Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 15-17 Nisan 2010. Tekirdağ, Türkiye.
- Ocak, E., Javidipour, I., Tunçtürk, Y. (2014). Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *J Food Sci Technol*, 52(7): 4314-4323, DOI 10.1007/s13197-014-1458-8.
- Ocak, E., Köse, Ş. (2015). Van Otlu peynirinin üretimi ve mineral madde içeriği. *GIDA*, 40(6): 343-348. doi: 10.15237/gida.GD15024.
- Ocak, E., Köse, Ş. (2018). Determination of flüoride in water, milk and dairy products. *Fluoride*, 51(2): 182-192.
- Özrenk, E., Köse, Ş., Ekin, M. (2009). Van piyasasında satılan Otlu peynirlerin bazı kimyasal özellikleri ve enerji değeri. 2. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs, Van, Türkiye.
- Öztürk, İ. H. (2015). Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin, biyoaktif peptid içeriklerinin ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Konya, Türkiye.
- Perez, C., Pauli, M., Bazerque, P. (1990). An antibiotic assay by agar-well diffusion method. *Acta Biologica et Medecine Experimentalis*, 15:113-115.
- Sağun, E., Durmaz, H., Tarakçı, Z., Sağdıç, O. (2006). Antibacterial activities of the extracts of some herbs used in Turkish herby cheese against *Listeria Monocytogenes* Serovars. *International Journal of Food Properties*, 9: 255-260.
- Sancak, Y. C. (1989). Van ve yöresinde olgunlaştırılmış olarak tüketime sunulan Otlu peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel kaliteleri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye.
- Sancak, Y.C., Boynukara, B., Yardımcı, H. (1993). Van Otlu peynirlerinde *Brucella*'ların varlığı ve dayanma süresi üzerinde bir araştırma. *Konya Hayvan Hastanesi Araştırma Enstitüsü*, s. 1-70.
- Sönmezsoy, A. (1994). Kozluk-Batman Bölgesinde üretilen ve satışa sunulan Otlu peynirlerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri üzerinde bir araştırma. Yüzüncü Yil Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Van, Türkiye.

Tarakçı, Z., Çoşkun, H., Tunçtürk, Y. (2004). Some properties of fresh and ripened Herby Cheese, a traditional variety produced in Turkey. *Food Technology and Biotechnology*, 42 (1) 47-50.

Tarakçı, Z., Durmaz, H., Sağun, E. (2005). Siyabonun (*Ferula* sp.) Otlı peynirin olgunlaşması üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (1): 53-56.

Tarakçı, Z., Küçüköner, E. (2006). Farklı yağ oranına sahip süttten üretilen Van Otlı peynirlerinde olgunlaşma süresince meydana gelen değişiklikler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 16: 19-24.

Tarakçı, Z., Temiz, H., Aykut, U., Turhan, S. (2011). Influence of wild garlic on color, free fatty acids, chemical and sensory properties of herby pickled cheese. *International Journal of Food Properties*, 14: 287-299.

Tunçtürk, Y., Ocak, E., Köse, Ş. (2014). Farklı süt türlerinden üretilen Van Otlı peynirlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile proteoliz profillerinde olgunlaşma sürecinde meydana gelen değişimler. *Gıda*, 39 (3): 163-170.

**HAŞHAŞ (*Papaver somniferum*) ÇEŞİTLERİNİN TOHUM YAĞLARININ YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU, TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARI, ANTİOKSİDAN VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

**İlkin Yücel Şengün<sup>\*1</sup>, Ersin Yücel<sup>2</sup>, Berna Öztürk<sup>1</sup>, Gülden Kılıç<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Eskişehir Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Eskişehir, Türkiye

Geliş / Received: 01.05.2020; Kabul / Accepted: 14.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Yücel-Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. (2020). Haşhaş (*Papaver somniferum*) çeşitlerinin tohum yağlarının yağ asidi kompozisyonu, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri. *GIDA* (2020) 45(5) 954-962 doi: 10.15237/gida.GD20061.

Yücel-Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. (2020). Fatty acid composition, total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of varieties of poppy (*Papaver somniferum*) seed oils. *GIDA* (2020) 45(5) 954-962 doi: 10.15237/gida.GD20061.

**ÖZ**

Bu çalışmada, mavi ve beyaz haşhaş (*Papaver somniferum*) tohumlarından elde edilen sabit yağların yağ asidi kompozisyonları, biyoaktif ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Örneklerin bileşiminde ağırlıklı olarak linoleik (%69.2-73.2), oleik (%13.5-17.4) ve palmitik asit (%8.8-8.9) olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı mavi ve beyaz haşhaş tohumu yağında (MHTY ve BHTY) sırasıyla 659.5±2.12 ve 275.5±2.12 mg GAE/kg olarak belirlenmiştir. MHTY'nin antioksidan aktivite değeri DPPH ve ABTS+ yöntemlerine göre sırasıyla %40.35±0.14 ve 41.09±0.58, BHTY'da ise %40.86±1.25 ve 41.95±1.46 olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında ilk kez yağ örneklerinin gıda mikrobiyolojisi açısından önemli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkileri belirlenmiştir. MHTY'na karşı en hassas mikroorganizmaların *E. coli* ve *L. monocytogenes* olduğu belirlenmiştir. BHTY, *B. subtilis* ve *S. aureus* dışındaki mikroorganizmalara karşı benzer düzeyde etki göstermiştir. Sonuçlar, haşhaş tohumu yağlarının doğal antioksidan ve antimikrobiyal ürünler olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Haşhaş tohumu, yağ, toplam fenolik madde, antimikrobiyal, antioksidan

**FATTY ACID COMPOSITION, TOTAL PHENOLIC CONTENT, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF VARIETIES OF POPPY (*Papaver somniferum*) SEED OILS**

**ABSTRACT**

In the study, fatty acid compositions, bioactive and antimicrobial properties of fixed oil obtained from blue and white poppy (*Papaver somniferum*) seeds were examined. The major components found in the composition of samples were linoleic (69.2-73.2%), oleic (13.5-17.4%) and palmitic acid (8.8-8.9%). The total phenolic content was determined as 659.5±2.12 and 275.5±2.12 mg GAE/kg in

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: ilkin.sengun@ege.edu.tr,

☎:(+90) 232 3113028

☎:(+90) 232 3427592

İlkin Yücel Şengün; ORCID no: 0000-0002-9445-5166

Ersin Yücel; ORCID no: 0000-0001-8274-7578

Berna Öztürk; ORCID no: 0000-0003-1104-1863

Gülden Kılıç; ORCID no: 0000-0001-6125-6219

blue and white poppy seed oil (BPSO and WPSO), respectively. According to DPPH and ABTS+ methods, the antioxidant activities were  $40.35 \pm 0.14$  and  $41.09 \pm 0.58\%$  for BPSO and  $40.86 \pm 1.25$  and  $41.95 \pm 1.46\%$  for WPSO, respectively. In the context of this study, antimicrobial effects of oil samples were determined for the first time on bacteria, important in food microbiology. The most sensitive microorganisms to BPSO were *E. coli* and *L. monocytogenes*. WPSO was shown similar level of antimicrobial effect on microorganisms except *B. subtilis* and *S. aureus*. Results showed that poppy seed oils have the potential to be used as natural antioxidant and antimicrobial products.

**Keywords:** Poppy seed, oil, total phenolic content, antimicrobial, antioxidant

### GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin doğal ve bitkisel ürünleri tüketmeye yönelik eğilimleri artış göstermektedir. Bitkiler; alkaloidler, flavonoidler, fenolikler, kumarinler, saponinler, terpenoidler, tiyosülfinatlar ve organik asitler gibi çeşitli antimikrobiyal/antioksidan etkili bileşikler içermekte ve bu bileşikler bitkinin çiçek, tomurcuk, yaprak, meyve, kabuk, tohum gibi farklı bölümlerinden elde edilebilmektedir (Tajkarimi vd., 2010).

Papaveraceae familyasına ait olan ve ülkemizde geleneksel olarak tarımı yapılan haşhaş bitkisi (*Papaver somniferum*), kapsül ve tohumlarında bulunan alkaloid, yağ ve proteinler sayesinde tıp, gıda, kozmetik ve boya endüstrilerinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Gültepe, 2013). Haşhaş tohumu yağının, içeriğinde bulunan linoleik, oleik ve palmitik asit gibi çoklu doymamış yağ asitleri, mineraller ve çeşitli fenolik bileşikler sayesinde, kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesi, kardiovasküler hastalıkların önlenmesi gibi sağlık üzerine birçok yararlı etkileri bulunmaktadır (Peter, 2001; Ghafoor vd., 2019).

Yapılan çalışmaların birçoğunda, farklı coğrafi bölgelerde yetiştirilen haşhaş bitkisinin yağ asidi kompozisyonu, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Bununla birlikte, literatürde, haşhaş bitkisi tohumlarından elde edilen sabit yağların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Afyonkarahisar'da yetişen Haşhaş genotipleri (Ofis 1 Mavi ve Ofis 2 Beyaz) tohumlarından elde edilen sabit yağların, farklı yöntemler kullanılarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite değerlerinin belirlenmesi, ayrıca elde edilen yağların yağ asidi kompozisyonu

ve toplam fenolik madde miktarlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu konuda sınırlı çalışma bulunması nedeniyle, elde edilen verilerin literatüre önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Bitki örneklerinin toplanması ve sabit yağ eldesi

Afyonkarahisar (Türkiye) ilinde yetişen haşhaş bitkileri (*Papaver somniferum*) Prof. Dr. Ersin YÜCEL tarafından toplanmış ve tanımlanmıştır. Tanımlanan haşhaş kapsülleri kırılarak mavi (Ofis 1) ve beyaz (Ofis 2) haşhaş tohumları elde edilmiştir. Temizlendikten sonra damıtılmış su ile yıkanan tohumlar oda sıcaklığında filtre kâğıdı üzerinde 24 saat bekletilmiş, daha sonra  $35^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika bekletilerek kurutulmuştur. Tohumlardan soğuk sıkım yöntemi ile (Kıralan vd., 2014) sabit yağ elde edilmiştir. Elde edilen haşhaş yağı 48 saat dinlendirilmiş ve steril filtre ile süzülerek deneylerde kullanılmak üzere cam şişelerde depolanmıştır.

#### Yağ asidi kompozisyonu

Mavi ve beyaz haşhaş tohumu sabit yağlarının (MHTY ve BHTY) yağ asidi kompozisyonu, Anadolu Üniversitesi, Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM)'inde, GC-MC Agilent 7890B GC 5977B Kütle Seçici Dedektör Sistemi kullanılarak belirlenmiştir (USP, 1995). Yağ asitlerinin bağıl yüzdeleri, kapiler kolonu Agilent HP-Innowax, (60 m x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı) olan Alev İyonlaşma Detektörü (FID) ile donatılmış Agilent 7890B GC sistemi ile belirlenmiş ve yağ örnekleri, Boron Triflorür (BF<sub>3</sub>) kullanılarak transmetilasyon yöntemine göre türevlendirilmiş, bileşiminde bulunan yağ asitleri metil esterleri formuna dönüştürülerek hekzan ile hazırlanan (%10, h/h) örnek 40:1 split oranı ile 1 µL olarak sisteme

enjekte edilmiştir. Fırın sıcaklığı ilk olarak 60°C'de 10 dakika tutulmuş, daha sonra sırasıyla 4°C/dakika hızı ile 220°C'ye, 1°C/dakika hızı ile 240°C'ye yükseltilmiştir. Son olarak enjeksiyon ve detektör sıcaklığı 250°C'de tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır (0.7 mL/dakika).

Bileşenler, GC analizi ile aynı koşullara sahip bir HP innowax kolon ile donatılmış GC-MC Agilent 7890B GC 5977B Kütle Seçici Dedektör Sistemi ile tanımlanmıştır. GC-MS tespiti için 35-450 m/z tarama aralığında 70 eV iyonizasyon enerjisine ve 230°C iyon kaynağı sıcaklığına sahip bir elektron iyonizasyon sistemi kullanılmıştır. Ayrılan bileşenler, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST) standartlarına göre tanımlanmıştır.

### Toplam fenolik madde

Örneklerde bulunan toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). 2 g yağ örneği 1 mL hekzan içerisinde çözündürülmüş, ardından 1 mL metanol:saf su (60:40, h/h) ile karıştırılarak 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra, 500 µL Folin-Ciocalteu çözeltisi ile 6 mL ultra saf su karıştırılmış ve karışıma santrifüj işleminden elde edilen metanol ekstraktı (100 µL) ilave edilip oda sıcaklığında 8 dakika bekletilmiş ve karışıma 1.5 mL doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g/L) çözeltisi eklenmiş ve 60 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 765 nm dalga boyunda okuma yapılmış ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg GAE/kg) olarak ifade edilmiştir.

### Antioksidan aktivite

Sabit yağ örneklerinin toplam antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS+ olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

#### DPPH analizi:

DPPH analizi, Naik vd. (2011)'nin belirlediği yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Yağ örneklerinin 1 mL metanol ekstraktı 4 mL DPPH çözeltisi ile karıştırılmış ve elde edilen karışım karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Okumalar çift ışık yollu spektrofotometrede (Agilent

Technologies Cary 60 UV-Vis) 515 nm dalga boyunda yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanarak yüzde absorbans olarak ifade edilmiştir.

%Abs = (Ak-Aö)/Akx100, Ak: kontrol absorbans değeri; Aö: örnek absorbans değeri

#### ABTS analizi:

Örneklerin antioksidan aktiviteleri ABTS+ yöntemi ile de belirlenmiştir (Re vd., 1999). ABTS+ stok çözeltisinin hazırlanması amacıyla, 7 mM ABTS+ çözeltisi 2.45 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ile karıştırılmış ve karanlıkta 16 saat bekletilmiştir. 0.3 mL yağ örneği etanol ekstraktı ile 3 mL ABTS+ çözeltisi karıştırılmıştır. 6 dakikalık süre sonunda spektrofotometrede (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis) 734 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilen formülle hesaplanarak yüzde absorbans olarak ifade edilmiştir.

%Abs = (Ak-Aö)/Akx100, Ak: ABTS+ çözeltisinin absorbans değeri; Aö: örnek absorbans değeri

### Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

#### Bakteri kültürleri

Örneklerin antimikrobiyal aktivite değerlerinin belirlenmesi amacıyla yedi mikroorganizma (*Listeria monocytogenes* Scott A, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6037, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium NRRL-B-4420 ve *Escherichia coli* ATCC 1103) test kültürü olarak kullanılmıştır. Test kültürleri Ege Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Stok kültürlerin aktivasyonu amacıyla kültürler Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine transfer edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültürlerin yoğunluğu, Mc Farland 0.5 olacak şekilde ayarlandıktan (DEN-1 Mc Farland Densitometer, Grant-bio) sonra analizlerde kullanılmıştır.

#### Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemi için test kültürleri Mueller Hilton Agar (MHA, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekilmiştir. Yüzeyi test mikroorganizmaları ile inokule edilmiş

besiyerlerinin üzerine sabit yağ emdirilmiş (40 mg/mL) 6 mm çapındaki diskler belirli aralıklarla yerleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak ampisilin (AMP, 10 µg/disk, Oxoid) ve gentamisin (GEN, 10 µg/disk, Oxoid) diskleri, negatif kontrol olarak steril su emdirilmiş diskler kullanılmıştır. Ekim yapılan petripler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür (Deng vd., 2014).

#### Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK)

MİK testi için 96 kuyucuklu "U" tipi steril mikroyuvarlar kullanılmıştır. DMSO (%5) içerisinde çözüldürülmüş yağ örnekleri kuyucuklardaki son konsantrasyonları %10-0.020 arasında olacak şekilde kuyucuklara aktarılmış ve her bir kuyucuğa 100 µL test kültürü ayrı ayrı ilave edilmiştir. Hazırlanan pleytler 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa 20 µL %1'lik 2,3,5 trifenil tetrazolyum klorit (TTC, Merck) eklenmiş ve pleytler 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuyucuklarda oluşan renk değişimlerine göre örneklerin MİK değeri

belirlenmiştir (Deng vd., 2014). MİK testi için ekim yapılan pleytlerde gelişme olan her bir kuyucuktan MHA besiyerine ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda koloni gelişimine bağlı olarak örneklerin MBK değerleri belirlenmiştir (Tomas-Menor vd., 2013).

#### İstatistiksel değerlendirme

Denemeler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, SPSS 20 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan's Multiple Range ve Paired Samples T testleri ile  $P < 0.05$  önem seviyesinde tespit edilmiştir.

#### SONUÇ VE TARTIŞMA

##### Örneklerin yağ asidi kompozisyonu

Çalışmada, MHTY ve BHTY'lerinde, toplam yağ asidi kompozisyonunun sırasıyla %98.9 ve 98.8'ini temsil eden 5 yağ asidi tanımlanmış olup, ağırlıklı olarak bulunan yağ asitlerinin linoleik, oleik ve palmitik asit olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). MHTY ve BHTY'lerinde sırasıyla %69.2 ve 73.2 linoleik asit, %17.4 ve 13.5 oleik asit, %8.9 ve 8.8 palmitik asit, %2.3 stearik asit ve %1.1 ve 1.0 elaidik asit belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Haşhaş tohumu yağlarının yağ asidi kompozisyonu  
Table 1. Fatty acid composition of poppy seed oils

Yağ asidi kompozisyonu <i>Fatty acid composition</i>	Bağıl yüzde (%) <i>Relative content (%)</i>	
	MHTY BPSO	BHTY BPSO
Palmitik asit (C16:0) <i>Palmitic acid (C16:0)</i>	8.9	8.8
Stearik asit (C18:0) <i>Stearic acid (C18:0)</i>	2.3	2.3
Oleik asit (C18:1); ω-9 <i>Oleic acid (C18:1); ω-9</i>	17.4	13.5
Elaidik asit (C18:1); ω-9 <i>Elaidic acid (C18:1); ω-9</i>	1.1	1.0
Linoleik asit (C18:2); ω-6 <i>Linoleic acid (C18:2); ω-6</i>	69.2	73.2
Toplam yağ asidi <i>Total fatty acid</i>	98.9	98.8

Yapılan bir çalışmada, Afyonkarahisar ve Uşak ilinde (Türkiye) yetişen haşhaş bitkilerinin mavi, sarı ve beyaz tohumlarından elde edilen sabit yağlarda bulunan linoleik, oleik, palmitik, stearik ve gamma-linoleik asit miktarlarının sırasıyla %73.10-75.20, %13.20-14.70, %8.70-9.51, %2.20-2.60 ve %0.50-0.60 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Dündar Emir vd., 2015). Benzer bir çalışmada, 6 farklı haşhaş tohumu yağında bulunan yağ asidi kompozisyonu belirlenmiş ve ağırlıklı olarak linoleik (%65.52-74.97), oleik (%13.26-21.43) ve palmitik (%8.65-10.06) asit bulunduğu tespit edilmiştir (Abudak ve Kara, 2017). Bu sonuçlar, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermektedir. Diğer çalışmalarda, Afyonkarahisar (Türkiye) ve İrlanda'da yetişen haşhaş bitkilerinin tohumlarından elde edilen dietiler ve hekzan/izopropanol ekstraktlarında ile ağırlıklı olarak linoleik (%52.60-71.50), oleik asit (%13.11-24.13) ve palmitik asit (%12.20-18.70) gibi yağ asitlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Özcan ve Atalay, 2006; Ryan vd., 2007). Tüm bu sonuçlar, haşhaş tohumu yağlarının insan sağlığı için yararlı esansiyel yağ asitlerinden linoleik, oleik ve palmitik asiti yüksek oranda içerdiğini göstermektedir.

#### **Örneklerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerleri**

MHTY'da bulunan toplam fenolik madde miktarı  $659.5 \pm 2.12$  mg GAE/kg iken beyaz BHTY'da bu değer  $275.5 \pm 2.12$  mg GAE/kg olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.05$ ). Yağ örneklerinin antioksidan aktivite değerleri DPPH ve ABTS+ yöntemlerine göre incelenmiş ve MHTY'nda antioksidan aktivite değeri her iki yöntemle göre sırasıyla  $40.35 \pm 0.14$  ve  $41.09 \pm 0.58$ , BHTY'nda ise bu değer sırasıyla  $40.86 \pm 1.25$  ve  $41.95 \pm 1.46$  olarak tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Bununla birlikte, yağ örneklerinin fenolik madde miktarları arasında anlamlı farklılık olduğu ( $P < 0.05$ ), ancak antioksidan aktivite açısından aralarında fark bulunmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, Afyonkarahisar ve Uşak ilinde (Türkiye) yetişen haşhaş bitkilerinin mavi, sarı ve beyaz tohumlarından sabit yağların toplam fenolik madde miktarı 1.01-7.59 mg GAE/100 g yağ, antioksidan aktivite değeri ise 20.26-43.90 mmol

Trolox/g yağ olarak belirlenmiştir (Dündar Emir vd., 2015). Diğer bir çalışmada, Türkiye'de yetişen haşhaş bitkisinin beyaz ve mavi tohumlarında bulunan toplam fenolik madde miktarı 31.27-32.35 mg GAE/g, antioksidan aktivite değeri (DPPH) ise %7.58-11.23 aralığında değişim göstermiştir (Ghafoor vd., 2019). Başka bir çalışmada, Pakistan ve Hindistan'da yetişen haşhaş bitkisi tohumlarından kloroform/metanol ve aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ örneklerinde bulunan toplam fenolik madde miktarı sırasıyla  $48.5 \pm 3.0$  mg GAE/100 g ve  $0.56 \pm 0.06$  mg GAE/kg, antioksidan aktivite değeri ise sırasıyla  $44.7 \pm 1.5$  ve  $33.16 \pm 2.12$  mg askorbik asit eşdeğeri/g olarak tespit edilmiştir (Ishtiaque vd., 2013; Kamath vd., 2015). Diğer bir çalışmada ise haşhaş tohumu yağlarının toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve E vitamini içeriğinin sırasıyla 2.617-2.916 mg GAE/mL yağ, %56.50-87.30 ve 29.4-54.0 mg/kg yağ aralığında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Abudak ve Kara, 2017). Fenolik asitler, türevleri ve flavanoidler yağ bakımından zengin olan tohumlarda baskın fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi genellikle moleküldeki hidroksil gruplarının sayısına bağlıdır ve tohum yağlarında bulunan fenolik bileşikler yağların antioksidan aktivitesini arttırmaktadır (Liyana-Pathirana ve Shahidi, 2006; Bozan ve Temelli, 2008). Bununla birlikte, antioksidan aktivitenin sadece toplam fenolik madde miktarına bağlı olmadığı, aynı zamanda yağ içeriğinde bulunan fenolik bileşiklerin tipine de bağlı olduğu belirtilmektedir (Tovar vd., 2001; Bozan ve Temelli, 2008). Benzer şekilde, mevcut çalışmamızda da yağların toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivite değerleri arasında korelasyon olmadığı ve yağ içerisinde antioksidan etkili farklı bileşiklerin olabileceği ortaya konulmuştur. Ayrıca, çalışmalardan elde edilen sonuçlar, haşhaş tohumu yağında bulunan toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değerinin, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, çözücü tipi ve bitkinin yetiştiği coğrafi bölge gibi etkenlere bağlı olarak farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur.



## Haşhaş (*Papaver somniferum*) çeşitlerinin tohum yağlarının özellikleri

### Haşhaş tohumu yağlarının antimikrobiyal aktivite değerleri

Haşhaş tohumu sabit yağlarının antimikrobiyal aktivitesi yedi farklı mikroorganizma üzerinde incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemine göre, MHTY'na karşı en hassas mikroorganizmaların *E. coli* ( $11.0 \pm 5.7$  mm) ve *S. Typhimurium* ( $8.0 \pm 2.8$

mm), en dirençli mikroorganizmaların ise *B. subtilis* ve *S. aureus* (6 mm) olduğu tespit edilmiştir. BHTY, *B. subtilis* ve *S. aureus* dışındaki mikroorganizmalara karşı benzer düzeyde ( $7.0 \pm 1.41$  mm) antimikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Haşhaş tohumu yağlarının inhibisyon zon çapları

Table 2. Diameter of inhibition zones of poppy seed oils

Test mikroorganizmalar <i>Test microorganisms</i>	İnhibisyon zon çapı <i>Diameter of inhibition zone</i>		PC AMP	NC GEN	NC SS SW
	MHTY BPSO	BHTY WPSO			
	<i>L. monocytogenes</i>	$7.0 \pm 0.0$	$7.0 \pm 1.4$	$28.0 \pm 2.0$	$28.5 \pm 1.5$
<i>E. faecalis</i>	$7.0 \pm 1.4$	$7.0 \pm 1.4$	$21.0 \pm 1.0$	$14.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>B. subtilis</i>	$6.0 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$	$29.0 \pm 1.0$	$29.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>S. aureus</i>	$6.0 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$	$35.5 \pm 0.5$	$22.5 \pm 0.5$	$6.0 \pm 0.0$
<i>E. coli</i> O157:H7	$7.0 \pm 1.4$	$7.0 \pm 1.4$	$11.5 \pm 0.5$	$18 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$
<i>S. Typhimurium</i>	$8.0 \pm 2.8$	$7.0 \pm 1.4$	$18.0 \pm 2.0$	$20 \pm 0.0$	$6.0 \pm 0.0$
<i>E. coli</i>	$11.0 \pm 5.7$	$7.0 \pm 1.4$	$20.5 \pm 0.5$	$21.5 \pm 1.5$	$6.0 \pm 0.0$

PC: Pozitif kontrol, NC: Negatif kontrol, AMP: Ampisilin; GEN: Gentamisin; SS: steril su  
PC: Positive control, NC: Negative control, AMP: Ampicillin; GEN: Gentamycin; SW: sterile water

Literatürde, haşhaş bitkisinin farklı ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin disk difüzyon yöntemi ile incelendiği birkaç çalışma bulunmaktadır. Chaudhry ve Tariq (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, Pakistan'da yetişen haşhaş bitkisinin tohumlarından elde edilen su ekstraktının *Alcaligenes* spp. ( $8.5 \pm 1.1$  mm), *Citrobacter* spp. ( $8.8 \pm 2.3$  mm) *E. coli* ( $9.5 \pm 0.5$  mm), *Micrococcus roseus* ( $8.1 \pm 3.4$  mm) üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada test materyalinin *E. coli* üzerine inhibitif etkisi, bizim elde ettiğimiz sonuca göre daha düşük bulunmuştur. Diğer bir çalışmada, haşhaş çiçeği uçucu yağının *M. luteus* (12 mm), *Proteus vulgaris* (10 mm) ve *Klebsiella pneumoniae* (8 mm) üzerine antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Dilek vd., 2018). Genel olarak bizim yürütmüş olduğumuz çalışma kapsamında test bakterisi olarak gıda mikrobiyolojisinde önem arz eden

bakteriler test edilmiş, dolayısıyla bu verilerin diğer araştırma sonuçları ile karşılaştırması mümkün olamamıştır.

Sıvı dilüsyon yöntemine göre MHTY *L. monocytogenes* ve *E. coli* üzerine, BHTY ise *L. monocytogenes* ve *E. faecalis* üzerine %10'luk (h/h) konsantrasyonda inhibitif etki göstermiştir (Çizelge 3). Bununla birlikte, her iki yağ örneğinin de tüm test kültürlerine karşı %10'luk konsantrasyonda bakterisidal etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

Literatürde Türkiye'de yetişen haşhaş bitkisi tohumlarından elde edilen sabit yağların MİK ve MBK değerlerinin belirlendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, İran'da yetiştirilen haşhaş bitkisinin farklı bir türü olan *Papaver macrostomum*'un etanol ekstraktının

*Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* üzerine 500 µl/mL oranında inhibitif etki, 1000 µl/mL oranında ise bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (Khanafari vd., 2013). Yapılan bu çalışmalar, haşhaş bitkisinin antimikrobiyal aktivitesinin bitki türü, ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan test kültürlerine bağlı olarak farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bitkilerin farklı bölgelerinden elde edilen ekstrakt, esansiyel veya sabit yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin, yağ içeriğinde bulunan yağ asitleri gibi maddelerden kaynaklandığı ve bitkilerde bulunan linoleik, linolenik, oleik, stearik ve palmitik asit gibi yağ asitlerinin *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* ve *C.*

*sporogenes* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Ababouch vd., 1992; 1994; Coskun, 2006). Ayrıca fenolik bileşiklerde bulunan hidroksil gruplarının bakteriler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ve haşhaş bitkisi tohum yağlarının vanilik, *p*-kumarik, ferulik, *p*-hidroksibenzoik asit gibi fenolik bileşikler yüksek oranda içerdiği belirtilmektedir (Şengün ve Öztürk, 2018; Ghafoor vd., 2019). Dolayısıyla, yürüttüğümüz bu çalışmada haşhaş bitkisi tohum yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin içeriğinde bulunan yağ asitleri ve fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 3. Haşhaş tohumu yağlarının MİK ve MBK değerleri

Table 3. MIC and MBC values of poppy seed oils

Test mikroorganizmalar <i>Test microorganisms</i>	MİK değeri (h/h) <i>MIC value (v/v)</i>		MBK değeri (h/h) <i>MBC value (v/v)</i>	
	MHTY <i>BPSO</i>	BHTY <i>WPSO</i>	MHTY <i>BPSO</i>	BHTY <i>WPSO</i>
<i>L. monocytogenes</i>	%10	%10	>10	>10
<i>E. faecalis</i>	>10	%10	>10	>10
<i>B. subtilis</i>	>10	>10	>10	>10
<i>S. aureus</i>	>10	>10	>10	>10
<i>E. coli</i> O157:H7	>10	>10	>10	>10
<i>S. Typhimurium</i>	>10	>10	>10	>10
<i>E. coli</i>	%10	>10	>10	>10

## SONUÇ

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, MHTY ve BHTY'larının, linoleik asidi yüksek miktarda içerdiğini göstermiştir. MHTY ve BHTY'larından elde edilen yağların fenolik madde miktarları arasında anlamlı farklılık olduğu ( $P < 0.05$ ), ancak antioksidan etki açısından bu farklılığın bulunmadığı ( $P > 0.05$ ) belirlenmiştir. Çalışma kapsamında ilk kez yağ örneklerinin gıda mikrobiyolojisi açısından önemli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkilere sahip olduğu hem disk difüzyon ve hem de sıvı dilüsyon yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Yağ örneklerine karşı en duyarlı mikroorganizmaların *L. monocytogenes*, *E. faecalis* ve *E. coli*, en dirençli mikroorganizmaların ise *B. subtilis* ve *S. aureus*

olduğu tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, haşhaş tohumu sabit yağlarının biyoaktif bileşenler açısından zengin kaynaklar olduğunu ve dolayısıyla antimikrobiyal ve antioksidan aktivite açısından önemli potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makale ile ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında bir çıkar çatışması yoktur.

## YAZAR KATKILARI

Bu makalenin hazırlanmasında Yazarların katkı payı şöyledir: İYŞ: %25; EY: %25; BÖ: %25; GK: %25 Makalenin hazırlanmasında başka kişi ve/veya kurumların katkısı yoktur.

**KAYNAKLAR**

- Ababouch, L., Chaibi, A., Busta, F.F. (1992). Inhibition of bacterial spore growth by fatty acids and their sodium salts. *J. Food Prot.* 55: 980-984, doi:10.4315/0362-028X-55.12.980.
- Ababouch, L., Bouqartacha, F., Busta, F.F. (1994). Inhibition of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells by fatty acids and glyceryl monododecanoate. *Food Microbiol.* 55: 327-336, doi: 10.1006/fmic.1994.1037.
- Abudak, M., Kara, H.H. (2017). Fatty acid composition and some bioactive properties of edible oil extracted from different varieties of poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 94: 19-25.
- Bozan, B., Temelli, F. (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol.* 99: 6354-6359, doi: 10.1016/j.biortech.2007.12.009.
- Chaudhry, N.M.A. Tariq, P. (2008). In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. *Pak J Bot*, 40(1): 461.
- Coşkun, F. (2006). Gıdalarda bulunan doğal koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2, 27-33.
- 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 doi: 10.1016/j.foodcont.2013.10.023.
- Dilek, M., Gültepe, A., Öztaşan, N. (2018). Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) çiçeğinin uçucu yağ içeriğinin belirlenmesi ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(3): 786-795, doi: 10.5578/fmbd.67616.
- Dündar Emir, D., Aydeniz, B., Yılmaz, E. (2015). Effects of roasting and enzyme pretreatment on yield and quality of cold-pressed poppy seed oils. *Turk J Agric For*, 39: 260-271, doi:10.3906/tar-1409-34.
- Ghafoor, K., Özcan, M.M., Fahad, A.J., Babiker, E.E., Fadimu, G.J. (2019). Changes in quality, bioactive compounds, fatty acids, tocopherols, and phenolic composition in oven-and microwave-roasted poppy seeds and oil. *LWT-Food Sci Tech*, 99: 490-496, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.140.
- Gültepe, A. (2013). *Papaver somniferum* L. çiçeklerinin esansiyel yağ içeriği, antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar, Türkiye, 73 s.
- Ishtiaque, S., Khan, N., Siddiqui, M.A., Siddiqi, R., Naz, S. (2013). Antioxidant potential of the extracts, fractions and oils derived from oilseeds. *Antioxidants*, 2(4): 246-256, doi: 10.3390/antiox2040246.
- Kamath, S.D., Arunkumar, D., Avinash, N.G., Samshuddin, S. (2015). Determination of total phenolic content and total antioxidant activity in locally consumed food stuffs in Moodbidri, Karnataka, India. *Adv Appl Sci Res*, 6(6): 99-102.
- Khanafari, A., Yaghoob, N.Z.G., Fariba S. (2013). Combined application of microbial cellulose and *papaver macrostomum* extract on bedsore microorganisms. *Jundishapur J Microbiol*, 6(3): 220-225.
- Kıralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M.F. (2014). Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Ind Crop Prod*, 57: 52-58, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.03.026.
- Liyana-Pathirina, C.M., Shahidi, F. (2006). Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. *J Agric Food Chem*, 54:1256-1264, doi: 10.1021/jf052556h.
- Naik, D.G., Dandge, C.N., Rupanar, S.V. (2011). Chemical examination and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil from *Gymnema sylvestre* R. Br. leaves. *J Essent Oil Res*, 23(3): 12-19, doi: 10.1080/10412905.2011.9700451.

- Özcan, M.M., Atalay, Ç. (2006). Determination of seed and oil properties of some poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties. *Grasas y Aceites*, 57(2), 169-174, doi: 10.3989/gya.2006.v57.i2.33.
- Peter, K.V. (2001). *Handbook of herbs and spices*. CRC Press, Abington the USA, 332 p.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26: 1231-1237, doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T.P., Maguire, A.R. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plants Food Hum Nutr*, 62: 85-91, doi: 10.1007/s11130-007-0046-8.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*, 16: 144-158.
- Şengün İ.Y., Öztürk B. (2018). Bitkisel kaynaklı bazı doğal antimikrobiyaller. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi C- Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7: 256-276, doi: 10.18036/aubtdc.407806.
- USP, (1995). The U.S. Pharmacopeia National Formulary. USP 23 NF 18, 1755 s.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9): 1199-1218, doi: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003.
- Tomas-Menor, L., Morales-Soto, A., Barrajon-Catalan, E., Roldan-Segura, C., Segura-Carretero, A., Micol, V. (2013). Correlation between the antibacterial activity and the composition of extracts derived from various Spanish *Cistus* species. *Food Chem Toxicol*, 55: 313-322, doi: 10.1016/j.fct.2013.01.006.
- Tovar, M.J., Motilva, M.J., Romero, M.P. (2001). Changes in the phenolic composition of virgin olive from young trees (*Olea europaea* L. cv. *Arbequina*) grown under linear irrigation strategies. *J Agric Food Chem*, 49 (11): 5502-5508, doi: 10.1021/jf0102416.

**FERMENTE SUCUKTAN İZOLE EDİLEN ANTİLİSTERİYAL *ENTEROCOCCUS MUNDTII* YB6.30 TARAFINDAN ÜRETİLEN BAKTERİYOSİNİN KARAKTERİZASYONU\***

**Tuba Altınkaynak, Yasin Tuncer\*\***

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

Geliş / Received: 08.06.2020; Kabul / Accepted: 15.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

Altınkaynak, T., Tuncer, Y. (2020). Fermente sucuktan izole edilen antilisteriyal *Enterococcus mundtii* YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu. GIDA (2020) 45(5) 963-976 doi: 10.15237/gida.GD20081

Altınkaynak, T., Tuncer, Y. (2020). Characterization of bacteriocin produced by antilisterial *Enterococcus mundtii* YB6.30 isolated from fermented sucuk. GIDA (2020) 45(5) 963-976 doi: 10.15237/gida.GD20081

**ÖZ**

Bu çalışmada, fermente sucuktan izole edilen antilisteriyal aktiviteye sahip *Enterococcus mundtii* YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu amaçlanmıştır. YB6.30 izolatu *Listeria* türlerinin yanı sıra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi gıda patojenlerinin de dahil olduğu çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri inhibe etmiştir. Proteolitik enzim uygulaması sonucu YB6.30 izolatu tarafından üretilen antimikrobiyal maddenin bakteriyosin olduğu belirlenmiştir. *E. mundtii* YB6.30 suşunun tanısı 16S rRNA gen dizi analizi ve türe özgü primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile yapılmıştır. Farklı sıcaklık ve pH uygulamaları sonucu bakteriyosinin ısı stabil olduğu ve geniş pH aralığında (2.0-10.0) aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bakteriyosin vankomisin dirençli *E. faecium* ATCC 51559 suşuna karşı bakterisidal etki göstermiştir. PZR denemesi sonucu *E. mundtii* YB6.30'da mundtisin KS geni varlığı tespit edilmiştir. Trisin-SDS-PAGE analizi sonucu aktif protein bandının moleküler büyüklüğü yaklaşık 7.56 kDa olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Enterococcus mundtii*, mundtisin KS, fermente sucuk, enterosin, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), Trisin-SDS-PAGE.

**CHARACTERIZATION OF BACTERIOCIN PRODUCED BY ANTILISTERIAL *ENTEROCOCCUS MUNDTII* YB6.30 ISOLATED FROM FERMENTED SUCUK**

**ABSTRACT**

In this study, the characterization of bacteriocin produced by *Enterococcus mundtii* YB6.30 with antilisterial activity isolated from fermented sucuk was aimed. The YB6.30 inhibited various Gram-positive and Gram-negative bacteria, including *Listeria* species, as well as food pathogens such as

\* Bu çalışma Tuba Altınkaynak'ın yüksek lisans tez çalışmasıdır. Bu çalışmanın bir kısmı International Young Researchers Student Congress (IYRSC 2019) Burdur/Türkiye'de sözlü sunum olarak sunulmuş ve kongre kitabında bildiri olarak basılmıştır. *This paper is MSc thesis of Tuba Altınkaynak. This study was presented as a oral presentation at the International Young Researchers Student Congress (IYRSC 2019) Burdur/Turkey, and a part of this study was published in the book of proceedings.*

\*\* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding Author

✉: yasintuncer@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 1713

☎: (+90) 246 237 0437

Tuba Altınkaynak; ORCID no: 0000-0002-6348-9662

Yasin Tuncer; ORCID no: 0000-0002-2075-5027

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* and *Escherichia coli*. As a result of proteolytic enzyme treatment, the antimicrobial substance produced by YB6.30 was identified as bacteriocin. Identification of *E. mundtii* YB6.30 was done by 16S rRNA gene sequence analysis and polymerase chain reaction (PCR) using species-specific primers. As a result of different temperature and pH treatments, it was determined that bacteriocin is heat stable and shows activity in wide pH range (2.0-10.0). Bacteriocin showed a bactericidal activity against vancomycin resistant *E. faecium* ATCC 51559. As a result of the PCR experiment, the presence of mundtisin KS gene was detected in *E. mundtii* YB6.30. Molecular size of active protein band was determined as 7.56 kDa as a result of Tricine-SDS-PAGE analysis.

**Keywords:** *Enterococcus mundtii*, mundtisin KS, sucuk (Turkish dry-fermented sausage), enterocin, polymerase chain reaction (PCR), Tricine-SDS-PAGE

## GİRİŞ

Enterokoklar pastörizasyon sıcaklığına dayanıklı olmalarının yanı sıra yüksek-düşük sıcaklık, ekstrem pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişebilme özellikleri nedeniyle hem hayvansal hem de bitkisel kökenli birçok fermente gıdadan sıklıkla izole edilebilen homofermentatif laktik asit bakterileridir (LAB) (Martín-Platero, 2009; Javed vd., 2011; Akpınar Kankaya vd., 2017). Enterokokların ekstrem çevresel koşullarda gelişebilmeleri, endüstriyel süreçlerde farklı gıda proseslerinde kullanılabilmesi açısından avantaj sağlamaktadır (Alvarez-Cisneros vd., 2011). Enterokoklar glikolitik, proteolitik, lipolitik ve nitrat redüktaz aktiviteleri ve sitrat yıkımı ile peynir ve sosis gibi fermente gıdaların üretiminde ürüne has karakteristik özelliklerin oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (Giraffa, 2003; Franz vd., 2003; Foulquié Moreno vd., 2006). Enterokoklar fermente gıdaların raf ömrünü uzatmak için koruyucu starter kültürler olarak da kullanılmaktadırlar (Abriouel vd., 2005). Enterokoklar laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal maddeler üreterek fermente gıdaların raf ömrünü uzatıp son ürünün mikrobiyel güvenliğini artırır (Martín-Platero vd., 2009; Jaouani vd., 2015). Bakteriyosinler, farklı bakteri türleri tarafından ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitlerdir (Franz vd., 2007). Enterokoklar tarafından üretilen bakteriyosinler enterosinler olarak adlandırılmaktadır. Enterokoklarda yaygın olarak karşılaşılan enterosinler; enterosin A, B, P, AS-48, L50A, L50B, 1071A, 1071B ve Q'dur (Edalatian vd., 2012; Özden Tuncer vd., 2013; Gök Charyyev vd., 2019). Başlıca enterosin üretici türler *E. faecium* ve *E. faecalis* olarak bilinse de düşük sıklıklarda olsa *E. mundtii*, *E. durans*, *E. hirae*

ve *E. avium* türleri de bakteriyosin üretmektedir (Cotter vd., 2005). Mundtisin (Bennik vd., 1998), mundtisin KS (Kawamoto vd., 2002), mundtisin CRL35 (Saavedra vd., 2004), mundtisin QU2 (Zendo vd., 2005) ve mundtisin L (Feng vd., 2009) *E. mundtii* suşları tarafından üretildiği bildirilmiş enterosinlerdir.

Bu çalışmada, fermente sucuktan izole edilen antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Mikroorganizmalar

Cins düzeyinde tanısı yapılmış fermente sucuktan izole edilen antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatu Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Bakteriyel Genetik Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. YB6.30 izolatu de Man, Rogosa and Sharpe broth (MRS, LAB M, Lancashire, UK) ortamında 37 °C'de 18 saat inkübe edilerek kültüre edilmiştir. YB6.30 izolatının antibakteriyel aktivite spektrumunun belirlenmesinde kullanılan indikatör bakteriler, kültüre edildikleri besiyeri ortamları ve gelişme sıcaklıkları Çizelge 1'de verilmiştir. Stok kültürler % 20 (v/v) steril gliserol ilave edilerek -32 °C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma kültürleri ise gliserol ilave edilmemiş besiyeri ortamlarında +4 °C'de saklanmıştır.

### Genomik DNA izolasyonu

YB6.30 izolatından genomik DNA Cancilla vd. (1992) tarafından önerilen yöntemde küçük değişiklikler yapılarak izole edilmiştir. 1 mL aktif YB6.30 kültürü 13000 g'de 5 dakika santrifüj

## E. mundtii YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu

(Sigma 2-16P, Almanya) edilmiş ve hücre peleti 0.5 mL liziz buffer ile çözülmüştür. 37 °C'de 1 saat inkübasyonun ardından, tüpe 30 µL sodyum dodesil sülfat (SDS, % 10 w/v) ilave edilmiş ve tüp 80 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Lizata 0.7 mL fenol-kloroform (1:10, v/v) ilave edilmiş ve 13000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Genomik DNA 0.7 mL 2-propanol ile presipitiye edilmiş ve 13000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Pelet 50 µL Tris-EDTA (pH 8.0) ile çözülmüş ve

kullanılincaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. DNA örneğinin agaroz jel elektroforezi % 0.7 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jelde 65 volta 1.5 saat süreyle yapılmıştır. Jel etidyum bromit (0.2 µg/mL) (Amresco Inc., Solon, OH, ABD) içeren çözeltide boyanmış ve UV transilluminator (Vilber Lourmat, ECX-F20.M, Fransa) üzerinde incelenmiştir. Jel fotoğrafı Nikon D5100 dijital fotoğraf makinesi (Nikon Corp., Japonya) kullanılarak çekilmiştir.

Çizelge 1. İndikatör bakterilerin geliştirildiği besiyeri ve inkübasyon sıcaklığı ve *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının inhibitör spektrumu

Table 1. Growth medium and incubation temperature of indicator strains, and inhibitory spectrum of *Enterococcus* spp. YB6.30 isolate

İndikatör bakteriler Indicator bacteria	Gelişme besiyeri* ve inkübasyon sıcaklığı Growth medium* and incubation temperature	YB6.30 izolatının inhibisyon zonu (Ø mm) Inhibition zone of YB6.30 (Ø mm)
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 51559	MRS, 37 °C	19
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	MRS, 37 °C	11
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	MRS, 37 °C	11
<i>Enterococcus faecalis</i> LMG 2602	MRS, 37 °C	3
<i>Enterococcus faecalis</i> LMG 2708	MRS, 37 °C	20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	TSBYE, 37 °C	14
<i>Staphylococcus carnosus</i> LMG 2709	TSBYE, 37 °C	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	TSBYE, 37 °C	13
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	TSBYE, 37 °C	15
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	TSBYE, 37 °C	4
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15813	TSBYE, 37 °C	17
<i>Listeria innocua</i> LMG 2813	TSBYE, 30°C	16
<i>Escherichia coli</i> LMG 3083 (ETEC)	TSBYE, 37 °C	6
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	TSBYE, 37 °C	7
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25828	TSBYE, 37 °C	6
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	TSBYE, 37 °C	7
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	TSBYE, 37 °C	6
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	TSBYE, 37 °C	6
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	TSBYE, 37 °C	-
<i>Micrococcus luteus</i> RSK 1123	GM17, 30 °C	9

\*MRS: de Man, Rogosa and Sharpe broth; GM17: M17 broth (% 0.5 glukoz); TSBYE: Triptone Soy broth (% 0.5 maya ekstraktı)

\*MRS: de Man, Rogosa and Sharpe broth; GM17: M17 broth (containing 0.5 % glucose); TSBYE: Triptone Soy broth (containing 0.5 % yeast extract)

### ***Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının tür düzeyinde tanısı**

*Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının tür düzeyinde tanısı 16S rRNA gen dizi analizi ile yapılmıştır. 16S rRNA gen bölgesinin PZR ile çoğaltılmasında Edwards vd. (1989) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. İzolatın tür düzeyinde tanısı

Jackson vd. (2004) tarafından önerilen *E. mundtii* türüne özgü primer çifti kullanılarak desteklenmiştir. *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının tür düzeyinde tanısında kullanılan primer çiftleri, ürün büyüklükleri ve PZR koşulları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan PZR primerleri, ürün büyüklükleri ve PZR koşulları  
 Table 2. PCR primers, product sizes and PCR protocols used in this study

Gen <i>Gene</i>	Primer sekansları (5'-3') <i>Primer sequences (5'-3')</i>	Ürün büyüklüğü (bç) <i>Product size (bp)</i>	PZR protokolü <i>PCR protocol</i>
<i>16S rDNA</i>	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG CCGTC AATTCCTTTGAGTTT	921	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 2dk; 30 döngü 94°C'de 30 sn, 55°C'de 60 sn, 72°C'de 90 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>sodA</i> <i>E. mundtii</i>	CAGACATGGATGCTATTCCATCT GCCATGATTTTCCAGAAGAAT	98	Başlangıç denatürasyonu 95°C'de 5dk; 30 döngü 95°C'de 30 sn, 60°C'de 60 sn, 72°C'de 60 sn; son uzama 72°C'de 7 dk
<i>entA</i>	AAATATTATGGAAATGGAGTGTAT GCACITCCCTGGAATTGCTC	126	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 56°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entB</i>	GAAAATGATCACAGAATGCCTA GTTCATTTAGAGTATACATTTG	162	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 50°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entP</i>	TATGGTAATGGTGTATTATGTAAT ATGTCCCATACCTGCCAAAC	120	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 50°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entL50A/B</i>	TGGGAGCAATCGCAAAATTAG ATTGCCCATCCTTCTCCAAT	98	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 52°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>bac31</i>	TATTACGGAAATGGTTTATATTGT TCTAGGAGCCCAAGGGCC	123	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 50°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entAS48</i>	GAGGAGTTTCATGATTTAAAGA CATATIGTTAAATTACCAAGCAA	340	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 50°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entQ</i>	ATGAATTTTCTTCTTAAAAATGGTATCGCA TTAACAAGAAATTTTTCCTATGGCAA	105	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 56°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>ent1071A/B</i>	CCTATTGGGGGAGAGTCGGT ATACATTCCTCCACTTATTTTT	343	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 51°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>munKS</i>	TGAGAGAAGGTTTAAAGTTTTGAAGAA TCCACTGAAATCCATGAATGA	380	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 55°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk
<i>entCRL35</i>	GCAAACCGATAAGAATGTGGGAT TATACATTTGTCCCCACAACC	490	Başlangıç denatürasyonu 94°C'de 5dk; 35 döngü 94°C'de 60 sn, 55°C'de 60 sn, 72°C'de 40 sn; son uzama 72°C'de 10 dk



PZR işlemleri TurboCycler 2 (Blue-Ray Biotech. Corp., Taipei city, Tayvan) termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin PZR fragmentinin elektroforezi % 1 (w/v), *E. mundtii* türüne özgü primer çifti kullanılarak çoğaltılan PZR fragmentinin elektroforezi ise % 2 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jellerde yapılmıştır. Elektroforez işlemlerinde Thermo Minicell®Primo EC320 tank sistemi kullanılmıştır. Jeller etidyum bromit ile boyanmış ve UV ışık altında fotoğraflanmıştır. Fragment büyüklükleri O'GeneRuler™ 100-bp DNA marker (Thermo, #SM1153) ve Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll Bldg, GA-010, Seul, Kore) kullanılarak belirlenmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin PZR fragmentinin sekans analizi Oligomer Biyoteknoloji Ltd. Şti. (ODTÜ Teknokent, Ankara)'inde yaptırılmış ve dizi benzerliği Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programında analiz edilmiştir.

#### **Antibakteriyel aktivite spektrumu**

*E. mundtii* YB6.30 suşunun antibakteriyel aktivite spektrumu Çizelge 1'de verilen 20 indikatör bakteriye karşı test edilmiştir. Antibakteriyel aktivite testi için, YB6.30 kolonileri MRS agar ortamına steril kürdan aracılığı ile inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen koloninin üzeri uygun besiyeri ortamında geliştirilmiş 100 µL indikatör bakteri içeren 5 mL yumuşak agar ile kaplanmıştır. Petri kutuları indikatör bakterilerin geliştiği uygun sıcaklıkta 18 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda YB6.30 kolonisi etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüştür (van Belkum vd., 1989).

#### **Antibakteriyel maddenin protein doğasının belirlenmesi**

*E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen antibakteriyel maddenin protein doğası proteolitik enzim uygulaması ile belirlenmiştir. MRS brtoh ortamında 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek geliştirilen *E. mundtii* YB6.30 kültürü 10000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve 0.45 µm por çaplı membran filtreden (Sartorius, Almanya) geçirilerek steril kültür üst sıvısı elde edilmiştir. MRS agar ortamına 20 µL steril kültür üst sıvısı ve yaklaşık 1 cm uzağına enzim konsantrasyonu 50 mg/mL olacak şekilde hazırlanmış pepsin (pH

3.0), tripsin (pH 7.0), proteinaz K (pH 7.0), α-kemotripsin (pH 7.0) veya katalaz (pH 7.0) enzim çözeltisinden 20 µL damlatılmış ve petri kutuları oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda petri kutuları 100 µL *E. faecium* ATCC 51559 inoküle edilmiş MRS yumuşak agar ortamı ile kaplanmıştır. 37 °C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda, yarım ay şeklinde görülen inhibisyon zonları kültür üst sıvısının proteolitik enzimlere duyarlı olduğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Ryan vd., 1996).

#### **Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH, enzim ve sıcaklık uygulamalarının etkisi**

Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH, enzim ve sıcaklık uygulamalarının etkisi Franz vd. (1997) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH'nın etkisini belirlemek için kültür üst sıvısının pH'sı 2.0-11.0 değerleri arasında ayarlanmıştır. pH'sı ayarlanmamış kültür üst sıvısı kontrol olarak kullanılmıştır. Bakteriyosin aktivitesi üzerine enzim uygulamasının etkisinin belirlenmesi için steril kültür üst sıvısına son enzim konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde proteinaz K (pH 7.0), tripsin (pH 7.0), α-kemotripsin (pH 7.0), pepsin (pH 3.0), α-amilaz (pH 7.0), lipaz (pH 7.0), katalaz (pH 7.0) veya lizozim (pH 7.0) çözeltisi ilave edilmiştir. Tüpler 37 °C'de 2 saat boyunca inkübasyona bırakılmış ve enzim aktiviteleri 100 °C'de 5 dakika ısı uygulaması ile sonlandırılmıştır. Denemelerde enzim uygulanmamış kültür üst sıvısı kontrol olarak kullanılmıştır. Sıcaklık uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi steril kültür üst sıvılarının 100 °C'de 5, 10, 15 ve 20 dakika ısı işleme tabi tutulmasıyla belirlenmiştir. Kontrol olarak sıcaklık uygulanmamış kültür üst sıvısı kullanılmıştır. pH, enzim ve sıcaklık uygulaması sonucu kalan bakteriyosin aktivitesinin belirlenmesinde kritik dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Kritik dilüsyon yönteminde indikatör bakteri olarak *E. faecium* ATCC 51559 kullanılmıştır.

#### **Bakteriyosin yapısal genlerinin PZR ile belirlenmesi**

*E. mundtii* YB6.30 suşunda bilinen enterosin yapısal genlerinin varlığı, enterosin A (*entA*), B

(*entB*), P (*entP*), Q (*entQ*), L50A/B (*entL50A/B*), 1071A/B (*ent1071A/B*), AS48 (*entAS48*), CRL35 (*entCRL35*), bakteriyosin 31 (*bac31*) ve mundtisin KS (*munKS*) bakteriyosinlerine özgü primer çiftleri kullanılarak PZR ile araştırılmıştır (Saavedra vd., 2004; Yousif vd., 2005; Zendo vd., 2005; Ben Belgacem vd., 2010). Bakteriyosin yapısal genlerinin belirlenmesinde kullanılan PZR primerleri, ürün büyüklükleri ve PZR protokolleri Çizelge 2’de verilmiştir. PZR fragmentlerinin elektroforezi % 2 (w/v) agaroz oranı ile hazırlanan jelde yapılmıştır. Denemelerde enterosin üreticisi *E. faecium* EYT31 (*entA*<sup>+</sup>, *entB*<sup>+</sup>, *entP*<sup>+</sup>) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Özden Tuncer vd., 2013).

### Bakteriyosin üretimi

Bakteriyosin üretiminin belirlenmesi için *E. mundtii* YB6.30 suşu 100 mL MRS broth ortamına inoküle (%1, v/v) edilmiş ve 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona bırakılan kültürden her saat başı olmak üzere 12 saat boyunca örnek alınmış ve kültürün optik yoğunluğu ve bakteriyosin üretim miktarı belirlenmiştir. Kültürün optik yoğunluğu Shimadzu 1600 UV/VIS spektrofotometre (Japonya) kullanılarak 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Bakteriyosin üretim miktarı kritik dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. İndikatör bakteri olarak *E. faecium* ATCC 51559 suşu kullanılmıştır (Todorov ve Dicks, 2005).

### Hücre liziz

Hücre liziz denemesi için 20 mL *E. mundtii* YB6.30 steril kültür üst sıvısı erken gelişme fazına kadar geliştirilen 100 mL *E. faecium* ATCC 51559 kültürüne ilave edilmiş ve 12 saat süreyle inkübe edilmiştir. Kültürün optik yoğunluğu birer saat arayla spektrofotometre (Shimadzu) ile 600 nm’de ölçülmüştür. *E. mundtii* YB6.30 steril kültür üst sıvısı ilave edilmemiş *E. faecium* ATCC 51559 kültürü kontrol olarak kullanılmıştır (Todorov ve Dicks, 2005).

### Bakteriyosinin kısmi saflaştırılması

MRS broth ortamında 37 °C’de bir gece kültüre edilmiş 100 mL *E. mundtii* YB6.30 kültürü 15000 g’de 20 dakika santrifüj edilmiş ve kültür üst sıvısının pH’sı 6.5’e ayarlanmıştır. Nötralize

edilmiş kültür üst sıvısına 40 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck, Darmstadt, Almanya) yavaş yavaş ilave edilmiş ve 4 °C’de bir gece karıştırılmıştır. Ertesi gün doyurulmuş kültür üst sıvısı 4 °C’de 15000 g’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Yüzey peletleri ve dip peleti 5 mL sodyum fosfat tampon (pH 7.0) ile çözülmüştür. Karışım üzerine 75 mL metanol/kloroform (1:2, v/v) çözeltisi ilave edilerek 4 °C’de 1 saat ekstrakte edilmiştir. Daha sonra örnek 4 °C’de 15000 g’de 45 dakika santrifüj edilmiş ve oluşan pelet oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulmuş pelet 1 mL steril ultra saf suda çözülerek -20 °C’de muhafaza edilmiştir (Foulquié Moreno vd., 2003).

### Trisin-SDS-PAGE ve aktif protein bandının tespiti

Bakteriyosinin moleküler büyüklüğü Schagger ve von Jagow, (1987) tarafından önerilen Trisin-SDS-PAGE yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elektroforez işlemi Thermo OWL™ P81 dikey tank sisteminde % 9.8’lik toplayıcı jel ve % 16.5’lik ayırıcı jel hazırlanarak tris-trisin-SDS tamponu (Sigma, T1165, Steinheim, Almanya) eşliğinde gerçekleştirilmiştir. Toplayıcı jel için 30 volt, ayırıcı jel için 90 volt elektrik akımı uygulanmıştır. Jel kuyularına kısmi saflaştırılması yapılmış bakteriyosin örneğinden 10 µL aktarılmıştır. Elektroforez işlemi sonrası jel iki ayrı parçaya ayrılmış ve parçalardan biri peptid bantlarının büyüklüğünün belirlenmesi için Coomassie brilliant blue R250 (Merck) çözeltisi ile boyanmıştır. Boyanmamış jel parçası aktif protein bandının tespiti için kullanılmıştır. Bunun için jel steril ultra saf su ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkanan jel, besiyeri ile jel arasında boşluk kalmayacak şekilde MRS agar bulunan petri kutusuna (Ø 14 cm) yerleştirilmiş ve yüzeyi *E. faecium* ATCC 51559 inoküle edilmiş 20 mL MRS yumuşak agar ile kaplanmıştır. Petri kutusu 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda jel üzerinde oluşan inhibisyon zonu incelenmiştir (Tuncer ve Özden, 2010).

### SONUÇ VE TARTIŞMA

Fenotipik yöntemlerle cins düzeyinde tanısı yapılmış olan antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının tür düzeyinde tanısı 16S rRNA gen dizi analizi ve türe özgü

primer çifti kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile yapılmıştır. *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatında 16S rRNA gen bölgesinin PZR ile çoğaltılmış ampikonunun DNA dizisi BLAST programında analiz edilmiş ve *Enterococcus mundtii* ile % 96 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. YB6.30 izolatının tür düzeyinde tanısı *E. mundtii* türüne özgü primer çifti kullanılarak PZR ile desteklenmiştir. Türe özgü PZR analizi sonucu YB6.30 suşunun *E. mundtii* türüne özgü primer çifti ile 98 bç büyüklüğünde ampikonlar verdiği agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatı *Enterococcus mundtii* olarak tanımlanmıştır. Geçmiş yıllarda yapılan benzer çalışmalarda da başta geleneksel peynir (Parada vd., 2007; İşleroglu vd., 2012; Özden Tuncer vd., 2013; Favaro vd., 2014; Avcı ve Özden Tuncer, 2017) ve fermente sosis (Paramithiotis vd., 2014) olmak üzere çiğ süt (Tuncer vd., 2014) ve boza (Gök Charyyev vd., 2019) gibi farklı gıda örneklerinden antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus* türleri izole edilmiştir. Ancak söz konusu çalışmalarda bakteriyosin üretimi *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinde daha sık tanımlanan bir özellik olarak dikkati çekmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamında kullanılan antilisterial aktiviteye sahip *Enterococcus* spp. YB6.30 izolatının *E. mundtii* olarak tanımlanması önemlidir. Günümüze kadar bakteriyosin üreticisi olduğu belirlenmiş sınırlı sayıda *E. mundtii* suşu rapor edilmiştir (Kawamoto vd., 2002; De Kwaadsteniet vd., 2005; Ferreira vd., 2007; Espeche vd., 2014; Settanni vd., 2014). Söz konusu çalışmalarda kullanılan *E. mundtii* suşları genellikle bitkisel kökenli izolatlardır. İstisnai olarak Ferreira vd. (2007) tarafından kullanılan *E. mundtii* suşları insan dışkısu izolatı, Espeche vd. (2014) tarafından kullanılan *E. mundtii* CRL1656 suşu ise sağlıklı sığır izolatıdır. *E. mundtii* YB6.30 suşu fermente sucuktan izole edilen ilk bakteriyosin üreticisi *E. mundtii* suşudur.

Aktivite spektrumu belirleme çalışması sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşunun *Listeria innocua*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi gıda patojenlerinin de dahil

olduğu çeşitli Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri inhibe ettiği belirlenmiştir (Çizelge 1). *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen antibakteriyel maddenin Gram-pozitif gıda patojenlerinin yanı sıra *Salmonella* ve *E. coli* suşlarına karşı da inhibitör etki göstermesi dikkat çekicidir. LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin Gram-negatif bakteriler üzerine inhibitör etki gösterdiğini bildiren sınırlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen bazı *Enterococcus* türleri tarafından üretilen enterosinlerin Gram-pozitif bakterilerin yanı sıra Gram-negatif bakterilere karşı da antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (De Kwaadsteniet vd., 2005; Ferreira vd., 2007; Alvarez-Cisneros vd., 2011; M'hir vd., 2011; H-Kittikun vd., 2014; Schelegueda vd., 2015; Avcı ve Özden Tuncer, 2017).

Proteolitik enzim uygulaması sonucu, *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen antibakteriyel maddenin katalaz enziminden etkilenmediği ancak proteinaz K, pepsin,  $\alpha$ -kemotripsin ve tripsin ile aktivite kaybına uğradığı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular antibakteriyel aktivitenin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı olmadığını, YB6.30 suşu tarafından üretilen antibakteriyel maddenin protein yapıda (bakteriyosin) olduğunu göstermiştir. Bakteriyosinler protein doğaları nedeniyle proteolitik enzim uygulamaları sonucu kısmen veya tamamen aktivitelelerini kaybetmektedirler (Ben Belgacem vd., 2010). Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin proteinaz K, tripsin,  $\alpha$ -kemotripsin ve pepsin gibi proteolitik enzimlerle muamele edilmeleri sonucunda aktivitelelerini kısmen ya da tamamen kaybettikleri rapor edilmiştir (Kawamoto vd., 2002; De Kwaadsteniet vd., 2005; Ferreira vd., 2007; H-Kittikun vd., 2014; Gök Charyyev vd., 2019).

Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH, enzim ve sıcaklık uygulamalarının etkisi Çizelge 3'de verilmiştir. Bakteriyosin aktivitesi üzerine pH'nın etkisinin test edildiği denemeler sonucu *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin pH 2.0-9.0 aralığında aktivitesini koruduğu, pH 10.0'da aktivitesinin % 50 oranında azaldığı ve pH

11.0'de ise aktivitesini kaybettiği belirlenmiştir. Benzer olarak farklı çalışmalarda da enterosinlerin genellikle pH 2.0 ile 10.0 arasında aktivitesini koruduğu bildirilmiştir (Zendo vd., 2005; Ferreira vd., 2007; Strompfová ve Lauková, 2007; Javed vd., 2011; Ahmadova vd., 2013; Gök Charyyev vd., 2019). Enzim uygulaması sonucu bakteriyosinin katalaz, lizozim ve lipaz enzimlerine karşı aktivitesini korurken proteinaz K, pepsin,  $\alpha$ -kemotripsin, tripsin ve  $\alpha$ -amilaz enzimleri ile muamele edildiğinde aktivitesini tamamen kaybettiği belirlenmiştir. Enterosinlerin protein doğaları nedeniyle proteolitik enzimler ile muamele edildiklerinde aktivite kaybına uğradığı, lipaz, katalaz ve lizozim enzimlerinden ise etkilenmediği bildirilmiştir (Kawamoto vd., 2002; Parada vd., 2007; Javed vd., 2011; Chen vd., 2013; Ahmadova vd., 2013; Gök Charyyev vd., 2019). *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin aktivitesi üzerine lipaz enziminin etkisiz olması üretilen bakteriyosinin yapısında lipid bulunmadığını göstermektedir. Diğer taraftan üretilen bakteriyosinin  $\alpha$ -amilaz enzimi uygulaması sonucu aktivitesini kaybetmesi bakteriyosin aktivitesi için karbonhidrat yapının gerekli olduğunu göstermektedir. Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda da  $\alpha$ -amilaz'a duyarlı glikoprotein bakteriyosinler bildirilmiştir (Tuncer ve Özden, 2010; Seo vd., 2014; Heredia-Castro vd., 2015; Gök Charyyev vd., 2019). Sıcaklık uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisinin araştırıldığı denemeler sonucu, bakteriyosinin 100 °C'de 5, 10, 15 ve 20 dakika sıcaklık uygulamalarında aktivitesini koruduğu (ısı stabil olduğu) belirlenmiştir. Enterosinler ısı stabil bakteriyosinlerdir. Çoğu enterosinin 121 °C'de 15 dakika ısı işlem uygulaması sonucu aktivite kaybına uğramadığı rapor edilmiştir (Kawamoto vd., 2002; Parada vd., 2007; H-Kittikun vd., 2014; Schelegueda vd., 2015; Gök Charyyev vd., 2019). *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin geniş pH aralığında aktivite göstermesi ve ısı stabil olması gıda proseslerinde kullanımı açısından önemli bir avantajdır.

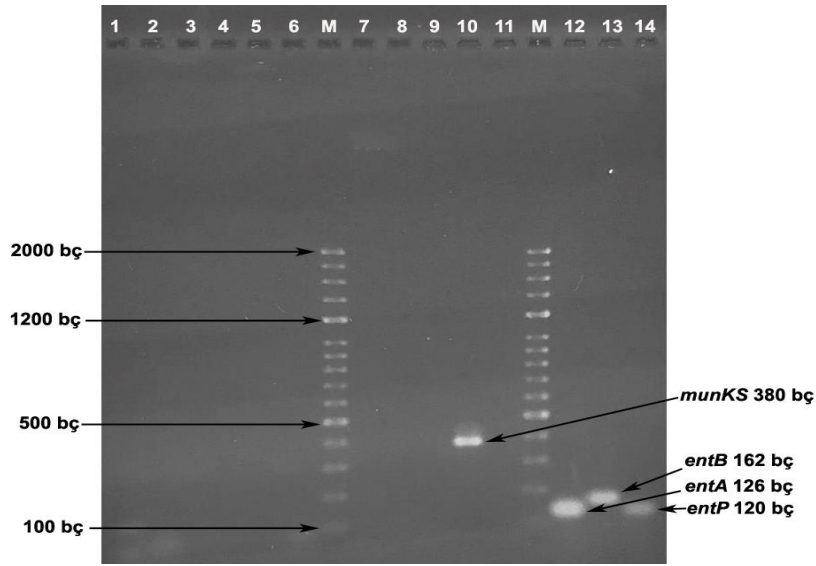
Bilinen enterosin primer çiftleri kullanılarak yapılan PZR denemeleri sonucunda *E. mundtii* YB6.30 suşundan mundtisın KS üretiminden sorumlu *munKS* genine özgü 380 bp

büyükliğünde ampikon elde edilmiştir. PZR denemelerinde kullanılan diğer primer çiftleri ile herhangi bir ampikon elde edilememiştir (Şekil 1). Bu bulgular *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin mundtisın KS olduğunun güçlü delili olarak kabul edilmiştir. Günümüze kadar *E. mundtii* suşlarında mundtisın (Bennik vd., 1998), mundtisın KS (Kawamoto vd., 2002), mundtisın CRL35 (Saavedra vd., 2004), mundtisın QU2 (Zendo vd., 2005) ve mundtisın L (Feng vd., 2009) olmak üzere sınırlı sayıda bakteriyosin tanımlanmıştır.

Çizelge 3. *E. mundtii* YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin aktivitesi üzerine pH, enzim ve sıcaklık uygulamalarının etkisi

Table 3. The effects of pH, enzyme and heat treatments on the activity of the bacteriocin produced by *E. mundtii* YB6.30

Muamele <i>Treatment</i>	Bakteriyosin Aktivitesi (AU/mL) <i>Bacteriocin activity</i> (AU/mL) <i>E. mundtii</i> YB6.30
Kontrol/ <i>Control</i>	800
pH	
2	800
3	800
4	800
5	800
6	800
7	800
8	800
9	800
10	400
11	0
Enzim/ <i>Enzyme</i>	
Proteinaz K/ <i>Proteinase K</i>	0
Pepsin/ <i>Pepsin</i>	0
Lizozim/ <i>Lysozyme</i>	800
$\alpha$ -Kemotripsin/ <i><math>\alpha</math>-Chymotrypsin</i>	0
Tripsin/ <i>Trypsin</i>	0
$\alpha$ -Amilaz/ <i><math>\alpha</math>-Amylase</i>	0
Lipaz/ <i>Lipase</i>	800
Katalaz/ <i>Catalase</i>	800
Sıcaklık/ <i>Heat</i>	
100°C 5 dk /100°C 5 min	800
100°C 10 dk /100°C 10 min	800
100°C 15 dk /100°C 15 min	800
100°C 20 dk /100°C 20 min	800



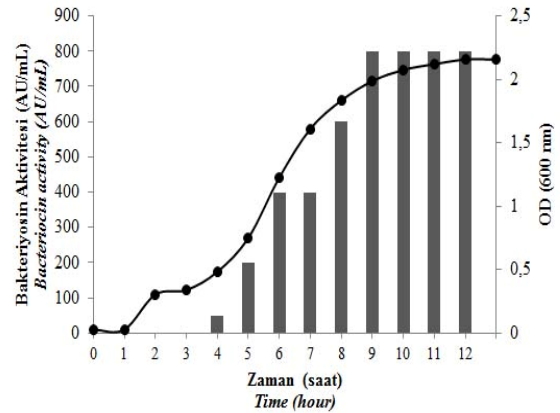
Şekil 1. *E. mundtii* YB6.30 suşunda bilinen enterosin yapısal genlerinin PZR ile tespiti (1-10: *E. mundtii* YB6.30, 12-14: *E. faecium* EYT31 (pozitif kontrol))

1: *entA*; 2: *entB*; 3: *entP*; 4: *entL50A/B*; 5: *bac31*; 6: *entAS48*; M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Kore); 7: *entQ*; 8: *ent1071A/B*; 9: *entCRL35*; 10: *munKS* (380 bp); 11: negatif kontrol (su); M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Kore); 12: *entA* (126 bp); 13: *entB* (162 bp); 14: *entP* (120 bp)

Figure 1. Detection of known enterocin structural genes in *E. mundtii* YB6.30 strain by PCR (1-10: *E. mundtii* YB6.30, 12-14: *E. faecium* EYT31 (positive control))

1: *entA*; 2: *entB*; 3: *entP*; 4: *entL50A/B*; 5: *bac31*; 6: *entAS48*; M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 7: *entQ*; 8: *ent1071A/B*; 9: *entCRL35*; 10: *munKS* (380 bp); 11: negative control (water); M: Genesta™ 100 bp DNA marker (GeneAll, Korea); 12: *entA* (126 bp); 13: *entB* (162 bp); 14: *entP* (120 bp)

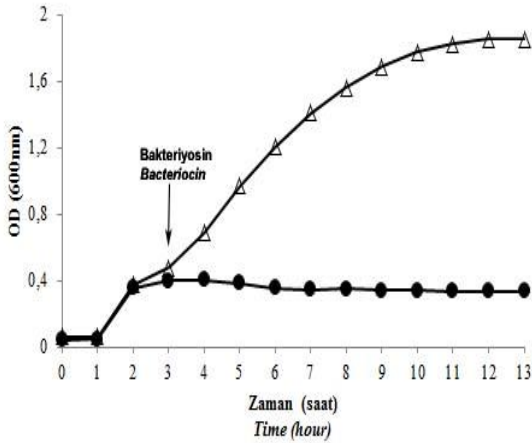
Bakteriyosin üretiminin belirlenmesi üzerine yapılan denemelerde *E. mundtii* YB6.30 suşunun inkübasyonun 4. saati sonunda 50 AU/mL düzeyinde bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir. İnkübasyonun ilerleyen saatlerinde bakteriyosin aktivitesinin hücre yoğunluğunun artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir. En yüksek bakteriyosin aktivitesi olan 800 AU/mL kültür yoğunluğunun 1.987 değerine ulaştığı 9. saatin sonunda tespit edilmiştir (Şekil 2). Bakteriyosin üretiminin gelişme fazında başlamış ve gelişme fazının sonunda maksimum seviyeye ulaşmış olması *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin primer metabolit kinetiğine sahip olduğunu işaret etmektedir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da *Enterococcus* türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin primer metabolit kinetiğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Ferreira vd., 2007; Martín-Platero vd., 2009; Chen vd., 2013; Espeche vd., 2014; Gök Charyyev vd., 2019).



Şekil 2. *E. mundtii* YB6.30 suşunun 37°C'de kontrolsüz pH'da bakteriyosin üretimi (optik yoğunluk 600 nm'de (içi dolu daire), bakteriyosin üretimi AU/mL cinsinden (içi dolu sütun)).

Figure 2. Bacteriocin production of *E. mundtii* YB6.30 strain at uncontrolled pH at 37°C (optical density at 600 nm (filled circle), bacteriocin production as AU/mL (filled column)).

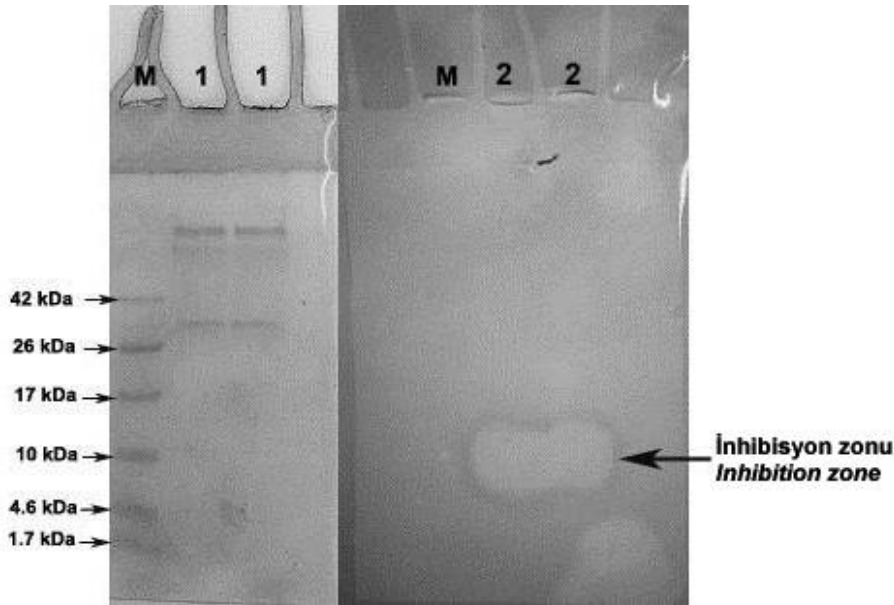
Hücre liziz çalışması ile *E. faecium* ATCC 51559 kültürünün optik yoğunluğunun bakteriyosin içeren kültür üst sıvısının ilave edilmesini takiben düşmeye başladığı ve bu inhibisyonun 12. saatin sonuna kadar devam ettiği tespit edilmiştir (Şekil 3). Elde edilen bulgular ışığında *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin *E. faecium* ATCC 51559 suşuna karşı bakterisidal etki gösterdiği belirlenmiştir. *Enterococcus* suşları tarafından üretilen bakteriyosinlerin duyarlı indikatör bakterilere karşı bakterisidal etki gösterdiği farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da tespit edilmiştir (Alvarez-Cisneros vd., 2011; Javed vd., 2011; Ahmadova vd., 2013; Favaro vd., 2014; Ndlovu vd., 2015; Gök Charyyev vd., 2019).



Şekil 3. *E. mundtii* YB6.30 kültür üst sıvısının, kültür üst sıvısı ilave edilmemiş (içi dolu daire) ve edilmiş (içi boş üçgen) *E. faecium* ATCC 51559'un gelişmesi üzerine etki şekli. Ok bakteriyosin içeren kültür üst sıvısının ilave edildiği noktayı göstermektedir.

Figure 3. Mode of action of cell free supernatant of *E. mundtii* YB6.30 on growth of *E. faecium* ATCC 51559 without cell free supernatant (filled circle) and with cell free supernatant (open triangle). The arrow indicates the point at which cell free supernatant containing active bacteriocin was added.

*E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen kısmi saflaştırılması yapılmış bakteriyosinin moleküler büyüklüğü Trisin-SDS-PAGE yöntemi ile belirlenmiştir (Schägger ve von Jagow, 1987). Aktif protein bandının moleküler büyüklüğü yaklaşık 7.56 kDa olarak tespit edilmiştir (Şekil 4). Yapılan çalışmalar günümüze kadar tanımlanmış grup IIa üyesi enterosinlerin moleküler büyüklüklerinin 10 kDa'dan küçük olduğunu göstermiştir (Eijsink vd., 2002; Ferreira vd., 2007; Gök Charyyev vd., 2019). Elde edilen sonuç da bunu destekler niteliktedir. Kawamoto vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada *E. mundtii* NFRI 7393 suşu tarafından üretilen amonyum sülfat çöktürmesi, katyon-değişim kromatografisi, aseton çöktürmesi ve sıvı-faz ekstraksiyonu ile saflaştırılmış mundtisinin KS'nin Trisin-SDS-PAGE ile tek aktif protein bandı verdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar amino asit ve nükleotit dizilerini esas alarak mundtisinin KS'nin yaklaşık 4290 Da moleküler büyüklüğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin saflaştırılmasında sadece amonyum sülfat çöktürmesi yapılmış olması bakteriyosinin Trisin-SDS-PAGE'de göçünü etkilemiş olabileceği düşünülmektedir. Benzer olarak Huang vd. (2016), sadece amonyum sülfat çöktürmesi yaparak kısmi saflaştırmasını yaptıkları *Bacillus thuringiensis* BRC-ZYR2 suşu tarafından üretilen thurisin BtCspB bakteriyosininin moleküler büyüklüğünü Trisin-SDS-PAGE ile <14.4 kDa olarak tespit etmişken, anyon değişim kromatografisi ile saflaştırılmış bakteriyosinin moleküler ağırlığını Trisin-SDS-PAGE ile 7 kDa olarak tespit etmişlerdir. Bu nedenle ileride yapılacak çalışma ile *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin moleküler büyüklüğünün kesinlik kazanması için amonyum sülfat çöktürmesini takiben kromatografik saflaştırma proseslerinin de uygulanması gerekmektedir.



Şekil 4. Kısmi saflaştırılması yapılmış bakteriyosinin Trisin-SDS-PAGE ile ayrımı. M: multicolour low range protein marker (fermentas), 1: protein bantları; 2: TSBYE yumuşak agarda *E. faecium* ATCC 51559'in inhibisyonu (ok).

Figure 4. Separation of partially purified bacteriocin by tricine-SDS-PAGE. M: multicolour low range protein ladder (fermentas), 1: protein bands; 2: inhibition of *E. faecium* ATCC 51559 (arrow), embedded in TSBYE soft agar.

## SONUÇ

Bu çalışmada antilisterial aktiviteye sahip *E. mundtii* YB6.30 suşu tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu yapılmıştır. Geniş aktivite spektrumuna sahip mundtisin KS üreticisi olduğu tespit edilen *E. mundtii* YB6.30 suşu gıda güvenliğini geliştirmek amaçlı fermente gıda üretiminde starter ya da yardımcı starter kültür olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Kasap ve Tuncer (2019) tarafından yapılan çalışmada, mundtisin KS üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanımının güvenli olduğu belirtilmiştir. İleride yapılacak çalışmalar ile mundtisin KS üreticisi *E. mundtii* YB6.30 suşunun gıda üretim proseslerinde starter/yardımcı starter kültür olarak kullanımının test edilmesi gerekmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı FYL-2018-5761 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne teşekkür ederiz.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## YAZAR KATKILARI

YT, çalışma konusunu belirlemiş ve deneysel çalışma düzenini planlamıştır. TA ve YT deneysel çalışmalarını gerçekleştirmiştir. TA makalenin taslağını oluşturmuş, YT makalenin inceleme-düzenleme aşamalarında danışman olarak katkı sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

## KAYNAKLAR

Abriouel, H., Ben Omar, N., Lucas, R., Martínez-Cañamero, M., Gálvez, A. (2005). Bacteriocin production, plasmid content and plasmid location of enterocin P structural gene in *Enterococci* isolated from food sources. *Lett Appl Microbiol*, 42(4), 331-337.

Ahmadova, A., Todorov, S.D., Choiset, Y., Rabesona, H., Zadi, T.M., Kuliyeu, A., de Melo Franco, B.D.G., Chobert, J.M., Haertle, T. (2013). Evaluation of antimicrobial activity, probiotic

- properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani motal cheese. *Food Control*, 30(2), 631-641.
- Akpınar Kankaya, D., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. (2017). Gıda kaynaklı enterokokların potansiyel risk faktörleri. *GIDA*, 42(1), 8-19.
- Alvarez-Cisneros, Y.M., Sáinz Espuñes, T.R., Wachter, C., Fernandez, F.J., Ponce-Alquicira, E. (2011). Enterocins: bacteriocins with applications in the food industry. In: *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*. Méndez-Vilas, A. (ed.), Formatex Research Center, Badajoz, Spain, pp. 1330-1341.
- Avcı, M., Özden Tuncer, B. (2017). Safety evaluation of enterocin producer *Enterococcus* sp. strains isolated from traditional Turkish cheeses. *Pol J Microbiol*, 2, 223-233.
- Ben Belgacem, Z., Abriouel, H., Omar, N.B., Lucas, R., Martínez-Canamero, M., Gálvez, A., Manai, M. (2010). Antimicrobial activity, safety aspects and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21(4), 462-470.
- Bennik, M.H.J., Vanloo, B., Brasseur, R., Gorris, L.G.M., Smid, E.J. (1998). A novel bacteriocin with a YGNGV motif from vegetable-associated *Enterococcus mundtii*: full characterization and interaction with target organisms. *Biochim Biophys Acta*, 1373, 47-58.
- Cancilla, M.R., Powell, I.B., Hillier, A.J., Davidson, B.E. (1992). Rapid genomic fingerprinting of *Lactococcus lactis* strains by arbitrarily primed polymerase chain reaction with 32P and fluorescent labels. *Appl Environ Microbiol*, 58(5), 1772-1775.
- Chen, Y., Yu, C., Ji, S., Liou, M., Leong, K., Pan, S., Wu, H., Lin, Y., Yu, B., Yanagida, F. (2013). Enterocin T, a novel class IIa bacteriocin produced by *Enterococcus* sp. 812. *Arch Microbiol*, 195:655-660.
- Cotter, P.D., Hill, C., Ross, R.P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*, 3, 777-788.
- De Kwaadsteniet, M., Todorov, S.D., Knoetze, H., Dicks, L.M.T. (2005). Characterization of a 3944 Da bacteriocin, produced by *Enterococcus mundtii* ST15, with activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Int J Food Microbiol*, 105, 433-444
- Edalatian, R.M., Najafi, M.B.H., Mortazavi, S.A., Alegria, A., Delgado, S., Bassami, M.R., Mayo, B. (2012). Production of bacteriocins by *Enterococcus* spp. isolated from traditional, Iranian, raw milk cheeses, and detection of their encoding genes. *Eur Food Res Technol*, 234, 789-796.
- Edwards, U., Rogall, T., Blocker, H., Emde, M., Bottger, E.C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res*, 17, 7843-7853.
- Eijsink, V. G.H., Axelsson, L., Diep, D. B., Håvarstein, L. S., Holo, H., Nes, I. F. (2002). Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Anton Leeuw*, 81, 639-654.
- Espeche, M.C., Tomás, M.S.J., Wiese, B., Bru, E., Nader-Macias, M.E.F. (2014). Physicochemical factors differentially affect the biomass and bacteriocin production by bovine *Enterococcus mundtii* CRL1656. *J Dairy Sci*, 97, 789-797.
- Favaro, L., Basaglia, M., Casella, S., Hue, I., Dousset, X., Franco, B.D.G.de M. (2014). Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. *Food Microbiol*, 38, 228-239.
- Feng, G., Guron, G.K., Churey, J.J., Worobo, R.W. (2009). Characterization of mundticin L, a class IIa anti-*Listeria* bacteriocin from *Enterococcus mundtii* CUGF08. *Appl Environ Microbiol*, 75, 5708-5713.
- Ferreira, A.E., Canal, N., Morales, D., Fuentesfria, D.F., Corção, G. (2007). Characterization of enterocins produced by *Enterococcus mundtii* isolated from humans feces. *Braz Arch Biol Technol*, 50(2), 249-258.
- Foulquié Moreno, M.R., Callewaert, R., Devreese, B., Van Beeumen, J., De Vuyst, L. (2003).



- Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources. *J Appl Microbiol*, 94, 214-229.
- Foulquié Moreno, M.R, Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol*, 106(1), 1-24.
- Franz, C.M.A.P., Du Toit, M., von Holy, A., Schillinger, U., Holzapfel, W.H. (1997). Production of nisin-like bacteriocins by *Lactococcus lactis* strains isolated from vegetables. *J Basic Microbiol*, 37, 187-196.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H. (2003). *Enterococci* in foods-a conundrum for food safety. *Int J Food Microbiol*, 88, 105-122.
- Franz, C.M.A.P., van Belkum, M.J., Holzapfel, W.H., Abriouel, H., Gálvez, A. (2007). Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme. *FEMS Microbiol Rev*, 31(3), 293-310.
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int J Food Microbiol*, 88(2-3), 215-222.
- Gök Charyyev, M., Özden Tuncer, B., Akpınar Kankaya, D., Tuncer, Y. (2019). Bacteriocinogenic properties and safety evaluation of *Enterococcus faecium* YT52 isolated from boza, a traditional cereal based fermented beverage. *J Consum Prot Food Saf*, 14(1), 41-53.
- Heredia-Castro, P.Y., Méndez-Romero, J.I., Hernández-Mendoza, A., Acedo-Félix, E., González-Córdova, A.F., Vallejo-Cordoba, B. (2015). Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from artisanal Mexican cheese. *J Dairy Sci*, 98, 8285-8293.
- H-Kittikun, A., Biscola, V., El-Ghaish, S., Jaffres, E., Dousset, X., Pillot, G., Haertle, T., Chobert, J., Hwanhlem, N. (2014). Bacteriocin-producing *Enterococcus faecalis* KT2W2G isolated from mangrove forests in southern Thailand: purification, characterization and safety evaluation. *Food Control*, 54, 126-134.
- Huang, T., Zhang, X., Pan, j., Su, X., Jin, X., Guan, X. (2016). Purification and characterization of a novel cold shock protein-like bacteriocin synthesized by *Bacillus thuringiensis*. *Sci Rep*, 6, 35560.
- İşleroglu, H., Yıldırım, Z., Tokatlı, M., Öncül, N., Yıldırım, M. (2012). Partial characterisation of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP, a cheese isolate. *Int J Dairy Technol*, 65(1), 90-97.
- Jackson, C.R., Fedorka-Cray, P.J., Barrett, J.B. (2004). Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. *J Clin Microbiol*, 42(8), 3558-3565.
- Jaouani, I., Abbassi, M.S., Ribeiro, S.C., Khemiri, M., Mansouri, R., Messadi, L., Silva, C.C.G. (2015). Safety and technological properties of bacteriocinogenic enterococci isolates from Tunisia. *J Appl Microbiol*, 119(4), 1089-1100.
- Javed, A., Masud, T., ul Ain, Q., Imran, M., Maqsood, S. (2011). Enterocins of *Enterococcus faecium*, emerging natural food preservatives. *Ann Microbiol*, 6, 699-708.
- Kasap, M., Tuncer, Y. (2019). Fermente sucuktan izole edilen mundtisin KS üreticisi *Enterococcus mundtii* YB6.30 suşunun teknolojik özellikleri ve güvenlik değerlendirmesi. *GIDA*, 44(5), 866-880.
- Kawamoto, S., Shima, J., Sato, R., Eguchi, T., Ohmomo, S., Shibato, J., Horikoshi, N., Takeshita, K., Sameshima, T. (2002). Biochemical and genetic characterization of mundticin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393. *J Appl Microbiol*, 68, 3830-3840.
- M'hir, S., Minervini, F., Di Cagno, R., Chammem, N., Hamdi, M. (2011). Technological, functional and safety aspects of enterococci in fermented vegetable products: a mini-review. *Ann Microbiol*, 62, 469-481.
- Martín-Platero, A.M., Valdivia, E., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M. (2009). Characterization and safety evaluation of *Enterococci* isolated from Spanish goats' milk cheeses. *Int J Food Microbiol*, 132(1), 24-32.
- Ndlovu, B., Schoeman, H., Franz, C.M.A.P., du Toit, M. (2015). Screening, identification and

- characterization of bacteriocins produced by wine-isolated LAB strains. *J Appl Microbiol*, 118(4), 1007-1022.
- Özden Tuncer, B., Ay, Z., Tuncer, Y. (2013). Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance in 3 bacteriocin-producer *Enterococcus faecium* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Turk J Biol*, 37(4), 443-449.
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B.P., Socol, C.R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Braz Arch Biol Technol*, 50(3), 521-542.
- Paramithiotis, S., Vlontartzik, E., Drosinos, E.H. (2014). Enterocin production by *Enterococcus faecium* strains from Greek spontaneously fermented sausages. *Ital J Food Sci*, 26, 11-17.
- Ryan, M.P., Rea, M.C., Hill, C., Ross, R.P. (1996). An application in Cheddar cheese manufacture for a strain of *Lactococcus lactis* producing a novel broad spectrum bacteriocin lacticin 3147. *Appl Environ Microbiol*, 62, 612-619.
- Saavedra, L., Minahk, C., de Ruiz Holgado, A.P., Sesma, F. (2004). Enhancement of the enterocin CRL35 activity by a synthetic peptide derived from the NH<sub>2</sub>-terminal sequence. *Antimicrob Agents Chemother*, 48, 2778-2781.
- Schägger, H., von Jagow, G. (1987). Tricine-SDS-PAGE for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal Biochem*, 166, 368-379.
- Schelegueda, L.I., Vallejo, M., Gliemmo, M.F., Marguet, E.R., Campos, C.A. (2015). Synergistic antimicrobial action and potential application for fish preservation of bacteriocin produced by *Enterococcus mundtii* isolated from *Odontesthes platensis*. *Food Sci Technol*, 64, 794-801.
- Seo, S.H., Jung, M., Kim, W.J. (2014). Antilisterial and amylasesensitive bacteriocin producing *Enterococcus faecium* SH01 from Mukeunji, a Korean over-ripened kimchi. *Food Sci Biotechnol*, 23, 1177-1184.
- Settanni, L., Guarcello, R., Gaglio, R., Francesco, N., Aleo, A., Felis, G.E., Moschetti, G. (2014). Production, stability, gene sequencing and in situ anti-*Listeria* activity of mundtisin KS expressed by three *Enterococcus mundtii* strains. *Food Control*, 35, 311-322.
- Strompfová, V., Lauková, A. (2007). *In vitro* study on bacteriocin production of *Enterococci* associated with chickens. *Anaerobe*, 13, 228-237.
- Todorov, S.D., Dicks, L.M.T. (2005). Pediocin ST18, an anti-listerial bacteriocin produced by *Pediococcus pentasacens* ST18 isolated from Boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. *Process Biochem*, 40, 365-370.
- Tuncer, M., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. (2014). Çiğ süttten izole edilen enterosin B üreticisi *Enterococcus faecalis* MYE58 suşunun güvenlik değerlendirmesi. *GIDA*, 39(5), 275-282.
- Tuncer, Y., Özden, B. (2010). Partial biochemical characterization of nisin-like bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* YBD11 isolated from boza, a traditional fermented Turkish beverage. *Rom Biotechnol Lett*, 15, 4940-4948.
- van Belkum, M.J., Hayema, B.J., Geis, A., Kok, J., Venema, G. (1989). Cloning of two bacteriocin genes from a lactococcal bacteriocin plasmid. *Appl Environ Microbiol*, 55, 1187-1191.
- Yousif, N.M.K., Dawyndt, P., Abriouel, H., Wijaya, A., Schillinger, U., Vancanneyt, M., Swings, J., Dirar, H.A., Holzapfel, W.H., Franz, C.M.A.P. (2005). Molecular characterization, technological properties and safety aspects of enterococci from "Hussuwa", an African fermented sorghum product. *J Appl Microbiol*, 96, 216-228.
- Zendo, T., Eunggruttanagorn, N., Fujioka, S., Tashiro, Y., Nomura, K., Sera, Y., Kobayashi, G., Nakayama, J., Ishizaki, A., Sonomoto, K. (2005). Identification and production of a bacteriocin from *Enterococcus mundtii* QU2 isolated from soybean. *J Appl Microbiol*, 99, 1181-1190.

**BEYAZ VE TAM BUĞDAY UNLU EKMEK ÇEŞİTLERİNE EKLENEN BEYAZ DUT (*Morus alba*) YAPRAK VE POSASININ ANTİOKSİDAN VE ANTİDİYABETİK AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİ**

**Ceren İnce, Özlem Çağındı\***

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

Geliş / Received: 09.03.2020; Kabul / Accepted: 06.09.2020; Online baskı / Published online: 25.09.2020

İnce, C., Çağındı, Ö. (2020). Beyaz ve tam buğday unlu ekmeğe çeşitlerine eklenen beyaz dut (*Morus alba*) yaprak ve posasının antioksidan ve antidiyabetik aktivite üzerine etkisi. *GIDA* (2020) 45(5) 977-988 doi: 10.15237/gida.GD20039.

İnce, C., Çağındı, Ö. (2020). Effect of white mulberry (*Morus alba*) leaves and pulp on the antioxidant and antidiabetic activity of white and whole wheat bread. *GIDA* (2020) 45(5) 977-988 doi: 10.15237/gida.GD20039.

**ÖZ**

Çalışmada, dondurularak kurutulmuş beyaz dut posası (%10) ile yaprağı (%3) toz halinde ekmeçlik buğday unlu ve tam buğday unlu ekmeç üretiminde kullanılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek ve en düşük sırasıyla 48.26±5.40 mg/100 g GAE, 18.50±1.36 mg/100 g GAE olarak dut yapraklı tam buğday unlu ve dut yapraklı ekmeçlik buğday unlu ekmeçlerde tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitesi en yüksek ekmeç çeşidi, 3.29±0.33 µM TEAC/g değeri ile dut yapraklı tam buğday unlu ekmeçi olmuştur. Antidiyabetik aktivite, en yüksek ve en düşük α-glikosidaz ve α-amilaz enzim inhibisyonu sırasıyla dut yapraklı tam buğday unlu ve kontrol grup ekmeçlik buğday unlu ekmeçlerde saptanmıştır. Akarbozun α-glikosidaz ve α-amilaz enzim inhibisyon değeri %69.00 ve %78.30 bulunmuştur. Akarboz etken maddeli ilaca alternatif olarak beyaz dut yaprağının ve dut yapraklı tam buğday unlu ekmeğin amaca uygun olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Polifenoller, fonksiyonel ekmeç, fenolik bileşikler, antidiyabetik aktivite, tip 2 diyabet

**EFFECT OF WHITE MULBERRY (*Morus alba*) LEAVES AND PULP ON THE ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC ACTIVITY OF WHITE AND WHOLE WHEAT BREAD**

**ABSTRACT**

In the study, freeze-dried white mulberry pulp (10%) and leaf (3%) were used in the production of powdered bread wheat flour and whole wheat flour bread. Total amount of phenolic substances was determined as the highest and lowest 48.26±5.40 mg/100 g GAE, 18.50±1.36 mg/100 g GAE in mulberry leaf whole wheat flour and mulberry leaf bread wheat flour, respectively. Bread variety with the highest antioxidant activity was the whole wheat flour bread with mulberry leaves value of 3.29±0.33 µM TEAC/g. Antidiabetic activity, highest and lowest α-glycosidase and α-amylase enzyme inhibition were detected in whole wheat flour with mulberry leaves and bread wheat flour. α-glycosidase and α-amylase enzyme inhibition values of acarbose were found to be 69.00% and 78.30%. It was concluded that white mulberry leaves and whole wheat bread with mulberry leaves could be appropriate for the purpose as an alternative to the diabetics' drug with acarbose active ingredient.

**Keywords:** Polyphenols, functional bread, phenolic compounds, antidiabetic activity, type 2 diabetes

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author

✉:ozlem.cagindi@cbu.edu.tr

☎:(+90) 236 201 2263

☎:(+90) 236 201 2020

Ceren İnce; ORCID no: 0000-0001-9931-2327

Özlem Çağındı; ORCID no: 0000-0002-6436-9208

## GİRİŞ

Geleneksel beslenmede temel besin ögesinin karşılanması ile günlük yeterli enerji alımı sağlanmaktadır. Günümüzde optimum beslenme kavramının doğmasıyla besin ögesi olmayan ancak sağlığa çok yönlü faydaları bilinen biyoaktif bileşenlerin önemi her geçen gün artmaktadır. Fonksiyonel gıda bilimi, optimum sağlığa ulaşmada veya hastalık gelişimini önlemede metabolik proseslere ilişkin bilgiler kapsamında bu prosesleri belirleyecek biyolojik belirteçleri tanımlamayı amaçlamaktadır (Karakaya ve El, 2006). Günümüzde enerji dengesi ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde tip 2 diyabete yönelik fonksiyonel gıdalar/bileşenler geliştirilmesini kapsayan çalışmalara yönelim artmaktadır.

Diabetes Mellitus (DM), pankreasın yeterli insülin üretememesi veya vücudun ürettiği insülini etkili bir şekilde kullanamaması sonucu oluşan dünyadaki ve ülkemizdeki en önemli metabolik hastalıklardan biridir (Brand-Miller vd., 2003). Beslenme alışkanlıkları ve değişen yaşam tarzıyla birlikte yıllar geçtikçe diyabet hastalığında artış görülmüştür. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre 2019 yılında 463 milyon diyabetli hasta mevcut iken 2045 yılında bu sayının 700 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (IDF, 2019). Obezite, yaş ve hareketsizlik tip 2 diyabet gelişiminin yaygın nedenleridir. Diyabet hastalığının bir diğer riski de kan plazmasındaki antioksidan seviyesinin azalmasıdır (Büyükbacı ve El, 2008).

Tip 2 diyabet hastalığının ilaç tedavisinde kullanılan ticari olarak bulunan enzim inhibitörleri (akarboz, miglitol ve metformin) karın şişmesi, gaz veya diare gibi çeşitli yan etkilerle birlikte vücutta karaciğer, böbrek gibi organlarda toksisiteye sebebiyet verdiği için alternatif doğal  $\alpha$ -amilaz kaynağı ve  $\alpha$ -glükosidaz inhibitörlerinin araştırılması giderek önem kazanmaktadır (Dinççağ, 2011; Vadivel vd., 2011).

Son yıllarda,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glükosidaz inhibitörlerince zengin hipoglisemik gıdalar üzerine yapılan çalışmalar oldukça dikkat çekmektedir. Bu amaçla hipoglisemik ajanlar, karbonhidrat inhibitörleri, bağırsaklardan glüköz

emilimini geciktiren kompleks karbonhidratlar kullanılabilir (Akyurt, 2014; Galanakis, 2018; Papamichou vd., 2019).

Karbonhidratların sindirim enzimlerinin aktivitesini inhibe etmesi yoluyla gıdanın daha az sindirilerek daha az enerji vermesini sağlayan biyoaktif bileşenlerin araştırılması diyabetin önlenmesinde yeni yaklaşımlar olarak ele alınmaktadır. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler, fitatlar, lektinler, taninler, saponin biyoaktif bileşenleri, doğal enzim inhibitörleri görevi üstlenerek gastrointestinal sistemde nişastanın sindirilebilirliğini ve glisemik indeksi etkileyen özellikleri bulunmaktadır (Yun, 2010; Aslan vd., 2010). Karbonhidrat sindirim inhibitörleri bileşenlerinden biri olan polifenoller, besin değeri olmayan, ancak insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan biyoaktif bileşikler olarak birçok bitkide ve özellikle meyvelerin kabuklarında yoğun olarak bulunan ikincil metabolitlerdir (Tucci vd., 2010; Lee vd., 2015). Polifenollerin nişasta sindiriminde görev alan  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glükosidaz enzimlerini inhibe ederek besin ögesi emilimini modüle ettiği bildirilmektedir. Bu da kalori alımı, kan glüköz kontrolü üzerine olumlu etkiler sağlamaktadır (Lima vd., 2006; Gonçalves vd., 2011).

Meyvelerdeki polifenollerin, karbonhidratların sindiriminde  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glükosidaz enzim inhibisyon aktivitelerinde önemli olduğu bitki ekstraktları ile yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur (McDougall vd., 2005; Palafox-Carlos vd., 2011; Coe ve Ryan, 2016). Beyaz dut yaprakları flavonlar, steroidler, triterpenler, aminoasitler, vitamin ve mineraller gibi birçok bileşen içerir. Bitki üzerinde yapılan antidiyabetik aktivite çalışmaları sonucunda yaprakların taşıdıkları fitosterol glikozitleri ve skopoletin etkisiyle antidiyabetik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Marles ve Farnsworth, 1995; Natic vd., 2015). Beyaz dut meyvesinde, %81.72 nem, %0.48 yağ, %1.55 protein, %1.47 lif, %14.21 karbonhidrat miktarı olduğu yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir (Ercişli ve Orhan, 2007; Imran, 2010). Dut posasının, suda çözünür karbonhidrat (%20.85) ve protein (%21.86) açısından zengin olduğu bildirilmiştir (Zhou ve

ark., 2012). Yapılan çalışmalar sonucunda, dut yaprağında toplam fenolik madde miktarının 24.12-39.38 mg/g; klorojenik asitin 3.10-10.05 mg/g; toplam flavonoid madde miktarının 38.32-76.42 mg/g; rutin 0.96-3.49 mg/g; alkaloidlerin 1.17-6.91 mg/g; deoksinojirimisin 0.40-5.31 mg/g arasında değiştiği görülmüştür. Ayrıca, dut yapraklarında 153.1-309.1 mg/g protein, 80.1-134.2 mg/g karbonhidrat, 8.1-22.7 mg/g mineral, 6.4-15.1 mg/g yağ ve 276.0-366.6 mg/g diyet lifi içeriği tespit edilmiştir (Butt vd., 2008; Hao vd., 2018; Hu vd., 2019). Dut yaprakları içinde bulunan deoksinojirimisin adlı bileşiğin, glikosidaz, sükras ve maltaz gibi enzimlerin inhibisyonunu düzenlediği belirlenmiştir. Böylelikle dut yaprakları diyabet hastalığının tedavisinde kullanılabilir (Ünlüer, 2011; Chen vd., 2018). Yapılan bir çalışmada dondurma üretiminde doğal tatlandırıcı olarak dut tozu ilavesinde kullanılmış, kalori değerinde azalma görülmüştür (Arslaner ve Salık, 2017). Klinik bir çalışmada, diyabetli fareler 28 gün boyunca 1:1 oranında dut yaprağı unu ve yulaf kepeği kombinasyonundan oluşan yemle beslenmiş,  $\alpha$ -glikosidaz aktivitesini inhibe etme, insülin etkisini artırma gibi antidiyabetik etkileri olduğu tespit edilmiştir (Hu vd., 2019).

Ekmek özellikle ülkemizde sevilerek tüketilen ve ulaşılması oldukça kolay temel besin maddelerinden biridir. Son zamanlarda araştırmacılar ekmeğin zenginleştirilmesi ile birlikte yetersiz beslenme ve bunun sonucu olarak ortaya çıkabilecek hastalıkların önüne geçilebileceğini belirtmektedir. Ekmeğin fonksiyonel ve besinsel değerini artırmak amacı ile esansiyel aminoasit, protein oranları oldukça yüksek olan baklagil unları (soya, nohut, fasulye, bakla), kan kolesterol seviyesini düşürdüğü ve kolon kanserini önlediği belirlenen diyet lifi içeren gıdalar (çavdar, yer elması, karahindiba, kuşburnu tohumu unu, nar çekirdeği unu), antioksidan maddeler içeren ürünler (yeşil çay, zerdeçal, üzüm çekirdeği) ve esansiyel yağ asitlerini barındıran çeşitli gıdalar (deniz ürünleri, susam) kullanılabilir (El-Megeid vd., 2009; Peng vd., 2010; Lim vd., 2011; Das vd., 2012; Dziki vd., 2014; Gül ve Şen, 2017; Gül ve Şen, 2017a).

Son yıllarda fonksiyonel ekmeğin üretimi üzerine zenginleştirme çalışmalarının sayısı artmıştır. Bu amaç doğrultusunda bitki, meyve-sebze ve yan ürünlerin kullanımı önem kazanmıştır. Karabuğday bitkisinin yeşil kısımlarının (%2.5 ve %5); yeşil çay tozu (%0.5), kekik (%0.75) ve salça (%0.75) karışımı; sarımsak tozu (%0.5, %1 ve %1.5); zencefil tozu (%3, %4.5 ve %6); kurutulmuş elma, erik, havuç ve lahana (%5 ve %10); muz ununun (%10) eklenmesi ile ekmeklerin antioksidan ve fenolik madde seviyesini artırdığı bildirilmiştir (Filipcev vd., 2010; Sivam vd., 2011; Dziki vd., 2014).

Bu çalışmada, beyaz dut yapraklarının ve posasının liyofilize toz halinde beyaz ve tam buğday unlarına eklenerek ekmeğin üretiminde kullanılması ile tip 2 diyabet hastaları için karbonhidrat sindirim inhibitörü olarak doğal gıda bileşeni içeren bir ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla hammadde (beyaz dut posası, beyaz dut yaprağı) ve son üründe (kontrol ve zenginleştirilmiş ekmeğin çeşitleri) toplam fenolik bileşen miktarı, toplam antioksidan aktivite (TEAC yöntemi), antidiyabetik aktivite ( $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonu) analizleri gerçekleştirilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEMLER

### Materyal

Beyaz dut (*Morus alba*) ve yaprakları Haziran-Temmuz aylarında taze toplanıp Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölüm laboratuvarına getirilmiştir. Beyaz dutların posası katı meyve sıkacağı (160 W) (Moulinex, Fransa) ile ayrılmış ve analiz amına kadar laboratuvar tipi dondurucuda (-86°C) muhafaza edilmiştir. Beyaz dut yaprakları ise derin dondurucuda (-20°C) depolanmıştır. Beyaz dut posası (BDP), beyaz dut yaprağı (BDY) kullanılarak ekmeğin üretimleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma deseninde, kontrol grubu ekmeğin buğday unlu ekmeğin (KBE), kontrol grubu tam buğday unlu ekmeğin (KTE), dut posalı ekmeğin buğday unlu ekmeğin (DPBE), dut yapraklı ekmeğin buğday unlu ekmeğin (DYBE), dut posalı tam buğday unlu ekmeğin (DPTE), dut yapraklı tam buğday unlu ekmeğin (DYTE) şeklinde 6 farklı ekmeğin formülasyonları oluşturulmuştur.

## Yöntem

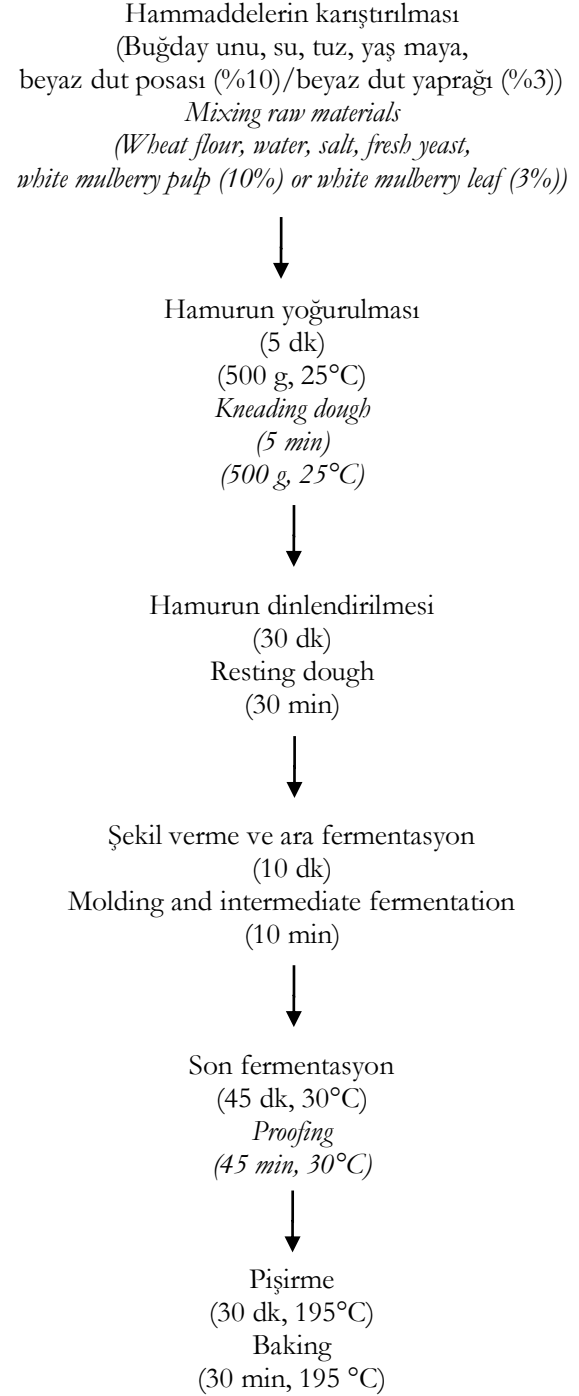
### Dut Yaprak ve Posasının Kurutulması

Liyofilizatörde kurutma işlemi başlamadan önce posa ve yapraklarda başlangıçtaki nem miktarı hızlı nem tayin cihazı (Radwag, MA 50/1.R, Polonya) ile tespit edilmiş, beyaz dut posalarında %80±3 nem, beyaz dut yapraklarında ise %50±2 nem saptanmıştır. Meyve yaprak ve posa örnekleri liyofilizatörde süblimasyon aşamasında -85°C sıcaklık, 1 mbar basınç altında ardından 24 saat, desorpsiyon aşamasında 0.1 mbar basınç altında 24 saat süreyle %5±0.5 nem içeriğine kadar kurutulmuştur. Kurutulan posa ve yapraklar, bıçaklı öğütücüde (Retsch, Grindomix GM 200, Almanya) toz haline getirilmiştir.

### Ekmek Üretimi

Meyve posa ve yaprakları toz haline getirildikten sonra KBE ve KTE formülasyonu içerisindeki miktarını belirlemek amacıyla farklı oranlarda (%3, %5, %10, %15) eklenerek ön deneme üretimleri gerçekleştirilmiştir. Ekmeklik buğday unu ve tam buğday unlarına %10 posa ve %3 yaprak eklenmesinin yapılan duyuşal değerlendirme sonucunda kabul edilebilir olduğu görülmüştür. Ekmek üretimi Matador Fırın, Manisa'da gerçekleştirilmiştir. KBE, 312 g buğday unu, 200 mL su, 4 g tuz, 11.25 g yaş maya kullanılmıştır. KTE, tam buğday unu ve ekmeklik buğday unununun 1:1 oranında karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Zenginleştirilen ekmek çeşitlerinde %3 ve %10 hammadde ilavelerine göre un formülasyonları oluşturulmuştur. Ekmek üretimi için öncelikle belirlenen oranlarda bileşenler (un, tuz, maya, su) karıştırılarak 500 g hamur, yoğurma makina (Kitchenaid Artisan Mikser 5KSM150, ABD) haznesine alınmış, yoğurucunun 2. devir hızında (40 rpm) ve ortam sıcaklığındaki su (25°C) kullanılarak yaklaşık 5 dk yoğurulmuştur. Daha sonra fermentasyon kabiniinde (30°C) 30 dk hamuru dinlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. İlk fermentasyon sonrası alınan hamurlara şekil verme ve ara fermentasyondan sonra ikinci ve son fermentasyon (30°C) işlemine tabii tutulan hamurlar 30 dk fermentasyon süresini tamamlayıncaya kadar bekletilmiştir. Fermentasyon bitiminde Matador tipi fırında (195°C, 30 dk) kontrollü sıcaklık altında ortama buhar verilerek pişirme işlemi tamamlanmıştır

(Köse, 1996; Adal, 2018). Ekmek üretim akış şeması Şekil 1'de yer almaktadır.



Şekil 1. Ekmek üretim akış şeması (Köse, 1996; Adal, 2018)

Figure 1. Bread production flow chart

### **Toplam Fenolik Madde ve Antioksidan Madde Analizi için Örneklerin Ekstraksiyonu**

Çalışmadaki hammadde materyali (yaprak ve posa) ve ekmek çeşitleri Waring blender ile parçalanarak homojenize edilmiştir. Hammadde için Rodriguez vd. (2015), ekmekler için Kilci ve Gökmen (2014) ekstraksiyon yöntemimodifiye edilerek uygulanmıştır. Homojenize edilen örneklerden 2 g alınmış, üzerine 10 mL çözgen ilave edilmiştir. Hammadde ekstraksiyonu için metanol:saf su:asetik asit (30:1:1), ekmek ekstraksiyonu için metanol: saf su (1:1) çözgen olarak kullanılmıştır. Örnekler 21°C'de %100 güçte 15 dk ultrasonik su banyosunda (Bandelin, Almanya) bekletildikten sonra 4100 rpm 4°C'de 15 dk santrifüjlenmiştir. En iyi ekstraksiyon verimini alabilmek için işlem iki kez daha tekrarlanmıştır.

### **Antidiyabetik Aktivite için Örneklerin Ekstraksiyonu**

Antidiyabetik aktiviteyi ölçmek için örneklerin karbonhidrat sindirim inhibisyon kapasiteleri,  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyon analizleri ile belirlenmiştir. Enzim inhibisyon analizleri için kullanılan örnek ekstraksiyonları, Ercan (2009) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Ekstraksiyon aşaması için yaprak ve posa tozlarından 1 g, homojenize ekmek örneklerinden 10 g alınmış ve üzerine 10 mL fosfat tamponu (PBS) (pH 7.3  $\pm$  0.2, 25°C) eklenip 1.5 dk vortekslenerek 230 W ultrasonik su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. Örnekler 4000 rpm +4°C 15 dk santrifüjlenmiştir. İşlem basamakları iki kez daha tekrar edilip toplanan üst faz, 2.5  $\mu$ m kalınlığındaki filtre kâğıdından süzülerek 25 mL'lik balon jöjelerde PBS ile tamamlanmıştır.

### **Toplam Fenolik Madde Analizi**

Toplam fenolik madde analizi Rodriguez vd. (2015) Folin-Ciocalteu yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Yaprak için 20  $\mu$ L, posa ve ekmek için 500  $\mu$ L ekstraksiyon çözeltisi üzerine 250  $\mu$ L 2N (1:10 seyreltme) Folin- Ciocalteu reaktifi eklenerek 30 s vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra 1250  $\mu$ L (%7.5'lik) doymuş sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisi ilave edilerek 10 s vortekslenmiştir. 1 sa oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Multiskan Go mikropilaka

spektrofotometrede (Thermo Scientific, Finlandiya) 760 nm'de absorbans okunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda gallik asit (100, 200, 400, 600, 800  $\mu$ g/kg) çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri cinsinden (GAE) mg/100 g olarak ifade edilmiştir.

### **Antioksidan Aktivite Analizi**

Antioksidan aktivite analizi, Troloks Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Kapasite (TEAC) yöntemiyle Brand-Williams vd. (1995) ile Meral ve Doğan (2012)'a göre modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH)'den 0.025 g tartılıp 500 mL'ye metanolla tamamlanmıştır. Farklı miktarlarda alınan örnekler (100, 250, 500, 750, 1000  $\mu$ L) üzerine hazırlanan DPPH çözeltisinden 3 mL eklenip vortekslenmiştir. Kontrol (3 mL DPPH+ 1000  $\mu$ L metanol) ve kör (saf metanol) çözeltileri de hazırlanmış ve örnekler karanlık ortamda 30 dk bekletildikten sonra Multiskan Go mikropilaka spektrofotometrede (Thermo Scientific, Finlandiya) 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda örnek miktarına karşılık inhibisyon yüzdesinden oluşan Troloks standart grafiği ve örneklerin grafikleri çizilerek antioksidan aktivite sonuçları Troloks eşdeğeri cinsinden ( $\mu$ M TEAC/g) verilmiştir.

### **Antidiyabetik Aktivite Analizi**

#### **$\alpha$ -Glikosidaz Enzim İnhibisyonu Analizi**

Antidiyabetik aktivite ölçümü, Koh vd. (2010) ve Liu vd. (2014) yöntemlerine göre modifiye edilerek  $\alpha$ -glikosidaz enziminin inhibisyon aktivitesi belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak akarboz (Glucobay, 50 mg, Almanya) kullanılmıştır. Kontrolde, örnek yerine PBS, körde 4-Nitrofenil  $\alpha$ -D-glikopiranosid (PNPG) yerine PBS kullanılmıştır. 40  $\mu$ L örnek üzerine 20  $\mu$ L  $\alpha$ -glikosidaz çözeltisi (20 mg/mL) ilave edilerek Multiskan Go mikropilaka spektrofotometrede (Thermo Scientific, Finlandiya) 37°C'de 10 saniyede bir çalkalamalı 10 dk inkübasyon işlemine tabii tutulmuştur. Sindirimi başlatmak için 40  $\mu$ L PNPG çözeltisi (30 mM) eklenmiş ve 37°C'de 10 saniyede bir

çalkalamalı 15 dk daha inkübasyona devam edilmiştir. Reaksiyonun sonlandırması için 1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 µL) eklenmiş ve 400 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir. α-Glikosidazın inhibisyon yüzdesi denklem (1)'e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibasyon} = 100 \times \left[ 1 - \frac{\text{Örnek-Kör}}{\text{Kontrol}} \right] \quad (1)$$

### α-Amilaz Enzim İnhibisyonu Analizi

Liu vd. (2014) kullandığı yöntem uygulanmıştır. PBS içerisinde %2'lik nişasta çözeltisi hazırlanmış, 100°C kaynar su içerisinde 5 dk bekletilip oda sıcaklığında soğutulmuştur. 200 µL örnek ekstraktı üzerine 200 µL α-amilaz ilave edikten sonra 200 µL nişasta çözeltisi (%2) eklenip Multiskan Go mikropilaka spektrofotometrede (Thermo Scientific, Finlandiya) 37°C 10 saniyede bir saniyede bir çalkalamalı 10 dk inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Sindirimi sonlandırmak için 500 µL HCl (%10) ilavesinin ardından 5000xg hızda 10 dk santrifüj (Hettich EBA 85, Almanya) edilmiştir. 595 nm dalga boyunda absorban ölçümü gerçekleştirilmiştir α-amilazın inhibisyon yüzdesi denklem (1)'e göre hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analiz

Tüm analizler 2 tekerrür ve 2 paralel olarak gerçekleştirilmiş ve veriler, SPSS 22.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İki den fazla sayıdaki örneklerin karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi (ANOVA), varyans analizi sonucu önemli bulunan farklılıklar için Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Toplam Fenolik Madde Miktarı

Toplam fenolik madde miktarı analizinde gallik asit kalibrasyon eğrisi ( $y = 0.0569x + 0.0084$ ,  $R^2 = 0.9974$ ) oluşturularak sonuçlar gallik asit eşdeğerliğince (GAE) mg/100 g GAE olarak hesaplanmıştır. Hammaddelerin toplam fenolik madde içeriği mg/100 g GAE kuru madde bazında posa ve yaprak sırasıyla; 1784.38 mg/100 g GAE ve 6154.69 mg/100 g GAE olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Ekmeklerdeki fenolik madde miktar değerlerine bakıldığında en yüksek fenolik madde miktarı DYTE 48.26 mg/100 g GAE, en düşük fenolik madde miktarı da KBE

18.50 mg/100 g GAE olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Tek Yönlü Anova Testi ile zenginleştirilmiş ekmeklerin toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır [ $F(10.009)=0.007$ , ( $P<0.05$ )]. Duncan Çoklu Karşılaştırma testi sonucunda kontrol grubu ile zenginleştirilen ekmekler arasındaki farklılık önemlidir ( $P<0.05$ ).

Küçükyağdım'ın yaptığı çalışmada beyaz dut meyve ve yaprakların fenolik içeriği miktarları gallik asit eşdeğeri cinsinden sırasıyla 135.36 µg GAE/g ve 84.214 µg GAE/g bulunmuştur (Küçükyağdım, 2017). Yaptığımız çalışmada beyaz dut meyve posası ve yaprakların fenolik içeriği miktarları sırasıyla 1784.38 mg/100g GAE ve 6154.69 mg/100g GAE tespit edilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada siyah havuç posasıyla zenginleştirilen keklerde toplam fenolik madde miktarı 54-202 mg GAE/100 g saptanmıştır (Kamiloğlu vd., 2017). Ekmeğe %3 karadut meyvesi eklenen bir çalışmada toplam fenolik içeriği 0.8 mg/100 g GAE olarak bulunmuştur (Meral ve Doğan, 2012). Mahlep, tarçın veya zerdeçal katkılarıyla zenginleştirilen ekmeklerin kontrol beyaz ekmeklere oranla toplam fenolik madde miktarının arttığı bildirilmiştir. Diğer yandan sarı/mavi haşhaş, çörekotu, kişniş ve keten tohumu eklenerek üretilen ekmeklerde mavi haşhaşın fenolik madde miktarın azalttığı tespit edilmiştir. Kontrol grubunda toplam fenolik madde miktarı  $1.263 \pm 0.224$  µg GAE/100g iken fenolik madde bakımından en yüksek tarçınlı ekmeğin  $11.068 \pm 0.265$  µg GAE/100g bulunmuş ve artış göstermiş (Burnaz vd., 2018). Zerdeçal ilavesi (% 8) ekmeğin toplam fenolik madde içeriğini 30.9 mg GAE/100 g'dan 150.5 mg GAE/100 g'a yükselttiği bildirilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada, mayalı ekmeğin hazırlanmasında yağdan arındırılan mango çekirdeği ununun kullanımı incelenmiş ve % 0 - 25 seviyelerinde mango çekirdeği ununun eklenmesi sonucunda ekmeğin toplam fenolik madde miktarının 85-128.35 mg GAE/100 g aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir (Preedy ve Watson, 2019).



## Beyaz dut yaprağı ve posası eklenen ekmeklerin antioksidan ve antidiyabetik aktivitesi

Çizelge 1. Hammaddelerin kimyasal analiz sonuçları  
Table 1. Chemical analysis results of raw materials

Analizler / Analysis	Toplam fenolik madde miktarı (mg/100 g GAE) / Total phenolic content (mg/100 g GAE)	Toplam antioksidan aktivitesi ( $\mu\text{M TEAC/g}$ ) / Total antioxidant activity ( $\mu\text{M TEAC/g}$ )	$\alpha$ -Glikosidaz enzim inhibisyonu (%) / $\alpha$ -Glycosidase enzyme inhibition (%)	$\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu (%) / $\alpha$ -Amylase enzyme inhibition (%)
BDP	1784.3 $\pm$ 287.26b	2.02 $\pm$ 0.15c	55.78 $\pm$ 0.31c	71.43 $\pm$ 0.79c
BDY	6154.69 $\pm$ 2156.86a	4.97 $\pm$ 0.04b	60.83 $\pm$ 5.90c	75.24 $\pm$ 3.40b

$\pm$ : Standart hata/Standart error

Aynı sütunda farklı harfler değerler arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

Different letters on the same line indicate that the difference between the samples is statistically significant ( $P<0.05$ ).

BDP: Beyaz Dut Posası, BDY: Beyaz Dut Yaprağı GAE: Gallik Asit Eşdeğer TEAC: Troloks Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Kapasite

BDP: White Mulberry Pulp, BDY: White Mulberry Leaf GAE: Gallic Acid Equivalent TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

Çizelge 2. Ekmeklerin kimyasal analiz sonuçları  
Table 2. Chemical analysis results of breads

Analizler / Analysis	Toplam fenolik madde miktarı (mg/100 g GAE) / Total phenolic content (mg/100 g GAE)	Toplam antioksidan aktivitesi ( $\mu\text{M TEAC/g}$ ) / Total antioxidant activity ( $\mu\text{M TEAC/g}$ )	$\alpha$ -Glikosidaz enzim inhibisyonu (%) / $\alpha$ -Glycosidase enzyme inhibition (%)	$\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu (%) / $\alpha$ -Amylase enzyme inhibition (%)
KBE	18.50 $\pm$ 1.36d	0.62 $\pm$ 0.19d	23.50 $\pm$ 4.95c	20.89 $\pm$ 1.20c
KTE	39.9 $\pm$ 0.35d	0.86 $\pm$ 0.08d	24.7 $\pm$ 2.47c	23.2 $\pm$ 1.06c
DPBE	32.47 $\pm$ 0.97a,b	2.02 $\pm$ 0.06a,b	42.50 $\pm$ 2.12b	37.51 $\pm$ 3.83b
DYBE	32.17 $\pm$ 2.02c	1.57 $\pm$ 0.03c	61.00 $\pm$ 5.66a	66.45 $\pm$ 2.50a
DPTE	43.94 $\pm$ 3.46b	2.37 $\pm$ 0.38b	64.75 $\pm$ 3.89a	59.00 $\pm$ 4.94a
DYTE	48.26 $\pm$ 5.40a	3.29 $\pm$ 0.33a	70.50 $\pm$ 6.36a	73.83 $\pm$ 0.86a

$\pm$ : Standart hata/Standart error

Aynı sütunda farklı harfler değerler arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

Different letters on the same line indicate that the difference between the samples is statistically significant ( $P<0.05$ ).

KBE: Kontrol Grubu Ekmeklik Buğday Unlu Ekmek, KTE: Kontrol Grubu Tam Buğday Unlu Ekmek, DPBE: Dut Posalı Ekmeklik Buğday Unlu Ekmek, DYBE: Dut Yapraklı Ekmeklik Buğday Unlu Ekmek, DPTE: Dut Posalı Tam Buğday Unlu Ekmek, DYTE: Dut Yapraklı Tam Buğday Unlu Ekmek

KBE: Control Group Wheat Flour Bread, KTE: Control Group Whole Wheat Flour Bread, DPBE: Mulberry Pulp Wheat Flour Bread, DYBE: Mulberry Leaf Wheat Flour Bread, DPTE: Mulberry Pulp Whole Wheat Flour Bread, DYTE: Mulberry Leaf Whole Wheat Flour Bread

GAE: Gallik Asit Eşdeğeri

TEAC: Troloks Eşdeğeri Cinsinden Antioksidan Kapasite

GAE: Gallic Acid Equivalent

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

### Antioksidan Aktivite Analizi (TEAC yöntemiyle)

TEAC yöntemiyle gerçekleştirilen analizde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerin kalibrasyon grafiği ( $y = 0.120x - 1.041$ ,  $R^2 = 0.998$ ) çizilmiştir. Örneklerin kalibrasyon eğrileri ile Troloks kalibrasyon eğrisinin eğimleri birbirine oranlanarak  $\mu\text{M TEAC/g}$  şeklinde hesaplanmıştır. Dut posası ve dut yaprağının antioksidan aktivite değerleri

sırasıyla  $2.02\pm 0.15 \mu\text{M TEAC/g}$  ve  $4.97\pm 0.04 \mu\text{M TEAC/g}$  olduğu görülmüştür (Çizelge 1). Zenginleştirilen ekmek çeşitlerinde kontrol beyaz ve tam buğday unlu ekmeğe göre antioksidan aktivite değerleri daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu arasında tam buğday unlu ekmek  $0.86\pm 0.08 \mu\text{M TEAC/g}$  bulunarak,  $0.62\pm 0.19 \mu\text{M TEAC/g}$  bulunan beyaz ekmeğe göre daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 2). Bu duruma sebep olarak da tanenin

ruşeym gibi dış tabakalarının da bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tüm ekmekek çeşitleri değerlendirildiğinde, en yüksek antioksidan aktiviteye sahip  $3.29 \pm 0.33 \mu\text{M}$  TEAC/g değeri ile DYTE olmuştur. Tek Yönlü Anova Testi ile ekmeklere uygulanan posa veya yaprak eklenmesinin antioksidan aktiviteye etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur [ $F(39.564)=0.00$ ,  $P<0.05$ ]. Zenginleştirilen ekmekek ürünleri ile kontrol grubu arasında farklılık gözlenmiştir ( $P < 0.05$ ).

Meral ve Doğan, (2012)'nin yaptıkları çalışmada, karadut katkılı ekmekleri antioksidan aktivite değerlerinin  $1.1-3.7 \mu\text{M}$  TEAC/g arasında değiştiği ve karadutun ekmeğe ilavesi antioksidan değerini önemli oranda artırdığı bildirmektedir ( $P<0.05$ ) (Meral ve Doğan, 2012). Yaptığımız çalışmadaki zenginleştirme sonrası ekmeklerin  $1.57-3.29 \mu\text{M}$  TEAC/g toplam antioksidan aktivite sonuçları ile Meral ve Doğan, (2012)'nin sonuçlarının paralellik gösterdiği görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, 500 g ekmekek hamurunda 300 mg, 600 mg ve 1 g üzüm çekirdeği ekstraktı eklenmiş ve ekmeklerde antioksidan aktivite değişikliği incelenmiştir. Sonuçlar, üzüm çekirdeği ekstraktı ilaveli ekmeğin, kontrol ekmeğine göre daha güçlü antioksidan aktivitesine sahip olduğunu ve üzüm çekirdeği ekstrakt miktarının artırılmasının, antioksidan kapasitelerini daha da artırdığını göstermiştir (Peng vd., 2010). Farklı elma çeşitleriyle yapılan bir çalışmada, kabuk ve posanın antioksidan aktivitesinin iç kısmına göre daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Garcia vd., 2009). Elma kabuğunda  $642.81 \mu\text{M}/100 \text{ g}$  antioksidan aktivite belirlendiği çalışmada elma posasının antioksidan madde miktarı ise  $397.80 \mu\text{M}/100 \text{ g}$  olarak bildirilmiştir (Erdoğan, 2010). Dut ekstraktlarına uygulanan ısıl işlem çalışmasında, Troloks eşdeğerliğindeki miktarda önemli bir değişim bulunmadığı gözlenmiştir (Tsai vd., 2005).

#### Antidiyabetik Aktivite Analizi

##### $\alpha$ -Glikosidaz ve $\alpha$ -Amilaz Enzim İnhibisyonu Analizleri

Hammaddelerin antidiyabetik aktivitelerine bakıldığında  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonu posada ve yaprakta sırasıyla  $\%55.78 \pm 0.31$  ve

$\%60.83 \pm 5.90$  olarak hesaplanmıştır.  $\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu posada  $\%71.43 \pm 0.79$ , dut yaprağının  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonunu  $\%75.24 \pm 3.40$  olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1). Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan antidiyabetik ilacının (Glucobay, 50 mg, Almanya) etken maddesi akarbozdur. Antidiyabetik enzim inhibisyonu analizinde pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun  $\alpha$ -glikosidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu sırasıyla  $\%69.00$  ve  $\%78.30$  olarak tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre BDP ve BDY, akarboza yakın inhibisyon değerinde olmakla birlikte BDY inhibisyon değerinin BDP'den daha yüksek olduğu görülmüştür. Dut meyvesindeki diğer besin öğelerinin fenolik bileşiklerle interaksiyonu sonucu fenolik ve antioksidan miktarının yaprakta daha düşük miktarda bulunduğu düşünülmektedir. Antidiyabetik aktivite sonuçlarına göre beyaz dut posa ve yaprağının tip 2 diyabet tedavisinde alternatif olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

Yapraklar üzerinde yapılan bir çalışmada asma ve ayva yaprağı ile ısırgan otunda yüksek  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonu aktivitesi tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan dut yaprağı, semiz otu, antioksidan ve lif içeriği yüksek gıdalar olması nedeniyle diyabete yönelik tercih edilebileceği ifade edilmiştir (Akyurt, 2014). *Citrus hystrix* (limon) ve *Citrus maxima* (greyfurt) meyvelerinden elde edilen meyve suyu örneklerinin antidiyabetik aktivite tayinlerinin yapıldığı çalışmada enzim inhibisyon aktivitesi  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glukosidaz için sırasıyla,  $\%75.55 - \%79.75$  ve  $\%70.68 - \%72.83$  değerleri aralığında kaydedilmiştir (Abirami vd., 2014).

$\alpha$ -Glikosidaz enzim inhibisyonu en yüksek  $\%70.50 \pm 6.36$  ile DYTE iken en düşük  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonunun KBE'de  $\%23.50 \pm 4.95$  olduğu görülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyon değeri  $\%69.00$  olarak bulunmuştur. DYTE  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonu akarboz değerine yakındır.  $\alpha$ -Amilaz enzim inhibisyonu en yüksek  $\%73.83 \pm 0.86$  ile DYTE iken en düşük  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonunun

KBE'de  $20.89 \pm 1.20$  olduğu görülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyon değeri %78.30 olarak bulunmuştur. Farklılıklar gıda matriksinin farklı enzimler arasındaki etkileşiminden kaynaklanabilmektedir. DYTE  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu akarboz değerine yakın olduğu görülmüştür (Çizelge 2). Tek yönlü Anova Testi sonucu ekmekleri zenginleştirmenin  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonu üzerine etkisinin anlamlı olduğu tespit edilmiştir [F(41.581)=0.00, P<0.05]. Zenginleştirmenin  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu üzerine etkisinin anlamlı olduğu tespit edilmiştir [F(42.261)=0.00, P<0.05]. Kontrol grubu ile posalı veya yaprakla zenginleştirilmiş ekmek ürünleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur (P<0.05). Dut yapraklı tam buğday unlu ekmekteki antidiyabetik aktivitenin gıda matriksindeki sinerjik etkileşimler ve buğday kepeğinde bulunan fenolik bileşenlerden dolayı andiyabetik aktiviteyi ve %inhibisyon değerini artırdığı düşünülmektedir.

### SONUÇ

Tip 2 diyabet hastalarının insüline bağımlı olmaması, beslenme yönetimi ve yaşam tarzı değişikliğiyle tedavi edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Diyabetin tedavisinde yaygın olarak tüketilen  $\alpha$ -glikosidaz inhibitörü olarak kullanılan akarboz ilacının böbrek, karaciğerde toksik ve yan etkileri bulunması sebebiyle alternatif olarak doğal karbonhidrat sindirim enzim inhibitörü arayışı bulunmaktadır. Beyaz ekmek ve tam buğday ekmeği, antidiyabetik aktivite açısından değerlendirildiğinde yetersiz kalmaktadır. Ekmek zenginleştirme çalışmalarında elde edilen sonuçlar, ekmeğe çeşitli doğal bileşenler eklenerek, ekmeğe fonksiyonel özellik kazandırılabilmesini ve sağlık üzerinde olumlu etkilere sahip ekmek üretilebileceğini göstermiştir. DYTE,  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonunda en yüksek antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu ve diyabet tedavisinde kullanılan ilacın etken maddesi olan akarbozun  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyon değerine yakın bir değer bulunmuştur.  $\alpha$ -glikosidaz ve  $\alpha$ -amilaz enzim inhibisyonu analizlerinde DYTE değerleri, DPTE'ye göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışma sonucunda, tip 2 diyabet hastalarının kullandığı

akarboz etken maddeli ilacın etkisine benzer bir etki yaratan dut yapraklı tam buğday unlu ekmeği, doğal karbonhidrat inhibitörü arayışında olan tip 2 diyabetli bireylerin tüketebileceği sonucuna varılmıştır.

Fonksiyonel ürün tasarımlarında  $\alpha$ -amilaz ve  $\alpha$ -glikosidaz enzim inhibisyonundan sorumlu fenolik bileşikler tespit edilerek diyabet hastalarının tüketimine uygun olarak gıdalara eklenmesi önerilmektedir. Diyabetik hastalarda polifenolik bileşiklerle optimum doz ve takviye süresinin belirlenmesi amacıyla klinik çalışmaları kapsayan ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Gelecekte uzun vadeli insan çalışmalarının yapılması, farklı diyet bileşenlerin fenoliklerin inhibitör özelliklerinin etkinliğini ve optimal dozunu belirleme açısından önemli olacağı düşünülmektedir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### YAZAR KATKILARI

Yazarlar makalenin gerçekleştirilmesinde, yazılmasında ve yayınlanmasında eşit katkı sağlamışlardır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

### KAYNAKLAR

- Abirami, A., Nagarani, G., Siddhuraju, P. (2014). *In vitro* antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *Citrus maxima* fruits. *Food Science and Human Wellness*, 3:16–25, doi: 10.1016/j.fshw.2014.02.001.
- Adal, S. (2018). Yumurta kabuğu tozu kullanılarak mineral madde bakımından zenginleştirilen ekmeklerin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Manisa, Türkiye, 123 s.
- Arslaner, A., Salık, M. A. (2017). Ceviz ezmesi ve dut kurusu tozu ilavesiyle üretilen düşük kalorili dondurmanın bazı kalite niteliklerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(1):57-64.

- Butt, M. S., Nazir, A., Sultan, M. T., Schroen, K. (2008). *Morus alba* L. nature's functional tonic. *Trends Food Sci Technol*, 19:505–512, doi: 10.1016/j.tifs.2008.06.002.
- Akyurt, B. (2014). Ülkemizde tüketilen bazı yaprakların antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerinin belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, Türkiye, 64 s.
- Aslan M., Orhan N., Deliorman-Orhan D., Ergun F. (2010). Hypoglycemic activity and antioxidant potential of some medicinal plants traditionally used in Turkey for diabetes. *J Ethnopharmacol*, 128:384-389, doi: 10.1016/j.jep.2010.01.040.
- Brand-Miller, J.C., Hayne, S., Petocz, P., Colaguri, S. (2003). Low glycemic index diets in the management of diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Care*, 26(8):2261-2267, doi: 10.2337/diacare.26.8.2261.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol*, 28(1):25-30.
- Burnaz, N. A., Ertop, M. H., Karataş, Ş. M. (2018). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ile ekmeğin fenolik madde içeriğinin zenginleştirilmesi. *GIDA*, 43(2):240-249, doi: 10.15237/gida.348212.
- Büyükbalci, A., El, S.N. (2008). Determination of *in vitro* antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. *Plant Food Hum Nutr*, 63(1):27-33, doi: 10.1007/s11130-007-0065-5.
- Chen, W., Liang, T., Zuo, W., Wu, X., Shen, Z., Wang, F., & Peng, G. (2018c). Neuroprotective effect of 1-Deoxynojirimycin on cognitive impairment,  $\beta$ -amyloid deposition, and neuroinflammation in the SAMP8 mice. *Biomed Pharmacother*, 106:92–97, doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.106.
- Coe, S., Ryan, L. (2016). White bread enriched with polyphenol extracts shows no effect on glycemic response or satiety, yet may increase postprandial insulin economy in healthy participants. *Nutr Res*, 36(2):193-200, doi: 10.1016/j.nutres.2015.10.007.
- Das, L., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. (2012). Supplementation of common white bread by coriander leaf powder. *Food Sci Biotechnol*, 21:425-433, doi: 10.1007/s10068-012-0054-9.
- Dinççağ, N. (2011). Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. *İç Hastalıkları Dergisi*, 18(4):181-223.
- Dziki, D., Rózyło, R., Dziki, U.G., Świeca, M. (2014). Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends Food Sci Tech*, 40:48-61, doi: 10.1016/j.tifs.2014.07.010.
- El-Megeid, A. A. A., AbdAllah, I. Z. A., Elsadek, M. F., El-Moneim, Y. F. A. (2009). The protective effect of the fortified bread with green tea against chronic renal failure induced by excessive dietary arginine in male albino rats. *World J Dairy Food Sci*, 4:107-117.
- Ercan, P. (2009). Bazı gıdalarda ve farklı koenzim Q10 preparatlarıyla zenginleştirilmiş gıdalarda *in vitro* koenzim Q10 biyoyararlılığının saptanması, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 94 s.
- Ercişli, S., Orhan, E. (2007). Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. *Food Chem*, 103(4):1380-1384, doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.054.
- Erdoğan, S. (2010). Elma posası tozunun antioksidan aktivitesi ile fenolik bileşenlerinin belirlenerek ekmeğin yapımında kullanım olanaklarının araştırılması. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Kayseri, Türkiye, 140 s.
- Filipčev, B., Lević, L., Bodroža-Solarov, M., Mišljenović, N., Koprivica, G. (2010). Quality characteristics and antioxidant properties of breads supplemented with sugar beet molasses-based ingredients. *Int J Food Prop*, 13(5):1035-1053, doi: 10.1080/10942910902950526.

- Galanakis, C. M. (ed.). (2018). *Polyphenols: Properties, recovery and applications*. Woodhead Publishing, the USA, 456 p.
- Garcia, Y.D., Valles, B.S., Lobo, A.P. (2009). Analytical methods phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chem*, 117:731–738, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.049.
- Gonçalves, R., Mateus, N., de-Freitas, V. (2011). Influence of carbohydrates on the interaction of procyanidin B3 with trypsin. *J Agr Food Chem*, 59:11794–11802, doi: 10.1021/jf203060s.
- Gül, H., Şen, H. (2017). The influence of rosehip seed flour on bread quality. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnol*, 21:336-342.
- Gül, H., Şen, H. (2017a). Effects of pomegranate seed flour on dough rheology and bread quality. *CYTA -J Food*, 15(4):622-628, doi: 10.1080/19476337.2017.1327461.
- Hao, J. Y., Wan, Y., Yao, X. H., Zhao, W. G., Hu, R. Z., Chen, C., ... Wu, G. H. (2018). Effect of different planting areas on the chemical compositions and hypoglycemic and antioxidant activities of mulberry leaf extracts in southern China. *Plos One*, 13:198072–198086, doi: 10.1371/journal.pone.0198072.
- Hu, T. G., Wen, P., Liu, J., Long, X. S., Liao, S. T., Wu, H., Zou, Y. X. (2019). Combination of mulberry leaf and oat bran possessed greater hypoglycemic effect on diabetic mice than mulberry leaf or oat bran alone. *J. Funct. Foods*, 61:103503, doi: 10.1016/j.jff.2019.103503.
- IDF Diabetes Atlas-9<sup>th</sup> Edition. (2019). (<https://diabetesatlas.org/>) Erişim tarihi: 16.01.20
- Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R., Khan, F. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 11(12):973-980, doi: 10.1631/jzus.B1000173.
- Kamiloglu, S., Ozkan, G., Isik, H., Horoz, O., Van Camp, J., Capanoglu, E. (2017). Black carrot pomace as a source of polyphenols for enhancing the nutritional value of cake: An in vitro digestion study with a standardized static model. *Lebenson Wiss Technol*, 77: 475-481, doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.002.
- Karakaya, S., El, S.N. (2006). Total phenols and antioxidant activities of some herbal teas and *in vitro* bioavailability of black tea polyphenols, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1):1-8, doi: 10.1016/j.lwt.2016.12.002.
- Kilci, A., Gocmen, D. (2014). Phenolic acid composition, antioxidant activity and phenolic content of tarhana supplemented with oat flour. *Food Chem*, 151: 547–553, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.11.038.
- Koh, L.W., Wong, L.L., Loo, Y.Y., Kasapis, S., Huang, D. (2010). Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glycosidases. *J Agr Food Chem*, 58:148–154, doi: 10.1021/jf903011g.
- Köse, E. (1996). Ekmek Üretimi Eğitim Semineri. Ekmek Üretim Teknolojisi. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa.
- Küçükyıldırım, T. (2017). Beyaz dut ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, Türkiye, 79 s.
- Lee, E.Y., Kaneko, S., Jutabha, P.(2015). Distinct action of the  $\alpha$ -glucosidase inhibitor miglitolon SGLT3, enteroendocrine cells, and GLP1 secretion. *J Endocrinol*, 224:205–214, doi: 10.1530/JOE-14-0555.
- Lim, H. S., Park, S. H., Ghafoor, K., Hwang, S. Y., Park, J. (2011). Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chem*, 124: 1577-1582, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.016.
- Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C. (2006). Phenolic compounds protect hep2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. *Life Sci*, 79 (21): 2056-2068, doi: 10.1016/j.lfs.2006.06.042.
- Liu, J., Lu, J. F., Kan, J., Wen, X.Y., Jin, C.H. (2014). Synthesis, characterization and in vitro

- anti-diabetic activity of catechin grafted inulin. *Int J Biol Macromol*, 64:76-83, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.11.028.
- Marles R.J., Farnsworth N.R. (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomed*, 2(2):137-189, doi: 10.1016/S0944-7113(11)80059-0.
- McDougall G.J., Dobson P., Smith P. (2005). Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an *in vitro* digestion system. *J Agr Food Chem*, 53: 5896–5904, doi: 10.1021/jf050131p.
- Meral, R., Doğan, İ.S. (2012). Karadut (*Morus nigra*) katkılı ekmeğin antioksidan aktivitesi ve fenolik kompozisyonu. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(4):43-48.
- Natic M.M., Dabić D.C., Papetti A. (2015). Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia *J Food Chem*, 171:128-136, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.101.
- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G.A. (2011). The role dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci*, 76(1): R6-R15, doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01957.x.
- Papamichou, D., Panagiotakos, D.B., Itsiopoulos, C. (2019). Dietary patterns and management of type 2 diabetes: A systematic review of randomised clinical trials. *Nutr Metab Cardiovas*, 29(6):531-543, doi: 10.1016/j.numecd.2019.02.004.
- Peng, X., Ma, J., Cheng, K.W., Jiang, Y., Chen, F., Wang, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. *Food Chem*, 119(1):49-53, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.083.
- Preedy, V. R., Watson, R. R. (Eds.). (2019). *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Chapter 22: Effects of Phytochemical Fortification of Flour and Bread on Human Health, p.273-289. Academic press.
- Rodriguez, M. M., Rodriguez, A., Mascheroni, R. H. (2015). Color, texture, rehydration ability and phenolic compounds of plums partially osmodehydrated and finish-dried by hot air. *J Food Process Pres*, 39:2647– 2662, doi: 10.1111/jfpp.12515.
- Sivam, A. S., Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I., Quek, S., Perera, C. O. (2011). Physicochemical properties of bread dough and finished bread with added pectin fiber and phenolic antioxidants. *J Food Sci*, 76(3):H97-H107, doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02086.x.
- Tsai, P.J., Delva, L., Yu, T.Y., Huang, Y.T., Dufosse, L. (2005). Effect of sucrose on the anthocyanin and antioxidant capacity of mulberry extract during high temperature heating. *Food Res Int*, 38:1059-1065, doi: 10.1016/j.foodres.2005.03.017.
- Tucci, S.A., Boyland E.J., Halford, J.C.G. (2010). The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: review current and emerging therapeutic agents. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 3:125-143, doi: 10.2147/dmsott.s7005.
- Ünlüer, A. (2011). Beyaz Dut (*Morus alba*) ve Karadut (*Morus nigra*) Yaprak Özütleri Üzerine Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Manisa, Türkiye, 48 s.
- Vadivel, V., Nandety, A., Biesalski, H.K. (2011). Antioxidant potential and health relevant functionality of traditionally processed *Cassia hirsute* L. seeds: An Indian underutilized food legume. *Plant Food Hum Nutr*, 66: 245–253, doi: 10.1007/s11130-011-0237-1.
- Yun, J.W. (2010). Possible anti-obesity therapeutics from nature-A review. *Phytochem*, 71(14-15):1625-1641, doi: 10.1016/j.phytochem.2010.07.011.
- Zhou, B., Meng, Q. X., Ren, L. P., Shi, F. H., Wei, Z., Zhou, Z. M. (2012). Evaluation of chemical composition, in situ degradability and *in vitro* gas production of ensiled and sun-dried mulberry pomace. *J of Anim Feed Sci*, 21(1), doi: 10.22358/jafs/66063/2012.



**DETERMINATION EXTRACTION CONDITIONS FOR MAXIMUM  
PHENOLIC COMPOUNDS IN THE KIWIFRUIT USING RESPONSE SURFACE  
DESIGN**

**Cemal Kasnak\*, Recep Palamutoğlu**

Department of Nutrition and Dietetics, Health Science Faculty, Afyonkarahisar Health Sciences University,  
Afyonkarahisar, Turkey

Received/Geliş: 16.06.2020; Accepted / Kabul: 17.09.2020; Published online / Online baskı: 30.09.2020

Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2020). Determination extraction conditions for maximum phenolic compounds in the kiwifruit using response surface design. *GIDA* (2020) 45(5)989-996 doi: 10.15237/gida.GD20079.

Kasnak, C., Palamutoğlu, R. (2020). Yanıt yüzey tasarımı kullanılarak kivi meyvesindeki maksimum fenolik bileşikler için ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi. *GIDA* (2020) 45(5)989-996 doi: 10.15237/gida.GD20079.

**ABSTRACT**

The study aims to determine the extraction parameters for maximal phenolic compounds and antioxidant activity from kiwifruit by using response surface methodology (RSM). Box-Behnken experimental design of RSM was applied to determine the effect of extraction parameters. Three independent variables were selected at three levels: methanol concentration (A: 60-75-90 %), ultrasound time (B: 5-10-15 min.), and mass of sample (C: 1-2-3 g). Conditions for maximum phenolic yield were found as A = 90%, B= 7.71 min, and C = 3 g, under this condition, DPPH of 88.96 %, ABTS of 739.07 mg/100g FW and TPC of 299.14 mg/100g fresh weight has been obtained.

**Keywords:** Kiwifruit, response surface methodology, total phenolic matter, antioxidant activity

**YANIT YÜZEY TASARIMI KULLANILARAK KİVİ MEYVESİNDEKİ  
MAKSİMUM FENOLİK BİLEŞİKLER İÇİN EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ  
BELİRLENMESİ**

**ÖZ**

Bu çalışmanın ana odak noktası yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanarak kivi meyvesinden olabildiğince fazla fenolik bileşik ve antioksidan aktivite için ekstraksiyon parametrelerini belirlemektir. Ekstraksiyon parametrelerinin etkisini belirlemek için RSM'de Box-Behnken deneysel tasarımı kullanıldı. Metanol konsantrasyonu (A: %60-75-90), ultrason süresi (B: 5-10-15 dakika) ve numune kütlesi (C: 1-2-3 g) olmak üzere üç seviyede üç bağımsız değişken seçildi. Bu şartlar altında maksimum fitokimyasal verim için koşullar A = % 90 metanol konsantrasyonu, B = 7.71 dakika ve C = 3 g olarak bulundu. Bu koşullar altındaki ekstraksiyon sonucu kivide DPPH % 88.96, ABTS 739.07 mg/100 g ve toplam fenolik içerik 299.14 mg/100 g tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Kivi, yanıt yüzey metodolojisi, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite

\*Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author

✉:ckasnak@gmail.com,

☎:(+90)272 246 28 34

☎:(+90)272 246 28 69

Cemal Kasnak; ORCID no: 0000-0002-8312-7829

Recep Palamutoğlu; ORCID no: 0000-0002-1168-081X

## INTRODUCTION

Kiwifruit, which belongs to the genus *Actinidia*, is a comestible fruit with kernels entombed in flesh. The fruits are of Chinese origin and produce over 4 million tons per year in the world (Li and Zhu, 2019; Vivek et al., 2016). Due to its high nutritional and medicinal value, it is considered one of the most prominent horticultural plants in the world. Kiwifruit is rich in bioactive compounds such as ascorbic acid, polyphenols, and flavonoids, which have important health benefits. Therefore, it has a high antioxidative capacity (Amodio et al., 2007). It is accepted that the consumption of foods with high antioxidant capacity has a positive effect on health by reducing oxidative stress (Kasnak and Palamutoğlu, 2015). Antioxidant activity can be determined using certain radicals such as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) or can be estimated because it correlates with total phenolic and ascorbic acid contents (Moharram and Youssef, 2014).

Phenolics are important compounds found as secondary metabolites in all plants (Khoddami et al., 2013; Naczka and Shahidi, 2004). The extraction of phenolics from source materials is the first place in their analysis (Naczka and Shahidi, 2004). Improper extraction time, solvent purity, and plant material solvent rate can lead to insufficient extraction of polyphenols. Therefore, appropriate extraction parameters should be selected for the proper determination quantification of phenolics (Jakobek et al., 2015). RSM is a good option for choosing the right extraction parameters. For this reason, many studies have been conducted to determine the optimum extraction conditions using RSM (Şahin and Şamlı, 2013; Mushtaq et al., 2014; Belwal et al., 2016; Sharmila et al., 2016; Pandey et al., 2018; Qadir et al., 2019).

The extraction of phenolic compounds in fruits and plant material is influenced by its chemical structure, the extraction method used, sample particle size, sample amount, solvent type and concentration, storage time and conditions, as well as the presence of inhibitors (Robbins, 2003). Water, ethanol, methanol, ethyl acetate, acetone,

and to lesser extent propanol, isopropyl alcohol, and combinations thereof are often used for the extraction of phenolics (Antolovich et al., 2000). In the pre-trials of this study, methanol was chosen as the solvent which gave good results. Recently, ultrasound-assisted extraction has been used successfully for the extraction of phenolic compounds (Arshadi et al., 2016). Here, cavitations bubbles on the surface of the cell walls are provided to break down the cell wall by mechanical and thermal effects and better penetration of the solvent into phenolics (Martínez-Patiño et al., 2019).

To determine total phenolic content and antioxidant activity accurately in fruits such as kiwifruit, the extraction conditions applied should be optimum. In this study, it was aimed to determine the most suitable extraction conditions to obtain maximum phenolic content with the use of RSM.

## MATERIALS AND METHODS

### Sample Preparation

Kiwifruits were purchased from markets in Afyonkarahisar, Turkey. The kiwifruits were selected for the same magnitude. The kiwifruits were brought to the laboratory without waiting. The fruits were washed, peeled, and grated. All of the chemicals used in the analysis were purchased from Sigma-Aldrich.

### Extraction

Three different amounts (1g, 2g, and 3g) of the grated kiwifruits sample were homogenized at 11000 rpm in 20 mL of 60-75-90% methanol for 3 minutes. The homogenate was sonicated for 5-10-15 min with an ultrasonic bath (Daihan WUC.D03H, Korea) and after that, it was centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes. The supernatant was filtered and kept at -18 °C until analysis. The filtrate was used in total phenolic content (TPC), DPPH, and ABTS analyzes and all results were determined on fresh weight.

### Determination of DPPH radical scavenging activity

The antioxidant activity of the samples was determined by using the DPPH radical scavenging method (Brand-Williams et al., 1995).



4.10 M DPPH solution was prepared with 100% methanol. 400 µL of DPPH solution and 1600 µL of the sample solution was mixed and incubated for 30 minutes in the dark. All samples were read at the spectrophotometer (Optizen pop, Korea) at 517 nm. The antioxidant activity was evaluated using the formula. DPPH results are given as percentages.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \frac{(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}})}{A_{\text{Control}}} \times 100 \quad (1)$$

#### Determination of ABTS radical scavenging activity

ABTS radical cation decolorization analysis was carried out by making some modifications according to by (Re et al., 1999). 1.8 mM ABTS was mixed with 0.63 mM potassium persulfate solution (1:1) and mix waited in the dark for twenty-four hours. The solution was mixed with methanol till the absorbance was 0.700 + 0.030 at 734 nm was obtained. 1980 µL of the prepared solution was mixed with 20 µL of the sample and read on the spectrophotometer. Results are given as the Trolox equivalent.

#### Total Phenolic Content (TPC)

0.5 mL of kiwifruit extract, 7 mL of pure water, and 0.5 mL of Folin-Chiocalteu reagent were mixed and incubated for three minutes. Then 2 mL of 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added and mixed again. The mixture was allowed to stand at 25 °C water bath for 1 hour. It was read at 765 nm on the spectrophotometer. The concentration was determined with the gallic acid curve (Kaur and Kapoor, 2002). Results are given as gallic acid equivalent.

#### Experimental design and Statistical analysis

The optimum situations for the extraction process were appraised by Box-Behnken experimental design (BBD) of RSM using the Design Expert 11 trial program. The independent variables were methanol (60, 75, and 90%, A), ultrasound time (5, 10, and 15 min., B), and mass of kiwifruits (1, 2, and 3 g, C). The dependent variables were DPPH, TPC, and ABTS. The design used was BBD, based on these fifteen experiments were designed with 4 axial points, 4 cube points, and 7 center points in a cube. A three-level, three factors Box-Behnken experimental design is seen in Table 1. Two replicate runs were performed for each tuber.

Table 1 Actual values used for the BBD and DPPH, ABTS and TPC of kiwifruit extract.

Std	PtTy pe	Blocks	Run	Methanol %	Ultrasound Time	Mass of Sample	DPPH (%)	TPC (mg GAE/100g fw)	ABTS (mg TE/ 100g fw)
11	2	1	1	75	5	3	87.76	265.00	682.14
12	2	1	2	75	15	3	86.32	320.00	787.94
4	2	1	3	90	15	2	87.84	220.00	549.65
8	2	1	4	90	10	3	88.00	280.00	680.67
2	2	1	5	90	5	2	88.48	225.00	582.80
5	2	1	6	60	10	1	88.26	120.00	274.64
10	2	1	7	75	15	1	88.96	110.00	332.87
13	0	1	8	75	10	2	86.70	250.00	570.57
9	2	1	9	75	5	1	88.18	120.00	289.08
15	0	1	10	75	10	2	87.19	230.00	551.97
1	2	1	11	60	5	2	84.40	210.00	473.66
6	2	1	12	90	10	1	88.88	125.00	316.72
7	2	1	13	60	10	3	84.11	320.00	619.87
14	0	1	14	75	10	2	87.19	230.00	551.97
3	2	1	15	60	15	2	85.30	225.00	480.65

## RESULTS AND DISCUSSIONS

### Analysis of variance (ANOVA) and estimated regression of each response

Variance analysis is used for model validation. Average squares, degree of freedom, the sum of squares, F-value, and P-value are the parameters that control the effectiveness of the model. The variance of the mean data is evaluated by determining the F-value. Also, P-values validate the model statistically. According to the variance analysis, the parameters are more sensitive at higher F-values. Besides, the model for P values less than 0.05 is statistically approved (Majdi et al., 2019). The good fit model R<sup>2</sup> value should be more than 0.8 (Rana et al., 2018).

### Response Surface Methodology

The trials were made according to BBD demonstrated in table 1, which proposes the

impact of process factors in the increment of ABTS, DPPH, and TPC of the phytochemicals extracted from kiwifruit. The DPPH value of 88.96%, TPC of 3.2 mg/g, and ABTS of 7.88 mg/g were found to be maximal responses carried from correspondent runs 10, 12, and 12 respectively. Based on the outcomes made from the empirical runs, ANOVA statistics (Tables 2–4) were created. The interaction impacts of the singular process variables were confirmed using three-dimensional response surface plots. The generated equation (Eqs. 2) in coded level, taking account for the DPPH of independent variables, is given below:

$$DPPH = 87.03 + 1.39A - 1.01C + 0.8169AC + 0.7916C^2 \quad (2)$$

Table 2 ANOVA statistics for the DPPH of kiwifruit

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	31.67	9	3.52	13.45	0.0053	significant
A-Methanol	15.47	1	15.47	59.14	0.0006	significant
B-Ultrasound Time	0.0194	1	0.0194	0.0743	0.7961	
C-Mass of Sample	8.17	1	8.17	31.24	0.0025	significant
AB	0.5953	1	0.5953	2.28	0.1918	
AC	2.67	1	2.67	10.2	0.0241	significant
BC	1.24	1	1.24	4.72	0.0818	
A <sup>2</sup>	0.9478	1	0.9478	3.62	0.1153	
B <sup>2</sup>	0.0008	1	0.0008	0.0032	0.9568	
C <sup>2</sup>	2.31	1	2.31	8.85	0.031	significant
Residual	1.31	5	0.2616			
Lack of Fit	1.15	3	0.382	4.72	0.1797	not significant
Pure Error	0.1618	2	0.0809			
Total	32.98	14				
R <sup>2</sup> =0.9603 Adj R <sup>2</sup> =0.8890						

Table 2 shows that the linear effect of methanol and sample mass, the methanol% mass effect, and the square effect of sample mass and sample mass are important for DPPH. Lack of Conformity the F-value 4.72 means that the Lack of Conformity is not critical to the pure error. The DPPH

antioxidant activity had an R<sup>2</sup> value of 0.9603. This means that 96.03% of the changes in the DPPH antioxidant activity model have been explained. Good regression value demonstrated the credibility of the model.

## Determination extraction conditions in kiwifruit using RSD

Table 3 ANOVA statistics for the TPC of kiwifruit

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	63468.75	3	21156.25	53.32	< 0.0001	significant
A-Methanol	78.13	1	78.13	0.1969	0.6658	
B-Ultrasound Time	378.13	1	378.13	0.953	0.3499	
C-Mass of Sample	63012.5	1	63012.5	158.81	< 0.0001	significant
Residual	4364.58	11	396.78			
Lack of Fit	4097.92	9	455.32	3.41	0.247	not significant
Pure Error	266.67	2	133.33			
Total	67833.33	14				

R<sup>2</sup>=0.9357    Adj R<sup>2</sup>=0.9181

Table 3 states that TPC develops with a significant linear effect of the sample mass. The F value of 53.32 indicates that the model is important. However, a single variable model is not suitable because the only mass of sample is important. The model could not be established because only one variable was significant. The

study of the determination of phenolic compounds in apple by (Jakobek et al., 2015), the highest total phenolic content was observed by using 60% and 80% concentration of methanol (599 and 604 mg kg<sup>-1</sup> FW. respectively).

Table 4 ANOVA statistics for the ABTS of kiwifruit

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	3.15E+05	3	1.05E+05	53.14	< 0.0001	significant
A-Methanol	9871.11	1	9871.11	5	0.0471	significant
B-Ultrasound Time	1904.52	1	1904.52	0.9642	0.3472	
C-Mass of Sample	3.03E+05	1	3.03E+05	153.47	< 0.0001	significant
Residual	21728.47	11	1975.32			
Lack of Fit	21497.97	9	2388.66	20.73	0.0469	significant
Pure Error	230.5	2	115.25			
Total	3.37E+05	14				

R<sup>2</sup>=0.9355    Adj R<sup>2</sup>=0.9179

Table 4 explained that ABTS was developed by the significant linear effect of % methanol and sample mass. 53.14 Model F value indicates that the model is important. However, the model is not reliable because the lack of fit is significant (p<0.05). Our ratio of 20.024 indicates a sufficient signal. DPPH % was frankly studied through the pictorial presentment in the form of the 3D graphic (Figure 1).

Figure 1a shows the DPPH % antioxidant activity of the combination of ultrasound time and methanol by response surface plot for the optimized geometry. This figure defined that to get the highest DPPH % value (88.3317%) at the mass of sample of 2 g. the values of control factors were found as ultrasound time=5 minutes and methanol=90%. In the optimization of bioactive compound extraction by microwave parameters from *Kappaphycus alvarezii* using RSM by (Baskararaj et al., 2019), the best solvent was

reported to be methanol and the optimum methanol concentration was 80%. Figure 1b shows a cubic arrangement of the mean responses in the function of factors methanol, ultrasound time, and mass of sample for DPPH %. This

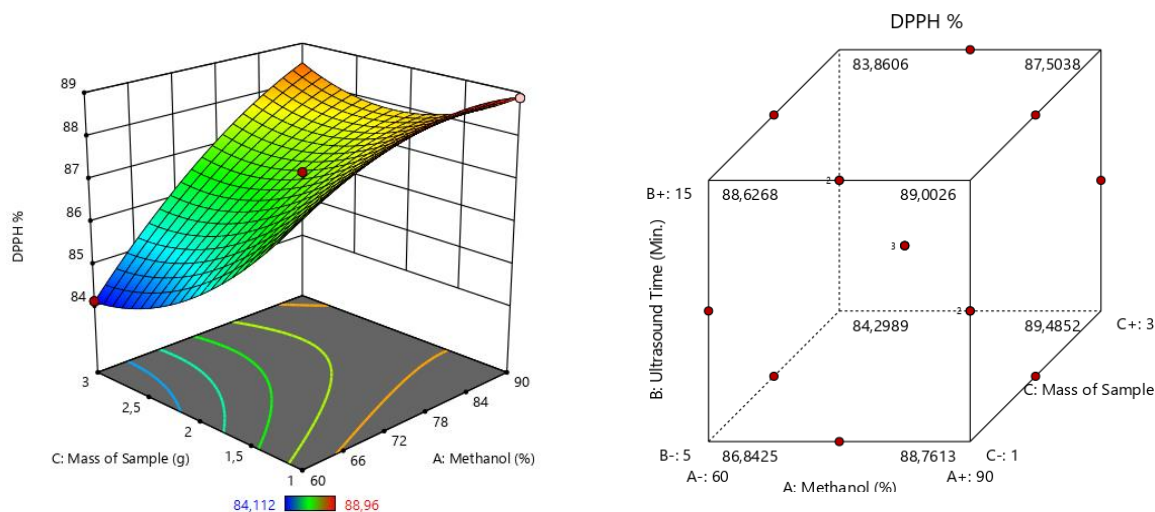


Figure 1 (a) Response surface for the effect of mass of sample (g) and methanol (%) on the DPPH % antioxidant activity at the ultrasound time at 10 min. (b) Cubic arrangement of the mean responses in function of factors methanol, ultrasound time and mass of sample for DPPH %.

The parameters applied in the study of RSM assisted extraction of bioactive contents in *Nephelium lappaceum* L. fruit peel by (Prakash Maran et al., 2017) are 50° C extraction temperature, 20 W ultrasound power, 20 minutes extraction time and 1: 18.6 g / mL solid-liquid rate. Results under that conditions, total anthocyanin ( $10.26 \pm 0.39$  (mg/ 100 g)), phenolics ( $552.64 \pm 1.57$  (mg GAE/100 g)), and flavonoid ( $104 \pm 1.13$  (mg RE/100 g)) contents were found. In the research conducted by (Sharmila et al., 2019), response surface analysis estimated the optimal level of sonication power, flower mass, extraction time and methanol concentration at 30W, 2 g, 15 min., and 100% respectively for the maximum response of pigment absorbance (3.46), TPC (246.6 mg/g, and antioxidant activity (55.7%). In their study on the ultrasound-assisted extraction of trademarked teas by (Afroz Bakht et al., 2018), frequencies (26 kHz, 40 kHz), temperature (30, 40 and 50° C) and power (30%, 40 and 50%) were applied over a fixed period of 30 minutes. They reported that in both the

figure portrayed that the highest DPPH antioxidant activity (89.4852%) was found with methanol 90%, ultrasound time 5 min., and mass of sample 3 g.

ultrasonic frequencies, 40° C temperature, and 40% power combination exhibited the highest cumulative yield. In contrast to our study here, the ultrasonic bath assisted extraction process has worked.

## CONCLUSIONS

In our study, the maximum yield conditions for the extraction of phenolic contents in the kiwifruit were determined using the RSM using BBD. Only the model could be installed for DPPH. The DPPH model was statistically highly significant ( $P < 0.01$ ). The model established for ABTS was not reliable because a lack of fit turned out to be important. The model could not be established in TPC because the model where a single variable is significant is not suitable. The order of importance of the three applications for DPPH was determined as follows: Methanol concentration > Mass of Sample > Ultrasound Time. The maximum phenolic efficiency for this process was found to be mass of sample = 3 g, methanol concentration: 90 %, and ultrasound

time: 7.71 min. Values were determined with the help of a response optimizer to maximize all of the DPPH, ABTS, and TPC responses.

### CONFLICT OF INTEREST

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

### AUTHOR CONTRIBUTIONS

CK designed the research. CK and RP conducted experiments of the research. CK and RP made statistical analyzes. CK wrote the article. All authors contributed the article and approved the submitted version.

### REFERENCES

- Afroz Bakht, M., Geesi, M.H., Riadi, Y., Imran, M., Imtiyaz Ali, M., Ahsan, M.J., Ajmal, N. 2018. Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study. *Saudi J Biol Sci*, 26(5):1043-1052, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.07.013>
- Amodio, M.L., Colelli, G., Hasey, J.K., Kader, A.A. 2007. A comparative study of composition and postharvest performance of organically and conventionally grown kiwifruits. *J Sci Food Agric*, 87(7): 1228–1236, <https://doi.org/10.1002/jsfa.2820>
- Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., Ryan, D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst*, 125(5): 989–1009, <https://doi.org/10.1039/b000080i>
- Arshadi, M., Attard, T.M., Lukasik, R.M., Brncic, M., da Costa Lopes, A.M., Finell, M., Geladi, P., Gerschenson, L.N., Gogus, F., Herrero, M., Hunt, A.J. 2016. Pre-treatment and extraction techniques for recovery of added value compounds from wastes throughout the agri-food chain. *Green Chem*, 18(23): 6160-6204, <https://doi.org/10.1039/C6GC01389A>
- Baskararaj, S., Theivendren, P., Palanisamy, P., Kannan, S., Pavadai, P., Arunachalam, S., Sankaranarayanan, M., Mohan, U.P., Ramasamy, L., Kunjiappan, S. 2019. Optimization of bioactive compounds extraction assisted by microwave parameters from *Kappaphycus alvarezii* using RSM and ANFIS modeling. *J Food Meas Charact*, 13(4):2773-2789, <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00198-1>
- Belwal, T., Dhyani, P., Bhatt, I.D., Rawal, R.S., Pande, V. 2016. Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Berberis asiatica* fruits using response surface methodology (RSM). *Food Chem*, 207:115-124, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.081>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*, 28(1): 25–30, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Jakobek, L., Boc, M., Barron, A.R. 2015. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Apples. *Food Anal Methods*, 8(10):2612–2625, <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0161-3>
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Turkish J Agric - Food Sci Technol*, 3(5):226–234, <https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i5.226-234.171>
- Kaur, C., Kapoor, H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int Food Sci Technol*, 37(2):153–161, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x>
- Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2): 2328-2375, <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>
- Li, D., Zhu, F. 2019. Physicochemical, functional and nutritional properties of kiwifruit flour. *Food Hydrocoll*, 92:250–258, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.047>
- Majdi, H., Esfahani, J.A., Mohebbi, M. 2019. Optimization of convective drying by response surface methodology. *Comput Electron Agric*, 156:574–584, <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.12.021>
- Martínez-Patiño, J.C., Gullón, B., Romero, I., Ruiz, E., Brncić, M., Žlabur, J.Š., Castro, E. 2019.

- Optimization of ultrasound-assisted extraction of biomass from olive trees using response surface methodology. *Ultrason Sonochem*, 51: 487-495, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.031>
- Moharram, H.A., Youssef, M.M. 2014. Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alexandria J Food Sci Technol*, 11(1):31-42, <https://doi.org/10.12816/0025348>
- Mushtaq, M., Sultana, B., Bhatti, H.N., Asghar, M. 2015. RSM based optimized enzyme-assisted extraction of antioxidant phenolics from underutilized watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) rind. *J Food Sci Technol*, 52(8): 5048-5056, <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1562-9>
- Naczki, M., Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A*, 1054(1-2): 95-111, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>
- Pandey, A., Belwal, T., Sekar, K. C., Bhatt, I. D., Rawal, R. S. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM). *Ind Crops Prod*, 119: 218-225, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.019>
- Prakash Maran, J., Manikandan, S., Vigna Nivetha, C., Dinesh, R. 2017. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arab J Chem*, 10: S1145-S1157, <https://doi.org/10.1016/j.arabjch.2013.02.007>
- Qadir R., Anwar F., Gilani M.A., Zahoor S., Misbahur Rehman M., Mustaqeem M. 2019. RSM/ANN based optimized recovery of phenolics from mulberry leaves by enzyme-assisted extraction. *Czech J Food Sci*, 37(2): 99-105, <https://doi.org/10.17221/147/2018-CJFS>
- Rana, S.S., Pradhan, R.C., Mishra, S. 2018. Optimization of chemical treatment on fresh cut tender jackfruit slices for prevention of browning by using response surface methodology. *Int Food Res J*, 25(1): 196-203.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10): 1231-1237, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Robbins, R.J. 2003. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J Agric Food Chem*, 51(10): 2866-2887, <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Sharmila, G., Nikitha, V. S., Ilaiyarasi, S., Dhivya, K., Rajasekar, V., Kumar, N.M., Muthukumaran, K., Muthukumaran, C. (2016). Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Ind Crops Prod*, 84: 13-21, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.010>
- Sharmila, G., Muthukumaran, C., Suriya, E., Muppudathi Keerthana, R., Kamatchi, M., Kumar, N.M., Anbarasan, T., Jeyanthi, J. 2019. Ultrasound aided extraction of yellow pigment from *Tecoma castanifolia* floral petals: Optimization by response surface method and evaluation of the antioxidant activity. *Ind Crops Prod*, 130: 467-477, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.008>
- Şahin, S., Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrason Sonochem*, 20(1): 595-602, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>
- Vivek, K., Subbarao, K. V., Srivastava, B. 2016. Optimization of postharvest ultrasonic treatment of kiwifruit using RSM. *Ultrason Sonochem*, 32: 328-335, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.03.029>

## MARGARİN FORMÜLASYONUNDA KONJÜGE LİNOLEİK ASİT KULLANIMININ DEPOLAMA STABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Ayşe Güney, Hamza Alaşalvar, Hakan Erinç\***

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde, Türkiye

Geliş / Received: 10.04.2020; Kabul / Accepted: 22.09.2020; Online baskı / Published online: 30.09.2020

Güney, A., Alaşalvar, H., Erinç, H. (2020). Margarin formülasyonunda konjüğe linoleik asit kullanımının depolama stabilitesi üzerine etkisi. GIDA (2020) 45(5) 997-1008 doi: 10.15237/gida.GD20059

Güney, A., Alaşalvar, H., Erinç, H. (2020). The effect of conjugated linoleic acid addition on the storage stability of margarine. GIDA (2020) 45(5) 997-1008 doi: 10.15237/gida.GD20059

### ÖZ

Sunulan bu çalışmada, konjüğe linoleik asit (KLA) bakımından zengin margarin formülasyonlarının üretiminde iki farklı formda (esterifiye ve mikroenkapsüle), farklı miktarlarda KLA kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla, üretilen margarinlerin karakterizasyonu yapılmış ve 120 gün süresince depolama stabiliteyi belirlenmiştir. Depolama süresinde KLA ve mikro-enkapsüle KLA miktarının artması ile parlaklık ve yeşillik değerlerinde bir miktar azalma gözlemlenmesine rağmen, sarılık değeri bir miktar artmıştır. Ayrıca depolama süresince yapılan serbest yağ asitliğinde KLA miktarının artması ve depolama süresinin uzaması ile bir miktar azalma meydana gelmiştir. Peroksit sayısında ise depolama süresince KLA miktarının artması ile bir miktar artma gözlemlenmiştir. Bir diğer oksidasyon analizi olan malonaldehit analizinde ise KLA kullanımı ile çok az bir miktarda artış gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Konjüğe linoleik asit, margarin, enkapsülasyon, depolama

## THE EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID ADDITION ON THE STORAGE STABILITY OF MARGARINE

### ABSTRACT

In this study, it was investigated the possibilities of conjugated linoleic acid (CLA) usage in different forms (esterified and microencapsulated) and different ratios in the production of CLA-rich margarine formulations. For this purpose, the margarine formulations were characterized and their storage stability was determined for 120 days. Although a slight decrease in brightness and greenness values was observed with increase in the amount of CLA and micro-encapsulated CLA during the storage period, the yellowness value slightly increased. Besides, there was a decrease in free fatty acidity with an increase in the amount of CLA and extending storage time. A slight increase was observed in peroxide value of margarine with the increase in the amount of CLA during storage. In malonaldehyde analysis, which is another oxidation analysis, an increase was observed with the use of CLA.

**Keywords:** Conjugated linoleic acid, margarine, encapsulation, storage

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ hakanerinc@hotmail.com,

☎ (+90) 388 225 4005,

☎ (+90) 388 225 0112

Ayşe Güney; ORCID no: 0000-0002-6730-8910

Hamza Alaşalvar; ORCID no: 0000-0003-3000-7310

Hakan Erinç; ORCID no: 0000-0001-8858-4570

## GİRİŞ

Günümüzde hızlı yaşam koşulları ve dünya nüfusunun artması insan beslenmesi üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak obezite, kalp-damar hastalıkları, sindirim sistemi rahatsızlıkları gibi hastalıklar meydana gelmektedir. Sağlıklı bir şekilde yaşayabilmek ve gelişebilmek ancak yeterli ve dengeli beslenme ile gerçekleştirilebilir (Çelik ve Demirel, 2004).

Gıdalar insan fizyolojisi için gerekli olan temel mikro ve makro besin kaynaklarını içerebildikleri gibi sağlık açısından olumlu etkilere sahip ve vücuda alınması zorunlu olan bileşikler de içermelidir. Gıdaların sahip olduğu bu özelliklerden dolayı günümüzde fonksiyonel gıda bileşenlerine ilgi artmaktadır. Bu fonksiyonel gıda bileşenlerinden birisi de konjuge linoleik asittir. Konjuge linoleik asit (KLA) izomerleri ruminant hayvanlardan elde edilen gerek insan gerek ise hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda vücuda yararlı etkileri tespit edilmiş olan sağlığa yararlı fonksiyonel lipidler olarak dikkat çektedirler (Bauman vd., 2000).

Çoklu doymamış yağ asidi olan KLA, esansiyel yağ asidi olan linoleik asidin (C18:2 *9c-12c*) pozisyonel ve geometrik izomerlerinin bir karışımını oluşturmaktadır (Akalın vd., 2003; Cook ve Pariza, 1998; Lavillonniere vd., 1998; Rainer ve Heiss, 2004; Şahin vd., 2003; Watkins ve Li, 2002).

KLA'nın insan vücudu üzerinde birçok faydalı etkileri rapor edilmiştir (Ercoşkun vd., 2005; Kung ve Yang, 2006). Aynı zamanda KLA farelerde deri (Pariza vd., 1985; Ha vd., 1987) ve mide (Ha vd., 1990) ve sıçanlarda ise meme tümörlerinin (Ip vd., 1991) gelişimini inhibe edebildiği ya da azaltabildiği, ayrıca bağışıklık sistemini iyileştirdiği (Cook vd., 1998), tavşanlarda kötü kolesterolü azaltıp iyi kolesterolü arttırdığı (Lee vd., 1994) aynı zamanda antiobezite etki gösterdiği saptanmıştır (Keim vd., 2003).

Literatürde KLA'nın insanlar üzerindeki biyolojik ve fizyolojik etkilerini gösterilebilmesi için günlük tüketilmesi gereken miktarı hakkında farklı veriler bulunmasına rağmen birçok araştırmacı günlük

tüketimin en az 3 g olmasını önermektedir (Ip vd., 1995; Ha vd., 1998; Chamruspollert ve Sell, 1999; Blankson vd., 2000; Cherian vd., 2002; Hah vd., 2006).

Günümüzde tüketici sağlığına katkıda bulunabilecek fonksiyonel gıdalara artan ilginin sonucu olarak margarin fitosteroller ve çoklu doymamış yağ asidi grupları (Nair ve ark. 1997) gibi kardiyovasküler olarak yararlı görünen katkı maddeleri ile zenginleştirmeye yönelik artan bir eğilim vardır (Marangoni ve Poli, 2010). Margarin, bitkisel yağlardan elde edilen ve yağ içinde su tipi emülsifiye bir gıdadır. Margarinler sıvı yağlarla karşılaştırıldığında oldukça önemli A ve D vitamin kaynağıdır. Çocukların sağlıklı büyüme ve gelişiminde esansiyel yağ asidi olan omega-3 ve omega-6 yağ asitlerini içermesinden dolayı bitkisel yağlardan yapılan margarinler beslenmede büyük önem taşır (Sopelana vd., 2013).

Bu çalışmanın amacı, kimyasal yolla üretilen KLA izomerlerinin belirlenmesi ve margarin üretiminde kullanılmasıdır. Böylelikle KLA tüketiminin artabileceği gibi margarin formülasyonun iyileştirilmesiyle daha sağlıklı ve işlevsel bir ürün ortaya çıkarmaktır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Margarin üretiminde kullanılan KLA karışımı, mikroenkapsüle edilmiş KLA ve gerekli olan diğer margarin bileşenleri ve kimyasallar bölümümüzde yürütülen "Mikrodalga Işıyım ve Ultrases Dalgaları ile Konjüge Linoleik Asit Üretiminin Optimizasyonu ve Margarin Formülasyonunda Kullanımı" başlıklı BAP (GTB 2018/05-BAGEP) projesi kapsamında elde edilmiştir. Margarin üretiminde kullanılan KLA Alaşalvar vd. (2019) tarafından tanımlanan mikrodalga destekli alkali izomerizasyon metodu ile gerçekleştirilmiştir. KLA'nın mikroenkapsülasyonunda kaplama maddesi olarak margarin formülasyonunda yer alan süt tozu kullanılmıştır. Besleme emülsiyonunun hazırlanmasında kaplama maddesi/KLA oranı 1/1 olarak sabit tutulmuş ve emülsiyon toplam %30 kuru madde içerecek şekilde hazırlanmıştır. Mikroenkapsülasyon işlemi 180°C giriş sıcaklığında, %100 aspirasyon, %30



besleme hızında püskürtmeli kurutucu (B-290, Buchi, İsviçre) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1'de margarin üretiminde kullanılan yağların yağ asidi bileşimleri verilmiştir.

Çizelge 1. Susuz margarin, palm stearin, KLA ve ayçiçek yağının yağ asidi içeriği

Table 1. Fatty acid contents of hard stock oil, palm stearin, CLA and sunflower oil

Yağ Asidi	Susuz margarin	Palm Stearin	KLA	Ayçiçek Yağı
	(%) Hard stock oil	(%) Palm Stearin	(%) CLA	(%) Sunflower oil
Miristik asit (14:0)	1.004	1.181	0.394	0.076
Palmitik asit (16:0)	45.373	63.042	18.459	5.816
Palmitoleik (16:1)	1.763	2.235	1.006	0.115
Stearik asit (18:0)	4.068	4.546	1.399	3.252
Oleik asit (18:1)	36.882	23.672	20.825	35.994
Linoleik asit (18:2)	10.015	5.324	21.498	54.689
Linolenik asit (18:3)	0.483		1.027	0.058
Araşidik asit (20:0)	0.316			
Gadoleik asit (20:1)	0.096			
9c-11t KLA			16.471	
10t-12c KLA			17.281	
Diğer KLA İzomerleri			1.640	
Toplam KLA			35.393	

### Metot

#### Yağ asitlerinin transesterifikasyonu ile metil esteri eldesi

Christie (1989) tarafından bildirilen ve Kim ve Liu (1999) tarafından modifiye edilen yağ asitlerinin asidik ortamda transesterifikasyonu metodu kullanılarak serbest yağ asitlerinin metil esterleri oluşturulmuştur. Bu amaçla 2 mg örnek üzerine 0.12 mL %1'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (metanolde) ilave edilmiş ve 70°C'de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra üzerine %5'lik NaCl çözeltisinden 0.14 mL ilave edilmiş ve ayırma hunisinde 15 mL hekzan ile 2 kez ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Hekzan fazı üzerine %4'lük 0.12 mL potasyum bikarbonat ilave edilip sodyum sülfat varlığında vakum altında filtre edilerek yağ asidi metil esterleri elde edilmiştir.

#### İnteresterifikasyon işlemi ile KLA esteri hazırlama

İnteresterifikasyon işlemi çift cidarlı erlen kullanılarak vakum altında gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için palm stearin ve metillendirilmiş-KLA (kontrol örneğinde linoleik asit) oranı 1/3 olacak şekilde karıştırılmıştır. Manyetik karıştırıcı kullanılarak vakum ortamında yağın sıcaklığı 90

°C'ye getirilerek 15 dk süreyle karıştırılması ile nemi uzaklaştırılmıştır. Daha sonra katalizör olarak %30'luk sodyum metilat (CH<sub>3</sub>ONa) çözeltisinden %0.5 oranında yağa eklenerek, 30 dakika süre ile 90 °C'de vakum altında karıştırılmıştır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra katalizörün inaktif hale getirilmesi için toplam yağ ağırlığının %2'si oranında %20'lik sitrik asit çözeltisi karışıma eklenmiş ve aynı sıcaklıkta 15 dakika karıştırma işlemine devam edilmiştir. Yağlar ağartma toprağı kullanılarak kâğıt filtreden süzölmüş ve böylece katalizör ve yabancı maddeler uzaklaştırılmıştır. Elde edilen yağlar, analizler gerçekleştirilinceye kadar -18 °C'de bekletilmiştir (Zeitoun vd., 1993). Bu aşamada üretilen örneklerin KLA içeriği analiz edilmiş ve %1, 2.5, 5, 7.5 ve %10 KLA içeren son ürünler paçal yapılarak hazırlanmıştır.

#### HPLC yağ asitlerinin miktar ve izomer analizi

Son ürünlerin KLA izomerleri içeriği, Sehat vd. (1999) tarafından önerilen metot kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla HPLC cihazına transesterifikasyon yoluyla oluşturulan yağ asidi metil esterlerini içeren örnekten 20 µL enjekte

edilmiştir. Örneklerin bileşenlerine ayrıştırılmasında “Chromspher 5 lipit” analitik kolonu (4.6 mm ID, 250 mm, 5 µm partikül boyutu, Varian, Polo Alto, CA, USA) ve yağ asitlerinin belirlenmesinde ise UV dedektörü (233 nm) kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak %0.1 asetonitril içeren hekzan kullanılmıştır (akış hızı 1 mL/dakika). İzomerlerin tam olarak tespiti için aynı şartlarda standartların enjeksiyonu yapılmıştır.

#### Margarin üretimi ve analizler

Margarin üretiminde %82 yağ, %16 su, %0.7 tuz, %1 yağsız süt tozu ve %0.3 mono-digliserit karışımı kullanılmıştır. Literatürden farklı olarak antioksidan kullanılmayarak depolama stabilitesinin daha net olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Üretilen margarin örnekleri 4 ay süresince buzdolabında (5°C) depolanmış ve detayları aşağıda verilen şekilde margarinlerin depolama stabiliteyi belirlenmiştir.

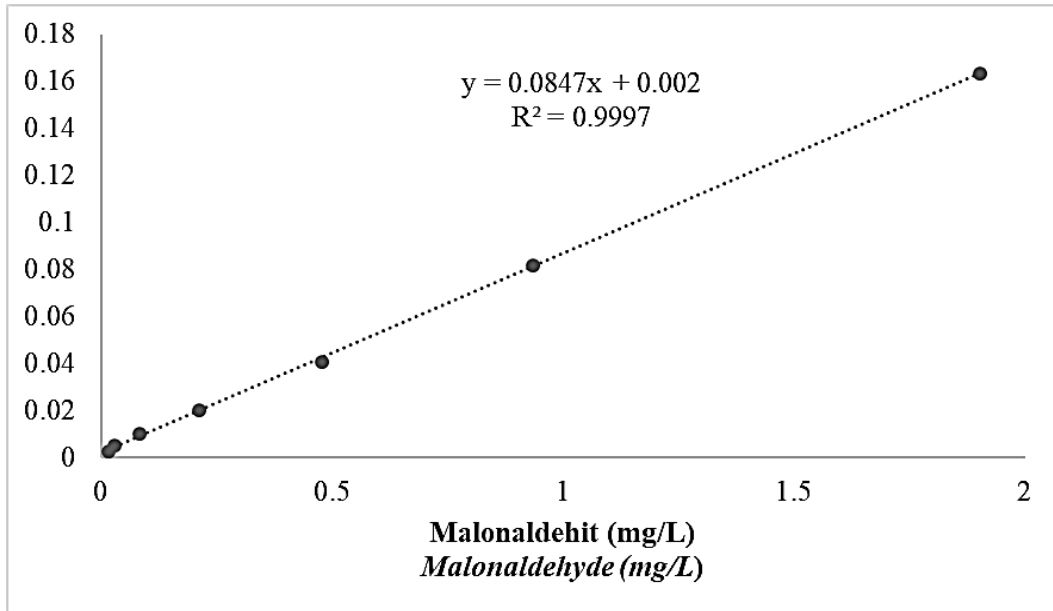
KLA içeriği yüksek margarin üretiminde ise interesterifikasyon işlemi ile üretilen % 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10 KLA içeren yağ kullanılmıştır. Kontrol grubu için ise %0, 1, 10 ayçiçek yağı içeren margarinler hazırlanmıştır. Üretilen margarin örnekleri 4 aylık depolama süresince 0., 15., 30.,

45., 60., 75. 90. ve 120. günlerde analizlere tabi tutulmuştur.

**Renk değerleri:** Margarin örneklerinin renk ölçümleri depolama süresi boyunca yapılmış olup bu amaçla Minolta CR-400 cihazı (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) kullanılarak L\*, a\* ve b\* değerleri belirlenmiştir.

**Serbest yağ asitliği (SYA) ve peroksit sayısı tayini:** Üretilen margarinlerde depolama süresi boyunca serbest yağ asitliği ve peroksit sayısındaki değişimler sırasıyla Cd 3a-63 ve Cd 8-53 (AOCS, 1998) metotları ile belirlenmiştir.

**Malonaldehit analizi (MAD):** Lipit oksidasyonu; 2-Tiyobarbitürik asidin (TBA) MAD ile kalorimetrik tepkimesinin ölçme esasına dayanarak Cd 19-90 (AOCS, 1998) metodu ile belirlenmiştir. Şahit çözeltilere karşı örneğin 538 nm'deki absorbansı okunmuş ve MAD standart eğrisini hazırlamak üzere  $1 \times 10^{-3}$  M Malonaldehit bis (diethyl asetal, % 97) standart çözeltisinden farklı oranlarda seyreltmeler hazırlanmıştır. Hazırlanan seyreltik çözeltilerden elde edilen absorbanslar kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. TBA analizine ait kalibrasyon eğrisi  
Figure 1. Calibration curve for TBA analysis

**BULGULAR VE TARTIŞMA****İntersterifikasyon ile üretilen KLA'lı margarin örneklerine ait sonuçlar  
Renk Değişimi**

Üretilen margarinlerde yapılan renk analizi sonucunda L\* (parlaklık/matlık) değeri, a\* ve b\* değerleri Çizelge 2'de gösterildiği gibidir. L\* değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki aydınlık derecesini ölçmektedir, depolama süresinde en yüksek parlaklık değerine kontrol grubunda rastlanılmıştır. 0. günde %1 gibi düşük oranlarda ayçiçek yağı/KLA kullanılarak üretilen margarinlerde benzer L\* değerleri oluşmasına rağmen %10 ayçiçek yağı kullanımı %10 KLA'ya kıyasla margarinlere daha çok parlaklık vermiştir. Ürünlerde KLA miktarının artmasıyla azalan L\* değeri daha sonraki analizlerde düzensiz olarak artış/azalış göstermiştir. L\* değerindeki azalma KLA içeren örneklerin parlaklığının azaldığının bir göstergesidir. Analiz sonucunda a\* değeri “-” (yeşil) çıkmıştır. 0. günde en yüksek yeşillik değeri %10 ayçiçek yağı ile elde edilen margarinlerde ortaya çıkmış ve aynı oranlarda KLA kullanılarak üretilen margarinler bu değerden bir miktar düşük yeşillik değeri göstermiştir. Analiz edilen bütün örneklerde depolama süresince analiz hatasından kaynaklanabilecek düzensiz artma ve azalmalar gözlemlenmiştir. KLA miktarının artmasıyla beraber örneklerde yeşillik değerinin az miktarda olsa düzensiz olarak arttığı tespit edilmiştir. b\* değeri “+” (sarı) olarak okunmuştur. 0.günde aynı oranlarda Ayçiçek yağı/ KLA ile üretilen margarinler karşılaştırıldığında KLA ilavesinin margarinlere daha çok sarılık verdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda KLA miktarının artması ile sarılık değeri doğru orantı göstermiştir. Depolama süresince düzensiz artma azalmalar gözlemlenmesine rağmen 120. günün sonunda en yüksek b değeri %10 KLA içeren margarinlerde olduğu tespit edilmiştir.

**Serbest yağ asitliği değişimi**

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0. 15. 30. 60. 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0, K 1 ve K 10) ve %1, 2,5, 5, 7,5, 10 KLA içeren örnekler SYA analizi yapılmıştır. SYA analizi sonucunda örneklerde 0.günde en düşük SYA değeri kontrol örneklerinde meydana gelmiştir. %1 ayçiçek yağı ile üretilen

margarinlerde oluşan SYA değeri %1 KLA ile elde edilen ürünlerden bir miktar düşük çıkmasına rağmen bu fark ürünlerdeki ayçiçek/ KLA yağı artışıyla artmıştır. Ayrıca yapıdaki KLA miktarıyla SYA değeri arasında doğru orantılı bir ilişki saptanmıştır. 120 günlük depolama süresince tüm örneklerde düzensiz artma ve azalmalar gözlemlenmesine rağmen depolama süresinin bitiminde başlangıçta belirlenen SYA değerinden oldukça düşük değerler tespit edilmiştir (Çizelge 3).

**Peroksit sayısı değişimi**

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0. 15. 30. 60. 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0, K 1 ve K 10) ve %1, 2,5, 5, 7,5, 10 KLA içeren örneklere peroksit analizi yapılmıştır (Çizelge 4). 0. Günde en yüksek peroksit değeri %10 ayçiçek yağı ile üretilen margarinlerde ortaya çıkmıştır. %1 ayçiçek yağı ile üretilen margarinlerde oluşan peroksit değeri %1 KLA ile üretilen margarinlerden elde edilen peroksit değerinden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ancak %10 ayçiçek yağı %10 KLA'ya göre oldukça yüksek peroksit değeri meydana getirmiştir. Ayrıca yapıdaki KLA miktarının artması peroksit değerinde bir miktar artışa sebep olmuştur. Sonuçlardan da görüldüğü gibi depolama süresince tüm örneklerde yağ asitlerinin oluşumundan dolayı peroksit değerlerinde düzensiz artma ve azalmalar tespit edilirken 120 günlük depolama sonunda oldukça yüksek peroksit değerleri meydana gelmiş olup sadece K 10 (%10 ayçiçek yağı) ve M 1 (%1 KLA) örneklerinde bir miktar azalma tespit edilmiştir.

Bir çalışmada ticari soya yağı ve KLAZSY (KLA içeren yağ) ile kızartılmış patateslerden ekstrakte edilen yağların peroksit değerlerinin yaklaşık aynı değerde olduğu tespit edilmiştir (Jain ve Proctor, 2007). Yettella ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada depolama süresince inceledikleri soya yağında peroksit değerinde büyük bir artma gözlemlerken KLA içeren örneklerin peroksit değerinde önemli bir derecede değişim olmadığını belirlemişlerdir (Yettella vd., 2012). Bu sonucun hidroperoksitlerin KLA'nın oksidasyon ürünü olmadığı raporuyla desteklendiği vurgulanmıştır (Ha vd.,1990). Bu çalışmada ise

Yetella vd. (2012)' nin çalışmasından farklı olarak başlangıçta %10 KLA içeren margarinlerin peroksit değerinin %10 ayçiçek yağı içeren margarinlerin peroksit değerinden düşük bulunmasına rağmen depolama süresinde bu miktar sürekli olarak artmıştır. Araştırmacıların çoğu, KLA'nın LA'den daha hızlı oksitlendiğini öne sürmektedirler (Ha vd., 1990; Zhang ve Chen,

1997). Aynı zamanda Yang ve arkadaşları KLA'nın oksidatif stabilitesinin, çift bağın geometrik pozisyonundan fazla etkilendiğini vurgulamışlardır (Yang vd., 2000). Bu çalışmada kullanılan KLA izomerlerinin literatürdeki çalışmadan farklı olduğunu varsayarsak sonuçlarımız bu bulguları kanıtlar neticededir.

Çizelge 2. İnteresterifikasyon ile üretilen KLA'lı margarinlerde renk değişimi  
Table 2. Color changes in CLA-margarines produced by interesterification

L*	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	90.37 <sup>cd</sup>	72.61 <sup>aA</sup>	73.91 <sup>aA</sup>	73.92 <sup>aA</sup>	83.69 <sup>dC</sup>	82.05 <sup>bb</sup>
K 1	87.20 <sup>cdD</sup>	75.76 <sup>cA</sup>	78.31 <sup>cB</sup>	87.52 <sup>dD</sup>	82.95 <sup>dC</sup>	83.16 <sup>cC</sup>
K 10	86.50 <sup>cd</sup>	78.57 <sup>dA</sup>	79.46 <sup>cA</sup>	84.41 <sup>cC</sup>	81.16 <sup>cB</sup>	84.67 <sup>dC</sup>
M 1	87.02 <sup>cdD</sup>	71.78 <sup>aA</sup>	73.68 <sup>aA</sup>	82.26 <sup>cdB</sup>	83.22 <sup>dB</sup>	85.46 <sup>dC</sup>
M 2.5	87.27 <sup>dD</sup>	74.69 <sup>bcA</sup>	75.01 <sup>abA</sup>	81.01 <sup>cB</sup>	84.02 <sup>dC</sup>	80.91 <sup>abB</sup>
M 5	84.51 <sup>bd</sup>	74.58 <sup>bcA</sup>	78.83 <sup>bcB</sup>	83.32 <sup>deD</sup>	81.31 <sup>cC</sup>	83.30 <sup>cd</sup>
M 7.5	80.81 <sup>ad</sup>	74.34 <sup>bA</sup>	71.90 <sup>cC</sup>	80.73 <sup>cD</sup>	76.29 <sup>bb</sup>	80.10 <sup>aCD</sup>
M 10	81.40 <sup>ad</sup>	77.91 <sup>dB</sup>	74.39 <sup>aA</sup>	76.71 <sup>bb</sup>	74.11 <sup>aA</sup>	79.74 <sup>aC</sup>
a*						
K 0	-3.35 <sup>cB</sup>	-3.13 <sup>cC</sup>	-3.55 <sup>dA</sup>	-3.23 <sup>eBC</sup>	-3.56 <sup>abA</sup>	-3.65 <sup>bA</sup>
K 1	-3.99 <sup>ba</sup>	-3.20 <sup>cD</sup>	-3.87 <sup>bB</sup>	-4.02 <sup>ba</sup>	-3.45 <sup>bC</sup>	-3.87 <sup>aB</sup>
K 10	-4.51 <sup>aA</sup>	-3.39 <sup>bcE</sup>	-4.07 <sup>aC</sup>	-4.28 <sup>ab</sup>	-3.69 <sup>aD</sup>	-4.07 <sup>aC</sup>
M 1	-4.20 <sup>bcA</sup>	-2.79 <sup>dE</sup>	-3.14 <sup>abB</sup>	-3.57 <sup>cC</sup>	-3.00 <sup>cD</sup>	-3.70 <sup>bcC</sup>
M 2.5	-4.30 <sup>ba</sup>	-3.43 <sup>abB</sup>	-3.25 <sup>cB</sup>	-3.30 <sup>dB</sup>	-3.67 <sup>aB</sup>	-3.43 <sup>dB</sup>
M 5	-3.71 <sup>eBC</sup>	-3.50 <sup>abC</sup>	-3.56 <sup>bcBC</sup>	-3.71 <sup>cBC</sup>	-3.72 <sup>aB</sup>	-3.96 <sup>aA</sup>
M 7.5	-4.12 <sup>ca</sup>	-3.71 <sup>abC</sup>	-3.49 <sup>bcC</sup>	-3.65 <sup>cBC</sup>	-3.50 <sup>abC</sup>	-3.83 <sup>abB</sup>
M 10	-4.28 <sup>ca</sup>	-3.65 <sup>aC</sup>	-3.64 <sup>abcC</sup>	-3.68 <sup>cC</sup>	-3.21 <sup>bcD</sup>	-3.96 <sup>aB</sup>
b*						
K 0	21.14 <sup>aA</sup>	26.21 <sup>aD</sup>	26.14 <sup>aD</sup>	24.61 <sup>aC</sup>	24.75 <sup>bB</sup>	24.41 <sup>abD</sup>
K 1	26.56 <sup>bb</sup>	25.44 <sup>aB</sup>	29.08 <sup>cdD</sup>	27.85 <sup>bc</sup>	21.50 <sup>aA</sup>	25.91 <sup>aB</sup>
K 10	26.64 <sup>bc</sup>	24.78 <sup>aB</sup>	29.02 <sup>cdE</sup>	28.24 <sup>bDE</sup>	21.54 <sup>aA</sup>	27.68 <sup>bcD</sup>
M 1	28.28 <sup>cC</sup>	25.21 <sup>aB</sup>	27.32 <sup>abC</sup>	28.13 <sup>bc</sup>	22.17 <sup>aA</sup>	28.16 <sup>cC</sup>
M 2.5	29.05 <sup>dB</sup>	28.85 <sup>bB</sup>	29.34 <sup>cdB</sup>	28.00 <sup>bb</sup>	25.00 <sup>aA</sup>	28.71 <sup>cB</sup>
M 5	26.78 <sup>baB</sup>	29.23 <sup>bd</sup>	28.29 <sup>bcCD</sup>	27.81 <sup>bBC</sup>	25.72 <sup>ca</sup>	32.00 <sup>dE</sup>
M 7.5	31.69 <sup>ec</sup>	31.93 <sup>cC</sup>	30.38 <sup>dB</sup>	31.99 <sup>dC</sup>	25.51 <sup>ca</sup>	34.12 <sup>eD</sup>
M 10	34.51 <sup>dD</sup>	32.96 <sup>cC</sup>	33.45 <sup>cC</sup>	30.85 <sup>cB</sup>	25.40 <sup>ca</sup>	34.82 <sup>eD</sup>

a,b,c,d; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatüsel açıdan farklıdır (P<0.05)

A,B,C,D; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatüsel açıdan farklıdır (P<0.05)

a,b,c,d; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

A,B,C,D; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

### Malonaldehit miktarı değişimi

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0. 15. 30. 60. 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0, K 1 ve K 10) ve %1, 2.5, 5, 7.5, 10 KLA içeren örneklerinin TBA sayıları Çizelge

5'de gösterildiği gibidir. 0. günde %1 ayçiçek yağı ile üretilen margarin örneklerinde bulunan TBA sayısı %1 KLA içeren örneklerle oranla biraz daha yüksek olmasına rağmen KLA/Ayçiçek yağı oranının artması ile KLA içeren margarinlerde

ayçiçek yağına kıyasla daha yüksek TBA sayısı ölçülmüştür. Ayrıca margarinlerde bulunan KLA miktarının artması ile TBA sayısı sürekli olarak artış göstermiştir. Depolama süresince tüm

örneklerde düzensiz artma/azalma meydana gelmiş olup 120 günlük depolamanın sonucunda en yüksek TBA sayısı %10 KLA içeren margarinlerde meydana gelmiştir.

Çizelge 3. İnteresterifikasyon ile üretilen KLA'lı margarinlerdeki serbest yağ asitliği (%)

Table 3. Free fatty acid contents (%) of CLA-margarines produced by interesterification

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	0.51 <sup>Bb</sup>	0.49 <sup>aAB</sup>	0.42 <sup>aAB</sup>	0.46 <sup>cAB</sup>	0.41 <sup>abAB</sup>	0.37 <sup>aA</sup>
K 1	0.49 <sup>Aa</sup>	0.47 <sup>aCD</sup>	0.48 <sup>bD</sup>	0.37 <sup>aB</sup>	0.42 <sup>abBC</sup>	0.35 <sup>aAB</sup>
K 10	0.45 <sup>bDE</sup>	0.47 <sup>aE</sup>	0.40 <sup>aBC</sup>	0.43 <sup>bcCD</sup>	0.39 <sup>abB</sup>	0.35 <sup>aA</sup>
M 1	0.52 <sup>bD</sup>	0.48 <sup>aC</sup>	0.45 <sup>abB</sup>	0.43 <sup>bcB</sup>	0.38 <sup>aA</sup>	0.37 <sup>aA</sup>
M 2.5	0.52 <sup>abA</sup>	0.55 <sup>bcA</sup>	0.45 <sup>abA</sup>	0.40 <sup>abA</sup>	0.40 <sup>abA</sup>	0.57 <sup>bA</sup>
M 5	0.55 <sup>bA</sup>	0.57 <sup>bcA</sup>	0.46 <sup>abA</sup>	0.44 <sup>bcA</sup>	0.44 <sup>bA</sup>	0.44 <sup>abA</sup>
M 7.5	0.54 <sup>bAB</sup>	0.59 <sup>bc</sup>	0.51 <sup>bB</sup>	0.48 <sup>cAB</sup>	0.49 <sup>cB</sup>	0.40 <sup>abA</sup>
M 10	0.56 <sup>bB</sup>	0.54 <sup>bAB</sup>	0.53 <sup>bAB</sup>	0.53 <sup>dAB</sup>	0.54 <sup>cAB</sup>	0.48 <sup>abA</sup>

<sup>A,B,C,D</sup>; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>a,b,c,d</sup>; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>A,B,C,D</sup>; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

<sup>a,b,c,d</sup>; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

Çizelge 4. İnteresterifikasyon ile üretilen KLA'lı margarinlerdeki peroksit değeri (meq O<sub>2</sub>/kg)

Table 4. Peroxide values (meq O<sub>2</sub> / kg) of CLA-margarines produced by interesterification

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	2.16 <sup>aA</sup>	2.51 <sup>aB</sup>	2.72 <sup>aC</sup>	2.86 <sup>aD</sup>	3.51 <sup>aE</sup>	4.03 <sup>bF</sup>
K 1	2.16 <sup>bA</sup>	2.76 <sup>aB</sup>	3.26 <sup>abC</sup>	3.61 <sup>bcdD</sup>	4.76 <sup>bE</sup>	5.54 <sup>cF</sup>
K 10	9.14 <sup>cE</sup>	6.11 <sup>cD</sup>	5.83 <sup>dD</sup>	4.13 <sup>dC</sup>	3.60 <sup>aB</sup>	2.52 <sup>aA</sup>
M 1	3.73 <sup>cbC</sup>	3.67 <sup>cC</sup>	3.74 <sup>bc</sup>	3.30 <sup>abBC</sup>	2.83 <sup>aA</sup>	2.93 <sup>aAB</sup>
M 2.5	3.83 <sup>cbA</sup>	3.61 <sup>cA</sup>	3.24 <sup>abA</sup>	3.55 <sup>bcA</sup>	5.33 <sup>bcB</sup>	5.40 <sup>cB</sup>
M 5	3.50 <sup>cA</sup>	3.59 <sup>cA</sup>	3.49 <sup>ba</sup>	3.91 <sup>cdA</sup>	5.55 <sup>bcB</sup>	5.95 <sup>cdB</sup>
M 7.5	3.15 <sup>bA</sup>	3.17 <sup>bA</sup>	3.28 <sup>abA</sup>	3.89 <sup>cdA</sup>	5.46 <sup>bcB</sup>	6.54 <sup>dB</sup>
M 10	4.00 <sup>dA</sup>	4.02 <sup>dA</sup>	4.43 <sup>eA</sup>	4.87 <sup>eA</sup>	5.87 <sup>cB</sup>	7.99 <sup>Ec</sup>

<sup>a,b,c,d</sup>; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>A,B,C,D</sup>; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>a,b,c,d</sup>; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

<sup>A,B,C,D</sup>; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

Çizelge 5. İnteresterifikasyon ile üretilen KLA'lı margarinlerdeki tiyobarbütirik asit (mg/mL) sayısı

Table 5. Thiobarbutyric acid (mg / mL) values of CLA-margarines produced by interesterification

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	0.09	0.06	0.06	0.10	0.13	0.06
K 1	0.09	0.07	0.05	0.08	0.10	0.05
K 10	0.12	0.10	0.07	0.13	0.11	0.06
M 1	0.06	0.06	0.06	0.12	0.10	0.09
M 2.5	0.08	0.07	0.06	0.10	0.12	0.09
M 5	0.12	0.09	0.07	0.18	0.12	0.11
M 7.5	0.11	0.10	0.09	0.12	0.13	0.10
M 10	0.17	0.13	0.10	0.17	0.15	0.14

Van den Berg vd. (1995) KLA ve linoleik asit karışımının oksijene maruz kalması sonucunda prooksidan etki gösterdiğini aynı zamanda KLA'nın anti-prooksidan etkisinin izomer çeşitleri ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Literatürdeki çalışmalar sonucunda araştırmacıların çoğu, KLA'nın linoleik asitten daha hızlı oksitlendiğini rapor etmişlerdir (Ha vd., 1990; Zhang ve Chen, 1997). Bunun aksine KLA'nın linolenik ve araşidonik asitlerden daha yüksek bir oksidasyon oranına sahip olduğuna dair kanıtlarda bulunmaktadır (Zhang ve Chen, 1997). Bu yüzden KLA'nın oksidatif stabilitesi üzerine kesin bir sonuç henüz belirlenememiş ve konu çözüme ulaşamamıştır. Sunmuş olduğumuz bu çalışmada KLA miktarının artması ile oksidasyonun bir miktar arttığı aynı zamanda depolama süresince başlangıca kıyasla TBA sayısında bir miktar azalma belirlenmiştir. Bu sonuç depolama boyunca KLA'nın margarinlerde antioksidan olarak görev yapmış olduğunu göstermektedir. TBA sayısında oluşan dalgalanmalar depolama koşullarından, oksidasyon analiz yöntemlerinden kaynaklanabileceği gibi KLA izomerlerinden de etkilenmektedir.

### **Mikroenkapsüle KLA ile üretilen margarinler örneklerine ait sonuçlar**

#### **Renk analizi**

Üretilen margarinlerde yapılan renk analizi sonucunda L\* (parlaklık/matlık) değeri, a\* ve b\* değerleri Çizelge 6'da gösterildiği gibidir. L\* değeri 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki aydınlık derecesini ölçmektedir. 0. günde aynı oranlarda ayçiçeği/mikroenkapsüle KLA ile üretilen margarinler karşılaştırıldığında ayçiçeği yağı margarinlere bir miktar fazla parlaklık vermiştir.

Diğer taraftan yapıdaki mikroenkapsüle KLA miktarının artması L\* değerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Depolama süresince tüm örneklerde L\* değerinde düzensiz artma ve azalma meydana gelmiş ve 120. günün sonunda tüm örneklerde parlaklığın başlangıca göre azalmış olduğu tespit edilmiştir. Analiz sonucunda a değeri “-” (yeşil) çıkmış en yüksek yeşillığe sahip örneklerin mikroenkapsüle KLA içeren örnekler olduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca %1 ayçiçeği yağı içeren margarinlerin yeşillik değeri %1 mikroenkapsüle KLA içeren margarinlere göre bir miktar düşük çıkmıştır. Depolama boyunca a\* değerinde düzensiz artma ve azalmalar meydana gelmiş ve bunun sebebinin ölçüm hatasından kaynaklanabileceği öngörülmektedir. 120. günün sonunda örneklerin yeşillik değerinin başlangıca göre bir miktar azaldığı raporlara kaydedilmiştir. b\* değeri “+” (sarı) olarak okunmuştur. 0. günde aynı oranlarda ayçiçeği yağı / mikroenkapsüle KLA içeren önemli bir fark tespit edilmemiş ancak margarinlerde KLA'nın artması ile b değerinde bir miktar artış meydana gelmiştir. Depolama süresince b değerinde düzensiz artma ve azalmalar belirlenmiştir.

#### **Serbest yağ asitliği**

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0., 15., 30., 60., 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0, K 1 ve K 10) ve %0.1, 0.2, 0.4, 0.5 ve 1.0 oranlarında mikroenkapsüle edilmiş KLA ile üretilen margarin örneklerine SYA analizi yapılmıştır (Çizelge 7). Analiz sonucunda 0. günde oluşturulan kontrol örneklerinde büyük bir fark gözlemlenememiş ancak örneklerdeki KLA miktarının artması ile SYA değerinde bir artış söz konusu olmuştur. %1 mikroenkapsüle KLA içeren margarin örnekleri %1 ayçiçeği yağı içeren örneklere kıyasla oldukça yüksek SYA değeri göstermiştir. Depolama süresince SYA değerleri başlangıç değerlere göre önemli derecede değişime uğramamıştır.

#### **Peroksit sayısı**

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0., 15., 30., 60., 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0, K 1 ve K 10) ve %0.1, 0.2, 0.4, 0.5 ve 1.0 oranlarında mikroenkapsüle edilmiş KLA ile üretilen margarin örneklerine peroksit analizi yapılmıştır (Çizelge 8). 0. günde tüm örneklerde peroksit değerinde önemli derecede bir fark gözlemlenememiş ancak %1 mikroenkapsüle KLA içeren margarinlerde peroksit değeri %1 ayçiçeği yağı içeren margarinlere kıyasla bir miktar fazla çıkmıştır. Sonuçlar depolama süresinde peroksit değerlerinin yağ asidi oluşumundan dolayı sürekli olarak arttığı tespit edilmiş olup 120 günlük

depolama süresi sonunda en yüksek değerin %1 ayçiçeği yağı içeren margarinlerde olduğu ayrıca en yüksek mikroenkapsüle KLA içeren (MK 1) diğer

KLA örneklerine göre daha yüksek peroksit değeri gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 6. Mikroenkapsüle KLA ile üretilen margarinlerdeki renk değişimi  
Table 6. Color changes in margarines containing microencapsulated-CLA

L	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	90.37 <sup>dD</sup>	72.61 <sup>aA</sup>	73.91 <sup>aA</sup>	73.92 <sup>aA</sup>	83.69 <sup>dC</sup>	82.05 <sup>bB</sup>
K 1	87.20 <sup>cD</sup>	75.76 <sup>bA</sup>	78.31 <sup>bB</sup>	87.52 <sup>cD</sup>	82.95 <sup>cdC</sup>	83.16 <sup>cC</sup>
MK 0.1	85.17 <sup>aCD</sup>	85.96 <sup>dD</sup>	80.85 <sup>cA</sup>	82.30 <sup>bB</sup>	84.11 <sup>dC</sup>	82.03 <sup>bB</sup>
MK 0.2	85.89 <sup>bD</sup>	84.43 <sup>dC</sup>	81.09 <sup>dB</sup>	83.89 <sup>bBC</sup>	80.54 <sup>aA</sup>	83.24 <sup>cBC</sup>
MK 0.4	85.91 <sup>bD</sup>	77.96 <sup>eA</sup>	78.54 <sup>eC</sup>	84.56 <sup>eE</sup>	81.41 <sup>abB</sup>	81.43 <sup>abB</sup>
MK 0.5	85.29 <sup>cC</sup>	77.81 <sup>eA</sup>	79.82 <sup>bA</sup>	82.29 <sup>bB</sup>	82.14 <sup>bcB</sup>	80.66 <sup>aB</sup>
MK 1	85.31 <sup>aC</sup>	78.38 <sup>eA</sup>	78.35 <sup>cB</sup>	83.45 <sup>cC</sup>	81.14 <sup>abB</sup>	82.64 <sup>abB</sup>
a*						
K 0	-3.35 <sup>cB</sup>	-3.13 <sup>cC</sup>	-3.55 <sup>dA</sup>	-3.23 <sup>eBC</sup>	-3.56 <sup>abA</sup>	-3.65 <sup>baA</sup>
K 1	-3.99 <sup>bA</sup>	-3.20 <sup>cD</sup>	-3.87 <sup>bB</sup>	-4.02 <sup>baA</sup>	-3.45 <sup>bC</sup>	-3.87 <sup>aB</sup>
MK 0.1	-4.22 <sup>aA</sup>	-3.43 <sup>bC</sup>	-3.82 <sup>bcB</sup>	-3.47 <sup>dC</sup>	-3.55 <sup>abC</sup>	-3.91 <sup>aA</sup>
MK 0.2	-4.01 <sup>baA</sup>	-3.59 <sup>aB</sup>	-4.06 <sup>aA</sup>	-3.71 <sup>cB</sup>	-3.83 <sup>cC</sup>	-4.09 <sup>aA</sup>
MK 0.4	-4.21 <sup>aA</sup>	-3.76 <sup>aC</sup>	-4.05 <sup>aB</sup>	-4.03 <sup>aA</sup>	-3.96 <sup>aD</sup>	-3.97 <sup>aB</sup>
MK 0.5	-3.97 <sup>baA</sup>	-3.85 <sup>dE</sup>	-3.72 <sup>cB</sup>	-3.36 <sup>deC</sup>	-3.14 <sup>cD</sup>	-3.32 <sup>cC</sup>
MK 1	-4.17 <sup>aA</sup>	-3.53 <sup>bD</sup>	-3.88 <sup>bB</sup>	-3.69 <sup>cC</sup>	-3.52 <sup>abD</sup>	-3.60 <sup>bD</sup>
b*						
K 0	21.14 <sup>aA</sup>	26.21 <sup>bD</sup>	26.14 <sup>aD</sup>	24.61 <sup>bC</sup>	24.75 <sup>eB</sup>	24.41 <sup>aD</sup>
K 1	26.56 <sup>bB</sup>	25.44 <sup>bB</sup>	29.08 <sup>cD</sup>	27.85 <sup>eC</sup>	21.50 <sup>eA</sup>	25.91 <sup>aB</sup>
MK 0.1	29.44 <sup>eD</sup>	25.73 <sup>bC</sup>	26.10 <sup>aC</sup>	23.12 <sup>aB</sup>	21.50 <sup>eA</sup>	26.48 <sup>aC</sup>
MK 0.2	26.14 <sup>bB</sup>	26.50 <sup>bB</sup>	29.05 <sup>cC</sup>	26.26 <sup>cdB</sup>	20.47 <sup>aA</sup>	28.03 <sup>bC</sup>
MK 0.4	28.46 <sup>dE</sup>	26.40 <sup>bB</sup>	27.43 <sup>bCD</sup>	26.96 <sup>deC</sup>	23.05 <sup>dA</sup>	27.73 <sup>bD</sup>
MK 0.5	26.35 <sup>bC</sup>	23.32 <sup>aB</sup>	29.26 <sup>cD</sup>	25.35 <sup>bcC</sup>	20.99 <sup>baA</sup>	25.71 <sup>aC</sup>
MK 1	27.37 <sup>cC</sup>	26.50 <sup>bcB</sup>	25.88 <sup>aB</sup>	26.85 <sup>deCB</sup>	23.05 <sup>dA</sup>	26.33 <sup>abB</sup>

A,B,C,D; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

a,b,c,d; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

A,B,C,D; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

a,b,c,d; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

Çizelge 7. Mikroenkapsüle KLA içeren margarinlerdeki serbest yağ asitliği  
Table 7. Free fatty acid contents of margarines containing microencapsulated-CLA

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	0.51 <sup>abB</sup>	0.49 <sup>aAB</sup>	0.42 <sup>aAB</sup>	0.46 <sup>aAB</sup>	0.41 <sup>aAB</sup>	0.37 <sup>aA</sup>
K 1	0.49 <sup>aA</sup>	0.47 <sup>aCD</sup>	0.48 <sup>aD</sup>	0.37 <sup>aB</sup>	0.42 <sup>aBC</sup>	0.35 <sup>aAB</sup>
MK 0.1	0.61 <sup>baA</sup>	0.66 <sup>bC</sup>	0.61 <sup>aAB</sup>	0.65 <sup>bBC</sup>	0.64 <sup>baB</sup>	0.63 <sup>baB</sup>
MK 0.2	0.98 <sup>cC</sup>	0.91 <sup>cBC</sup>	0.89 <sup>bBC</sup>	0.83 <sup>cB</sup>	0.89 <sup>cBC</sup>	0.69 <sup>baA</sup>
MK 0.4	1.33 <sup>dA</sup>	1.43 <sup>dA</sup>	1.41 <sup>cA</sup>	1.33 <sup>dA</sup>	1.33 <sup>dA</sup>	1.29 <sup>cA</sup>
MK 0.5	1.63 <sup>dA</sup>	1.74 <sup>eC</sup>	1.53 <sup>cB</sup>	1.63 <sup>eBC</sup>	1.76 <sup>eC</sup>	1.69 <sup>dBC</sup>
MK 1	2.44 <sup>eA</sup>	2.86 <sup>fB</sup>	2.80 <sup>dAB</sup>	2.74 <sup>fAB</sup>	2.87 <sup>fB</sup>	2.77 <sup>eAB</sup>

A,B,C,D; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

a,b,c,d; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

A,B,C,D; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

a,b,c,d; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

Çizelge 8. Mikroenkapsüle KLA içeren margarinlerdeki peroksit değeri (meq O<sub>2</sub>/kg)  
 Table 8. Peroxide values (meq O<sub>2</sub> / kg) of margarines containing microencapsulated-CLA

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K 0	2.16 <sup>aA</sup>	2.51 <sup>aB</sup>	2.72 <sup>aC</sup>	2.86 <sup>aD</sup>	3.51 <sup>aE</sup>	4.03 <sup>aF</sup>
K 1	2.16 <sup>aA</sup>	2.76 <sup>aB</sup>	3.26 <sup>aC</sup>	3.61 <sup>aD</sup>	4.76 <sup>aE</sup>	5.54 <sup>aF</sup>
MK 0.1	2.32 <sup>aA</sup>	2.71 <sup>aB</sup>	2.76 <sup>aB</sup>	2.85 <sup>aB</sup>	3.96 <sup>aC</sup>	4.11 <sup>aC</sup>
MK 0.2	2.38 <sup>aA</sup>	2.48 <sup>aA</sup>	2.91 <sup>aB</sup>	3.34 <sup>aC</sup>	4.15 <sup>aD</sup>	4.42 <sup>bD</sup>
MK 0.4	2.21 <sup>aA</sup>	2.47 <sup>aA</sup>	2.83 <sup>aB</sup>	3.40 <sup>aC</sup>	4.32 <sup>aD</sup>	4.87 <sup>cE</sup>
MK 0.5	2.23 <sup>aA</sup>	2.69 <sup>aB</sup>	2.74 <sup>aB</sup>	3.70 <sup>aC</sup>	4.18 <sup>aD</sup>	4.95 <sup>cdE</sup>
MK 1	2.32 <sup>aA</sup>	2.63 <sup>aB</sup>	2.71 <sup>aB</sup>	3.68 <sup>aC</sup>	4.21 <sup>aD</sup>	5.06 <sup>dE</sup>

<sup>a,b,c,d</sup>; Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>A,B,C,D</sup>; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan farklıdır (P<0.05)

<sup>a,b,c,d</sup>; The averages shown with different letters in the same column are statistically different (P<0.05)

<sup>A,B,C,D</sup>; The averages shown with different letters on the same row are statistically different (P<0.05)

### Malonaldehit analizi

Üretilen margarin örneklerinde depolama süresi boyunca (0. 15. 30. 60. 90. ve 120. gün), kontrol örneklerinde (K 0 ve K 1) ve %0.1, 0.2, 0.4, 0.5 ve 1 mikroenkapsüle KLA içeren örneklerinin TBA sayıları Çizelge 9'da gösterildiği gibidir. 0.günde %1 ayçiçeği yağı içeren margarin örneklerinde oluşan TBA %1 mikroenkapsüle KLA kullanımıyla elde edilen margarin örneklerine

kıyasla bir miktar düşük bulunmuştur. Aynı zamanda margarin örneklerinde artan mikroenkapsüle KLA miktarı ile TBA doğru orantı göstermiştir. Depolama süresince incelenen TBA sayısında düzensiz artma/azalmalar gözlemlenmiştir. 120 günün sonunda en yüksek TBA sayısına sahip örneğin %1 mikroenkapsüle KLA içeren örnekte olduğu raporlara kaydedilmiştir.

Çizelge 9. Mikroenkapsüle KLA içeren margarinlerde tiyobarbütirik asit (mg/mL) sayısı  
 Table 9. Thiobarbutyric acid (mg / mL) values of margarines containing microencapsulated-CLA

Örnekler Samples	0.gün 0.day	15.gün 15.day	30.gün 30.day	60.gün 60.day	90.gün 90.day	120.gün 120.day
K0	0.09	0.06	0.04	0.10	0.13	0.06
K1	0.09	0.07	0.05	0.08	0.10	0.05
MK0.1	0.05	0.05	0.05	0.08	0.11	0.09
MK0.2	0.08	0.07	0.06	0.09	0.13	0.10
MK0.4	0.08	0.07	0.06	0.13	0.11	0.10
MK0.5	0.14	0.10	0.06	0.09	0.09	0.10
MK1	0.12	0.09	0.06	0.12	0.09	0.14

### SONUÇ

Renk analizinde depolama süresinde KLA ve mikro-enkapsüle KLA miktarının artması ile parlaklık ve yeşillik değerlerinde bir miktar azalma gözlemlenmesine rağmen, sarılık değeri bir miktar artmıştır. Depolama süresince yapılan SYA'nde KLA miktarının artması ve depolama süresinin uzaması koşullarında SYA'nde bir azalma meydana gelmiştir. Peroksit sayısı analizinde ise

depolama süresince KLA miktarının artması ile bir miktar artma gözlemlenmiştir. Bir diğer oksidasyon analizi olan malonaldehit analizinde ise KLA kullanımı ile çok az bir miktarda artan TBA sayısı depolama süresince önemli bir değişime uğramamıştır.

Sonuç olarak depolama süresince yapılan analizler sonucunda KLA içeriği zengin ürünün depolama



koşullarına uygunluk göstermesi, oksidasyon analizlerinde margarinlerde olumlu etkiler yapması ve karakterizasyon analizlerinde tespit edilen olumlu özellikler sonucunda margarin üretiminde KLA kullanılmasının son ürüne pozitif etkileri tespit edilmiştir. Hem son ürünlerdeki olumlu etkileri hem de sağlık üzerindeki bilinen katkılarından dolayı KLA'nın gıdalar üzerinde kullanımı araştırılması gereken bir konudur.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### YAZAR KATKILARI

HE, araştırmanın planlanması, yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. AG ve HA analizlerin takibi, değerlendirilmesi ve yazımını sağlamıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

### TEŞEKKÜR

Bu çalışma Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen GTB 2018/05-BAGEP nolu "Mikrodalga Işınm ve Ultrases Dalgaları ile Konjüge Linoleik Asit Üretiminin Optimizasyonu ve Margarin Formülasyonunda Kullanımı" başlıklı proje kapsamında üretilmiştir.

### KAYNAKLAR

Akalın, A. S., Tokuşoğlu, Ö., Gönc, S., Aycan, Ş. (2003). Occurrence of Conjugated Linoleic Acid in Probiotic Yoghurts Fortificated Fructooligosaccharide (FOS), 2003 IFT Annual Meeting+Food Expo, McCormick Place, South Chicago, IL, USA, July 12-16.

Alaşalvar, H., Erinç, H., Salur, F., & Özbey, A. (2019). Production of Conjugated Linoleic Acid by Microwave-Assisted and Ultrasound-Assisted Alkali Isomerization: Effects of Microwave Power and Ultrasound Amplitude. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(7): 839-846.

AOCS, (1998). Official Methods and Recommended Practices, AOCS, 5th ed., The Society, Champaign, IL, ABD.

Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A., Griinari, J. M. (2000). Biosynthesis of conjugated

linoleic acid in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77(1): 1-15.

Blankson, H., Stakkestad, J. A., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., Gudmundsen, O. (2000). Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *The Journal of Nutrition*, 130(12): 2943-2948.

Chamruspollert, M. ve Sell, J. L. (1999). Transfer of dietary conjugated linoleic acid to egg yolks of chickens. *Poultry Science*, 78(8): 1138-1150.

Cherian, G., Goeger, M. P., Ahn, D. U. (2002). Dietary conjugated linoleic acid with fish oil alters yolk n-3 and trans fatty acid content and volatile compounds in raw, cooked, and irradiated eggs. *Poultry science*, 81(10): 1571-1577.

Christie, W. W. (1989). The analysis of fatty acids, In: Gas Chromatography and Lipids A Practical Guide, *The American Oil Chemists Society*, Scotland.

Cook, M. E. ve Pariza, M. (1998). The Role of Conjugated Linoleic Acid (CLA) In Health. *International Dairy Journal*, 8:459-462.

Çelik, S. ve Demirel, M. (2004). İnsan ve Hayvan Sağlığı Bakımından Omega Yağ Asitleri ve Konjüge Linoleik Asitin Önemi. *Y. Y. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1:25-35.

Ercoşkun, H., Uğuz, Ş., Kıralan, M. (2005). Konjüge Linoleik Asit. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 19:42-45.

Ha, Y. L., Grimm, N. K., Pariza, M. W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8(12):1881-1887.

Ha, Y. L., Storkson, J., Pariza, M. W. (1990). Inhibition of benzo (a) pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Research*, 50(4):1097-1101.

Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, W.M. (1998). Newly recognised anticarcinogenesis fatty acids: identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.*, 37:75-81.

Hah, K. H., Yang, H. S., Hur, S. J., Moon, S. S., Ha, Y. L., Park, G. B., Joo, S.T. (2006). Effect of substituted conjugated linoleic acid for fat on meat qualities, lipid oxidation and residual nitrite

- content in emulsion-type sausage. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(5):744-750.
- Ip C, Scimeca J., A. (1995). Opposing effects of *cis-9*, *trans-11* and *trans-10*, *cis-12* conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Nutr. Cancer*, 24:241-247.
- Ip, C., Chin, S. F., Scimeca, J. A., Pariza, M. W. (1991). Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, 51(22):6118-6124.
- Jain, V. P., ve Proctor, A. (2007). Production of conjugated linoleic acid-rich potato chips. *Journal of Food Science*, 72(1):75-78.
- Keim, N. L. (2003). Conjugated Linoleic Acid and Body Composition, in *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research* (Ed. Sebedio, J. L., Christie, W. W. and Adlof, R.), *AOCS Press, Amerika*, 316-322.
- Kim, Y. J. ve Liu, R. H. (1999). Selective increase in conjugated linoleic acid in milk fat by crystallization. *Journal of Food Science*, 64(5):792-795.
- Kung, F. C. ve Yang, M. C. (2006) Effect of Conjugated Linoleic Acid Immobilization on the Hemocompatibility of Cellulose Acetate Membrane. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 47(1):36-42.
- Lavillonniere, F., Martin, J. C., Bougnoux, P., Sebedio, J. L. (1998). Analysis of Conjugated Linoleic Acid Isomer and Content in French Cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 75(3):343-352.
- Lee, K. N., Kritchevsky, D., Pariza, M. W. (1994). Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108(1):19-25.
- Marangoni, F., Poli, A. (2010). Phytosterols and cardiovascular health. *Pharmacological Research*, 61:193-199.
- Nair, S. S. D., Leitch, J. W., Falconder, J., Garg, M. L. (1997). Prevention of cardiac arrhythmia by dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and their mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 127:383-393.
- Pariza, M. W., Hargraves, W. A. (1985). A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz [a] anthracene. *Carcinogenesis*, 6(4):591-593.
- Rainer, L., Heiss, C. J. (2004). Conjugated Linoleic Acid: Health Implications And Effects On Body Composition. *Journal of The American Dietetic Association*, 104(6):963-968.
- Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Yurawecz, M. P., Roach, J. A., Adlof, R. O., Morehouse, K. M., Fritsche, J., Eulitz, K. D. (1999). Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography. *Lipids*, 34(4):407-413.
- Sopelana, P., Arizabaleta, I., Ibargoitia, M. L., Guillén, M. D. (2013). Characterisation of the lipidic components of margarines by 1 H Nuclear Magnetic Resonance. *Food chemistry*, 141(4):3357-3364.
- Şahin, N., Özçelik, B., Karaali, A. (2003). Peynir Ürünlerinde Konjuge Linoleik Asit Miktarı ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu*, İzmir, 22-23 Mayıs 2003, 29-34.
- van den Berg, J.J.M., Cook, N., Tribble, D. (1995). Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids*, 30: 599-605.
- Watkins, B.A., ve Li, Y. (2002). Conjugated Linoleic Acid: Nutrition And Biology, in *Food Lipids Chemistry, Nutrition And Biotechnology*, 637-661, Eds. Akoh, C. C. and Min, D. B. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Yang, L., Leung, L.K, Huang, Y., Chen, Z. (2000). Oxidative stability of conjugated linoleic acid isomers. *J. Agric. Food Chem.*, 48:3072-3076.
- Yettella, R. R., Castrodale, C., & Proctor, A. (2012). Oxidative stability of conjugated linoleic acid rich soy oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 89(4):685-693.
- Zeitoun, M.A.M., Neff, W.E., List, G.R., Mounts, T.L. (1993). Physical Properties of Interesterified Fat Blends, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70:467-471.
- Zhang, A, ve Chen, Z. (1997). Oxidative stability of conjugated linoleic acids relative to other polyunsaturated fatty acids, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74:1611-1613.

## SAĞLIĞIN GELİŞTİRİLMESİ VE SÜRDÜRÜLEBİLİR BESLENME İÇİN ALTERNATİF BİR KAYNAK: YENİLEBİLİR BÖCEKLER

**Mücahit Muslu\***

İstanbul Arel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 03.05.2020; Kabul / Accepted: 17.09.2020; Online baskı / Published online: 30.09.2020

Muslu, M. (2020). Sağlıkın geliştirilmesi ve sürdürülebilir beslenme için alternatif bir kaynak: yenilebilir böcekler. *GIDA* (2020) 45(5) 1009-1018 doi: 10.15237/gida.GD20071

*Muslu, M. (2020). An alternative source for improvement of health and sustainable nutrition: edible insects. GIDA (2020) 45(5) 1009-1018 doi: 10.15237/gida.GD20071*

### ÖZ

Dünya genelinde nüfusun artması beslenme sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Yaklaşık olarak her 9 kişiden 1'i açlık çekmektedir. Yenilebilir böcekler yüksek biyokütle ve çeşitliliğe sahiptir. Yüksek kalitede protein, doymamış yağlar, vitaminler, mineraller ve biyoaktif maddeler açısından zengindir. Yetiştirilmeleri için diğer hayvansal kaynaklara göre daha az yem, su ve alan gerekmektedir. İnsan ve hayvanların oluşturduğu biyolojik atıklar da böcek yetiştirmek için kullanılabilir. Böceklerden elde edilen biyoaktif maddeler sağlık geliştirilmesi ve hastalıkların önlenmesinde kullanılabilir. Bu nedenle birçok firma tarafından böcek ürünleri üretilmekte ve 55 milyon dolarlık bir pazar bulunmaktadır. Yenilebilir böcekler faydaları yanında mikrobiyolojik, parazitolojik ve alerjik riskler de taşımaktadır. Bu nedenle üretimleri sırasında belli kurallara dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu standartların belirlenmesi için bilimsel çalışmaların artırılması, mevzuatların geliştirilmesi ve uluslararası politikaların oluşturulması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Sürdürülebilir beslenme, yenilebilir böcekler, böcek ürünleri

## AN ALTERNATIVE SOURCE FOR IMPROVEMENT OF HEALTH AND SUSTAINABLE NUTRITION: EDIBLE INSECTS

### ABSTRACT

The increase in the population throughout the world brings along nutritional problems. Approximately 1 in 9 people are starving. Edible insects have high biomass and variety. It is rich in high quality protein, unsaturated fats, vitamins, minerals and bioactive substances. Less feed, water and area is required for their cultivation compared to other animal sources. Biological waste generated by humans and animals can also be used to grow insects. Bioactive substances obtained from insects can be used in health promotion and disease prevention. For this reason, insect products are produced by many companies and there is a 55 million dollar market. Edible insects carry microbiological, parasitological and allergic risks in addition to their benefits. Therefore, certain rules must be observed during their production. Scientific studies should be increased, legislation should be developed and international policies should be established to determine these standards.

**Keywords:** Sustainable nutrition, edible insects, insect products

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: dytmuslu@gmail.com,

☎: (+90) 850 850 27 35

☎: (+90) 212 860 04 81

Mücahit Muslu; ORCID no: 0000-0002-8761-5061

## GİRİŞ

Uluslararası kuruluşlar tarafından yayınlanan Gıda Güvenliği ve Beslenme Durumu raporuna göre küresel açlık son 10 yıl içinde artış göstermiş ve 2017'de her 9 kişiden birinin (821 milyon) açlık çektiği belirtilmiştir. Dünya nüfusunun 2050 yılında 9 milyar bulacağı tahmin edilmektedir. Gün geçtikçe nüfusun artması, ilerleyen dönemlerde bu krizin daha da derinleşeceğini göstermektedir (Van Huis vd., 2013; FAO vd., 2018). Günümüzde üretilen besin miktarı artacak insan nüfusunu beslemek için yeterli olmadığından üretim potansiyelinin artması gerekmektedir. Bu ihtiyacın karşılanması için de yeni arazilerin besin üretimi için kullanılması gerekecektir. Aynı zamanda artan nüfus için yerleşim yeri ihtiyacı arazilerin kullanımı açısından rekabet doğuracaktır. Tarım ve yerleşim yerleri artarken aynı zamanda CO<sub>2</sub> üretimi artacak ve çevresel sorunlar ortaya çıkacaktır (Raiten vd., 2020). Tüm bu sorunlar karşısında alternatif bir besin kaynağı olarak yenilebilir böcekler; besin ve yem üretimi, ticareti ve kullanımı aynı zamanda besin kalitesi, güvenliği ve çevre etkileri gibi birçok yönden değerlendirilmektedir (Van Huis, 2020).

Böcekler hayvanlar aleminde büyük bir çeşitlilik göstererek toplam hayvan biyokütlesinin %95'ini oluşturmaktadır (De Castro vd., 2018). Yaşamın farklı evrelerinde yumurta, larva, pupa veya yetişkin böcek olarak tarih boyunca insanlar tarafından tüketilmiştir (Kouřimská ve Adámková, 2016; FAO, 2020). Entomofaji terimi (Yunanca kelime *ἔντομον* *éntomon*, “böcek” ve *phav* *phagein*, “yemek”) böceklerin besin olarak kullanılmasını ifade etmektedir (Evans vd., 2015). Günümüzde Afrika, Asya ve Latin Amerika başta olmak üzere yaklaşık 2 milyar insan toplamda 1900'den fazla böcek türünü tüketmektedir. Küresel olarak en sık tüketilen türler; tırtıllar, arılar, eşek arısı ve karıncalardır. Onları çekirge, cırcır böceği, ağustos böceği, yaprak böceği, termi, yusuçuk, sinek ve diğer türler takip etmektedir (FAO, 2020). Özellikle ekonomik yönden gelişmemiş ülkelerde böcekler beslenme sorunlarını gidermede önemli etkinliğe sahip olup toplumun beslenmesinde geniş yer tutmaktadır (Cox vd., 2020). Besin olarak en sık tüketilen

böcek türleri; *Coleoptera* (% 31), *Lepidoptera* (% 18), *Hymenoptera* (% 14), *Orthoptera* (% 13) ve *Hemiptera* (% 10)'dır (Sun-Waterhouse vd., 2016; FAO, 2020). Birçok toplumun tüketmesi aynı zamanda artan ihtiyaçlar göz önüne alındığında yenilebilir böcekler gelecek için açlığın önlenmesinde alternatif besin kaynakları arasında gösterilmektedir (FAO, 2020). Böceklerin besinsel olarak kullanılmasının yanında patojen veya toksik etken riskleri de bulunmaktadır. Bu nedenle Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) böcekleri insan ve hayvan tüketimi için besin olarak değerlendirip böceklerin yetiştirilmesi, işlenmesi ve pazarlanması konusunda belirli standartlar geliştirmiştir (FDA, 2016). Yenilebilir böceklerin 2017 yılında pazar tüketim büyüklüğü 55 milyon doların üzerindedir. Yenilebilir böcek endüstrisi 2024 yılına kadar %43.5'in üzerinde büyüme amaçlamaktadır (Koko ve Mariod, 2020).

Yenilebilir böcekler genel olarak orman habitatında yetişmektedir. Günümüzde yenilebilir böceklerle ilginin artmasıyla birlikte yenilebilir böcek endüstrisi gelişmiş ve teknolojik donanımına sahip böcek çiftlikleri kurulmuştur. Bu çiftliklerde böcek üretiminin yanında bilimsel araştırmalar yapılmaktadır (Wade ve Hoelle, 2020). Üretilen böceklerin avantajları olmasına rağmen insanların tüketimi konusunda sorunlar bulunmaktadır. Böceklerin canlı protein kaynakları olarak tercih edilmemesi en büyük problemdir (Mlcek vd., 2014). Genel olarak, böcek temelli gıdalara yönelik tutumlar sosyokültürel veya psikolojik nedenlerle ilişkilidir (Poma vd, 2017). Bunun yanında bazı besin etiketleme çalışmaları ve kullanım şekilleri ile tüketim kabulünün artabileceği belirtilmiştir (Wendt ve Czaczkes, 2020). Örneğin böcek etinin hamburger olarak tüketimi tüketim kabulünü ve algısını değiştirebilmektedir (Poortvliet vd., 2019). Önemli sorunlardan diğeri ise yeni besin alternatifini üretme ve pazarlama aşamasında standartların belirlenmemesi, araştırmaların yetersiz olması ve buna bağlı olarak mevzuat ve tüzüklerin oluşturulmamasıdır. Bu alanda geliştirilecek uluslararası standartlara, etkin ortaklara, etkili iletişime, tanıtıma ve politikalara ihtiyaç duyulmaktadır (Stull ve Patz, 2020).

## BESİNSEL OLARAK BÖCEK ÜRETİMİNİN FAYDALARI

Böcek üretiminin faydalarının başında hayvanın yem kütlesini vücut kütlesine dönüştürmedeki etkinliğinin bir ölçüsü olan 'yem verimliliği' gelmektedir. Örneğin ev cırcır böceği (*A. domestica*) yem dönüşümünün tavuklardan iki kat, domuzlardan 4 kat ve sığırlardan 12 kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Görüldüğü gibi böcek eti verimliliği diğer hayvanlara göre oldukça yüksektir (Van Huis vd., 2013). Aynı zamanda böcekler hayvan ve insan atıkları gibi organik atıkların değerlendirilmesinde de kullanılabilir. Bu durum böceklerin beslenmesini sağlarken atıkların dönüştürülmesi ve çevrenin temizlenmesini de sağlamaktadır (Barbi vd., 2020).

Sürdürülebilirlik açısından değerlendirildiğinde böcekler, kanatlılar veya çiftlik hayvanlarına göre daha az amonyak ve sera gazı üretmektedir. Aynı zamanda böcek eti üretimi için daha az su gerekmektedir (Van Huis, 2017). Hayvanların çoğalması ve et üretimi için gerekli olan arazi bakımında böcekler diğer hayvanlara göre avantaj sağlamaktadır. Daha dar alanlarda daha yüksek verimde ürün alınabilmektedir (Mulia, 2019). Daha az atık oluşturması, kaynakları daha idareli kullanması ve ormansızlaşmayı önlemesi nedeniyle böcek üretimi sürdürülebilir beslenme ve çevre sağlığı açısından büyük avantaj sağlamaktadır (Poma vd., 2017).

## BÖCEKLERİN BESİNSEL İÇERİK VE ÖZELLİKLERİ

Böceklerin besinsel değerleri diğer hayvan türleri kadar detaylı çalışılmasa da farklı çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Bu değerler böceklerin türü, yetiştiği yer, mevsimsel süreç, büyüklükleri, larva veya yetişkin oluşları gibi birçok faktöre göre değişmektedir. Bununla birlikte makro ve mikro besin öğeleri açısından oldukça çeşitlilik göstererek zengin bir besinsel kaynak oluşturmaktadır (Finke ve Oonincx, 2014; Nowak vd., 2015; FAO/INFOODS, 2017). Yapılan bir çalışmada cırcır böceği, palmye biti larvaları ve yemek kurdunun besin değeri skoru incelenmiş, sığır eti ve tavuk etine göre besinsel açıdan yetersizliği bulunmamış ve insan sağlığı için uygun olduğu belirtilmiştir. Çoğu yenilebilir böceğin, insan beslenmesinde yeterli enerji ve protein alımının yanı sıra aminoasit gereksinimlerini karşılayabileceği belirtilmiştir (Payne vd., 2016). Bitki proteinleri ve et proteinleri ile karşılaştırıldığında böcek proteinleri besin değeri, toplam protein seviyesi ve esansiyel aminoasit profili (%50 ile 80 arasında) bakımından yüksek kaliteli proteinlere sahiptir (Rumpold ve Schlüter, 2013; Belluco vd., 2017). Bazı böcek türleri fenilalanin ve tirozin bakımından zenginken bazıları lizin, triptofan ve treonin bazıları ise triptofan ve aromatik aminoasitler açısından zengindir. Genel olarak yüksek oranda esansiyel aminoasit içeren böcekler birçok ülkede eksik olan protein ihtiyacını tamamlamaktadır (Kourimská and Adámková, 2016). Böcek türlerinin besin öğesi içerikleri Çizelge 1'de özetlenmiştir (De Castro vd., 2018).

Çizelge 1. Böcek türlerinin besin öğesi içerikleri (De Castro vd., 2018)

TÜR	Protein (g/100g)	Yağ (g/100g)	Karbonhidrat (g/100g)	Mineral (g/100g)	Enerji (kcal/100g)
Kın Kanatlılar ( <i>Coleoptera</i> )	3.7-54	3.7-52	12-34	1-2	126-574
Çift Kanatlılar ( <i>Diptera</i> )	17.5-67	4.2-31	8.4-23	1.24-8	199-460
Yarım Kanatlılar ( <i>Hemiptera</i> )	33-65	7-54	7-19	1-19	329-622
Zar Kanatlılar ( <i>Hymenoptera</i> )	1-81	1.3-62	5-94	0-6	234-593
Pul Kanatlılar ( <i>Lepidoptera</i> )	13.2-69.6	7-77	3-41	2-8	126-762
Düz Kanatlılar ( <i>Orthoptera</i> )	13-77	2.4-25.1	16-30	2-27	117-436

Proteinlerden sonra böceklerde en çok bulunan makro besin öğesi yağlardır ve larva döneminde oranı daha yüksektir. Yaşamın evrelerine göre

değişmekle birlikte ortalama %80 trigliserid ile %20'den az oranda fosfolipidlerden oluşmaktadır (Ekpo vd., 2009; Tzompa-Sosa vd., 2014). Yağ

asidi profili böceklerin beslenmelerine göre değişmektedir. Böcek yağında oleik, linoleik ve linolenik asitler ve yüksek oranda palmitik asit dahil olmak üzere C18 yağ asitleri bulunmaktadır (Tzompa-Sosa vd., 2014; Paul vd., 2017). Kolesterol, böceklerde en bol bulunan steroldür. Bir termit türü olan *Macrotermes bellicosus* ve Nijerya'da yaygın olarak tüketilen *Imbrasia belina* tırtılı yağındaki lipid fraksiyonu ortalama kolesterol seviyesinin % 3.6 olduğunu

belirtmiştir (Ekpo vd., 2009). Genel olarak böceklerde doymamış yağların oranı doymuş yağdan yüksektir. Aynı zamanda üretilen yağlar renk, görüntü ve aroma açısından genel olarak tüketilebilir düzeydedir ve böceğin genel lezzet durumunu etkilemektedir (Paul vd., 2017; Tzompa-Sosa vd., 2019). Bazı böceklerin lezzetinin benzediği besinler Çizelge 2'de verilmiştir (Kourimská and Adámková, 2016).

Çizelge 2. Bazı yenilebilir böcek türlerinin lezzet benzerliği (Kourimská and Adámková, 2016)

Yenilebilir Böcekler	Lezzet Benzerliği
Karıncalar ve Termitler	Tatlı, Fındığa benzer
Siyah Böcek Larvaları	Kepekli ekmek
Tahta Kemirici Larvaları	Yağlı göğüs derisi
Yusufçuk Larvaları ve Suda Yaşayan Böcekler	Balık
Hamamböcekleri	Mantar
Çizgili Havuç Tahtakurusu	Elma
Eşek Arısı	Çam tohumu
Lambri Tırtıl ( <i>Mythimna impura</i> )	Ham Mısır
Unlu Bitler (Mealybug)	Patates Kızartması
Su Kayıkçıları	Havyar
Yabani Güveler	Ringa Balığı

Yenilebilir böcekler kuru ağırlıklarının %10'unu oluşturan kitin sayesinde iyi bir lif kaynağıdır. Çözünmeyen kitin, esas olarak dış iskeletlerinde bulunan böceklerin vücudundaki en yaygın lif şeklidir. Ticari olarak yetiştirilen böceklerde kitin, taze ağırlık başına 2.7 ile 49.8 mg ve kuru ağırlık başına 11.6 ile 137.2 mg arasında bulunmaktadır. Kitinin çıkarılması, böcek proteininin sindirilebilirliğini arttırmaktadır. Kitin ayrıca organizmaların bazı parazitik enfeksiyonlara ve alerjik durumlara karşı korunmasında etkilidir. Probiyotik etki yaparak bağırsak mikrobiyotasının gelişmesinde katkı sağlamaktadır. (Finke, 2007, Imathiu, 2020). Böcekler günlük mineral ihtiyacının yüksek oranını karşılayabilmektedir. Özellikle demir içeriği ve biyoyararlanımı yüksektir. Çekirgeler, cırcır böceği ve bazı solucan türleri özellikle Fe, Ca, Cu, Mg, Mn ve Zn açısından zengindir (Latunde-Dada vd., 2016). Bunun yanı sıra mevsim ve beslenme durumlarına göre değişmekle birlikte B grubu vitaminleri, A, D, E, K ve C vitaminini içermektedir (Kourimská, ve Adámková, 2016). Böceklerde besin içerikleri ve sindirilebilirlikleri haşlama, kavurma veya

kızartma gibi pişirme yöntemlerine göre değişebilmektedir. Ham böcekler haşlanmış veya kavrulmuş böceklerden daha fazla in vitro sindirilebilirliğe sahiptir. Kaynatma sırasında protein, demir ve çinkoda kayıplar olabilmektedir. Bu nedenle kısa süre kaynatma ve ardından kavurma işlemi önerilmektedir (Manditsera vd., 2019). Böcek türleri boyutları, yetiştirilme şekilleri, yaşam evreleri, protein içeriği ve protein sindirilebilirliği gibi birçok konudan etkilendiği için besinsel olarak işleme konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır (Halloran vd., 2016). Aynı zamanda böcek ürünleri besinlerin zenginleştirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Özelliklere böcek unlarıyla zenginleştirme ile makarna gibi ürünlerin besin içeriği arttırılmaktadır (Çabuk ve Yılmaz, 2020).

Böceklerde duyuşal özelliklerle tüketme şekline göre değişmekte ve tüketilebilirlik durumunu etkilemektedir. Genellikle yumurta ve larvalar daha az kitin içerdiğinden daha sık tüketilmektedir. Kabuklu böceklerde ise kitin nedeniyle tüketirken sert bir doku hissi ve ses

oluşumu gözlenmektedir. Kabuk kısmı aynı zamanda kokuyu engellemektedir (Kouřimská, ve Adámková, 2016). Böcek ürünleri işleminde genellikle öğütme, pişirme ve karıştırma gibi işlemler uygulanmaktadır. Aynı zamanda teknolojik yöntemlerle bazı biyoaktif besin öğeleri de üretilmektedir. Bu üretim sürecinde böceklerin en verimli şekilde işlenmesi için gerekli olan bilgiler çok fazla etken faktör olması nedeniyle yetersizdir (Manditsera vd., 2019). Bu nedenle böcek ürünleri ticarileştirilirken işleme yöntemlerinin araştırılması ve besin kaybının en az olacak şekilde üretilmesi gerekmektedir (Van Huis vd., 2013).

### **SAĞLIĞIN GELİŞTİRİLMESİNDE YENİLEBİLİR BÖCEKLER**

Sağlığın sürdürülmesi ve geliştirilmesi için yeterli ve dengeli bir şekilde besin öğelerinin alınması gerekmektedir. Özellikle besinlerde bulunan antioksidanlar gibi biyoaktif birçok madde sağlığın geliştirilmesi konusunda katkı sağlamaktadır (Alasalvar vd., 2020). Yenilebilir böcekler, Güneydoğu Asya, Pasifik, Sahra Altı Afrika, Orta ve Güney Amerika'daki çeşitli kırsal toplulukların üyeleri tarafından düzenli olarak büyük miktarda yemek veya besin takviyesi olarak tüketilmektedir. Aynı zamanda birçok hastalığın tedavisinde geleneksel tıp alanında kullanılmaktadır (Gahukar, 2020). Böcekler büyük biyokütleri ve geniş çeşitlilikleri ile özellikle biyoaktif madde açısından zengin kaynaklardır. Antimikrobiyal fonksiyona ve anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitör aktivitesine sahip çok çeşitli böcek peptitleri bildirilmiştir. Sağlığın geliştirilmesi konusunda yenilebilir böcekler iyi bir alternatif kaynak oluşturmaktadır (De Castro vd., 2018; Mulia, 2019). Gelişen teknoloji ile beraber özel aminoasitlerin üretiminde yenilebilir böceklerin kullanılabilirliği belirtilmiştir (Rahnamaeian vd., 2015; Malan vd., 2016). Böcek hücreleri bakteri veya mantarlara göre daha gelişmiştir. Aynı zamanda kültür kolaylığı ve yüksek ekspresyon özellikleri ile belirlenmiş özel peptitlerin üretiminde kullanılabilir. Bazı şirketler böcekleri kullanarak özel peptit üretimine başlamıştır. Bu peptitler besin üretiminden hastalıklarla mücadeleye kadar birçok farklı alanda kullanılabilir. Günümüzde bu işlemler

pahalı gözükmeye de geleceğe yönelik yatırımlar konusunda umut vaat etmektedir (Yi vd., 2014; Liu vd., 2017; Sonnabend vd., 2017; Almasia vd., 2017; Le vd., 2018).

Böcekler birçok paraziti bünyelerinde taşıyabilmektedir. Bu nedenle savunma mekanizmaları antimikrobiyal konak savunma peptidlerinin (AMP) veya polipeptitlerin sentezini gerçekleştirmektedir. Böcek AMP'leri alifatik peptitler, sistein bakımından zengin peptitler, prolin açısından zengin peptitler ve glisin bakımından zengin proteinler olmak üzere 4 grupta incelenmektedir (Yi vd., 2014). Böceklerdeki AMP miktarı, farklı türlere göre önemli ölçüde değişmektedir. Reaktif oksijen türlerinin üretimi, protein sentezinin ve geçirgenliğinin inhibisyonu, membranın elektrokimyasal gradyanının düzenlenmesi gibi farklı etkinliklere sahip olabilmektedir (Rahnamaeian vd., 2015). Aynı zamanda anti mikrobiyal etkileri dışında mantar hücre duvarı, hücre zarı geçirgenliği ve hücrelerde reaktif oksijen oluşumu yoluyla mantarları inhibe eden ve öldüren 80 çeşit böcek antifungal peptidi bildirilmiştir (Zhang vd., 2017).

Yenilebilir böceklerin antioksidan özellikleri de bulunmaktadır. Özellikle düşük molekül ağırlığına sahip olan lizin ve metionin gibi aminoasitlerin antioksidan özelliklerinin fazla olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2012; Liu vd., 2016). Yapılan bir çalışmada 12 yenilebilir böcek ve iki eklem bacaklıdan elde edilen su ve lipo-çözünür ekstraktların in vitro ortamda antioksidan etkileri incelenmiş, çekirge, ipekböceği ve kriket özlerinin taze portakal suyundan 5 kat daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur. Ağustos böceği, dev su böcekleri, Tayland zebra tarantulası ve siyah akreplerin antioksidan kapasitesinin göz ardı edilebilir olduğunu belirtilmiştir (Di Mattia vd., 2019). İpek böcekleri ile yapılan farklı çalışmalarda da antioksidan aktivitenin gözlemlendiği böceklerin antioksidan kapasiteyi arttırmak için kullanılabilirliği belirtilmiştir (Liu vd., 2015; Liu vd., 2016). Yenilebilir böceklerin in vitro gastrointestinal sindirimi ile elde edilen peptitlerin antioksidan aktivitelerini inceleyen farklı bir çalışmada bunu

destekler niteliktedir (Zielińska vd., 2016). Antioksidan etkiler dışında özellikle kalp damar hastalıklarında etkin olan ACE inhibitörleri *Coleoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera*, *Lepidoptera* ve *Orthoptera* takımlarına ait böcek türlerinden protein hidrolizatlarında tespit edilmiştir (Cito vd., 2017). Çalışmalardan görüldüğü gibi yenilebilir böcekler makro besin öğeleri sayesinde beslenmeye katkı sağlayacağı gibi özellikle biyoaktif maddeler sayesinde de sağlığın geliştirilmesini sağlamak için bir alternatifir.

## YENİLEBİLİR BÖCEKLERİN TÜKETİMİNDEKİ RİSKLER

Yenilebilir böcekler yetiştirildikleri yerlere göre bünyelerinde zararlı mikroorganizmalar, parazit canlılar, ağır metal veya ilaç kalıntıları, alerjen etmenler gibi açılardan risk oluşturabilmektedir. Yenilebilir böceklerin tüketimi ile ilgili riskler genel olarak mikrobiyolojik, parazitolojik, alerjik ve biyokimyasal olmak üzere sınıflandırılmaktadır. (Van Spiegel vd., 2013; EFSA, 2015). Ticari olarak kullanılan böcek türlerinde gram pozitif bakterilerin olabileceğini belirtilmiştir (Belluco vd., 2013). Aynı zamanda yemek kurdu ve kriketlerden üretilen besinlerde *Bacillus cereus* bakterial endosporları saptanmıştır (Vandeweyer vd., 2020). Yapılan bir çalışmada böceklerde pişirme ile mikrobiyal risk arasındaki ilişki incelenmiş ve taze böceklerde *Enterobacteriaceae* ve spor oluşturan bakterilerin bulunabileceği bildirilmiştir. Böceklerin 5 dakika kaynatılması *Enterobacteriaceae*'yi ortadan kaldırmak için etkili bir işlemken, spor oluşturan bakterileri ortadan kaldırmamıştır. Bu nedenle haşlanmış böcekler 5-7 ° C de 2 hafta depolanabileceği bildirilmiştir. Kavurma, *Enterobacteriaceae*'yi ortadan kaldırmak için yeterli olmamıştır. Bu nedenle, kavurmadan önce birkaç dakika kaynatılması önerilmiştir (Klunder vd., 2012).

Böcekler bazı hastalıklar için biyolojik vektör olarak risk taşımaktadır. Amerikan tripanosomiazisi olarak da bilinen Chagas hastalığı, protozoon parazit *Trypanosoma cruzi*'nin neden olduğu potansiyel olarak hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Dünyada tahmini olarak 6 ila 7 milyon kişiye *T. cruzi* bulaşmıştır. Chagas hastalığı çoğunlukla 21 Latin Amerika ülkesinin endemik

bölgelerinde bulunur, burada insanlar enfekte kan emici triatomın böceklerinin (vektör kaynaklı bulaşma) dışkısı ve / veya idrarı ile temas ettiğinde bulaşır (WHO, 2020). Özellikle Latin Amerika kırsallarında böcek kaynaklı hastalıklar yaygın olabilmektedir. Aynı zamanda böceklerin kazara yutulması veya şeker kamışı suyu gibi kontamine gıdaların tüketimi ile ilişkilendiren vakalar bildirilmiştir (Belluco vd., 2013; WHO, 2020). Yenilebilir böceklerde virüs kaynaklı hastalıklar ile ilgili yayınlar oldukça sınırlı olup viral kaynaklardan kaynaklanacak risklerin diğer mikroorganizmalara göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (Vandeweyer vd., 2020).

Herhangi bir gıda potansiyel olarak alerjik etki gösterebilse de özellikle kabuklu deniz hayvanları (çoğunlukla karides, ıstakoz ve kerevit) gibi eklembacaklıların hassas bireylerde alerjik reaksiyonları indükleyebildikleri bilinmektedir (Belluco vd., 2013; Wai vd., 2020). Fosfolipaz A ve hiyalüronidaz gibi böcek zehri alerjenlerini içeren glikoproteinler, böceklerdeki ana alerjenik yapılarıdır. Dünya Sağlık Örgütü Alerjen İsimlendirme Alt Komitesinin gerekliliklerine göre, eklembacaklılardan 239 tür alerjen olarak kayıtlıdır. Şuan için fermantasyon ve hidroliz işlemleri alerjenitenin azalmasını sağlamaktadır (Verhoeckx vd., 2015; Schlüter vd., 2017).

## SONUÇ

Yenilebilir böcekler yüksek orandaki biyokütleleri, çeşitlilikleri ve zengin besin içeriği nedeniyle hastalıklarla mücadele ve sağlığın geliştirilmesi açısından iyi bir kaynaktır. Aynı zamanda diğer hayvansal protein kaynaklarına göre üretim aşamasında yüksek verimlilik ve çevreye en az zararı vermektedir. Toplumlar tarafından tüketiminin kabulü bazıları için zor olsa da farklı uygulamalar ile tüketim artırılabilir. Yenilebilir böcekler besin ögesi ve biyoaktif madde üretiminde kullanılmasının yanında mikrobiyal ve alerjik riskler taşımaktadır. Bu riskler konusunda detaylı çalışmalar yapılmamıştır. Yenilebilir böceklerin üretiminin önündeki en büyük engel bu alanda kapsamlı çalışmaların yapılmaması ve gerekli uluslararası standartların belirlenmemesidir. Bu nedenle bu alanda geniş çaplı çalışmaların yapılması, üretim aşaması için



mevzuatların geliştirilmesi, tüketim kabulü için pazarlama uygulamalarının geliştirilmesi ile ulusal ve uluslararası politikaların oluşturulması gerekmektedir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarın, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### KAYNAKÇA

Alasalvar, C., Salvadó, J.S., Ros, E. (2020). Bioactives and health benefits of nuts and dried fruits. *Food Chem*, 314: 126192, doi:10.1016/j.foodchem.2020.126192.

Almasia, N.I., Molinari, M.P., Maroniche, G.A., Nahirñak, V., Barón, M.P.B., Taboga, O.A., Rovere, C.V. (2017). Successful production of the potato antimicrobial peptide Snakin-1 in baculovirus-infected insect cells and development of specific antibodies. *BMC Biotechnol*, 17(1): 75, doi: 10.1186/s12896-017-0401-2.

Barbi, S., Macavei, L.I., Fuso, A., Luparelli, A.V., Caligiani, A., Ferrari, A.M., Maistrello, L., Montorsi, M. (2020). Valorization of seasonal agri-food leftovers through insects. *Sci Total Environ*, 709: 136209, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.136209.

Belluco, S., Losasso, C., Maggioletti, M., Alonzi, C. C., Paoletti, M. G., Ricci, A. (2013). Edible insects in a food safety and nutritional perspective: a critical review. *Comp Rev Food Sci Food Safety*, 12: 296–313. doi: 10.1111/1541-4337.12014.

Belluco, S., Halloran, A., Ricci, A. (2017). New protein sources and food legislation: The case of edible insects and EU law. *Food Sec*, 9(4): 803-814, doi: 10.1007/s12571-017-0704-0.

Cito, A., Botta, M., Francardi, V., Dreassi, E. (2017). Insects as source of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides. *J Insects as Food Feed*, 3(4): 231-240, doi: 10.3920/JIFF2017.0017.

Cox, S., Payne, C., Badolo, A., Attenborough, R., Milbank, C. (2020). The nutritional role of insects as food: A case study of ‘chitoumou’(*Cirina butyrospermi*), an edible caterpillar in rural

Burkina Faso. *J Insects as Food Feed*, 6(1): 69-80, doi: 10.3920/JIFF2018.0030

Çabuk, B., Yılmaz, B. (2020). Fortification of traditional egg pasta (erişte) with edible insects: nutritional quality, cooking properties and sensory characteristics evaluation. *J Food Sci Technol*, 57(7): 2050-2057, doi: 10.1007/s13197-020-04315-7.

De Castro, R.J.S., Ohara, A., dos Santos Aguilar, J.G., Domingues, M.A.F. (2018). Nutritional, functional and biological properties of insect proteins: Processes for obtaining, consumption and future challenges. *Trends Food Sci Tech*, 76: 82-89, doi: 10.1016/j.tifs.2018.04.006

Di Mattia, C., Battista, N., Sacchetti, G., Serafini, M. (2019). Antioxidant activities in vitro of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects. *Front Nutr*, 6: 106, doi: 10.3389/fnut.2019.00106.

EFSA Scientific Committee. (2015). Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA J*, 13(10): 4257, doi: 10.2903/j.efsa.2015.4257.

Ekpo, K.E., Onigbinde, A.O., Asia, I.O. (2009). Pharmaceutical potentials of the oils of some popular insects consumed in southern Nigeria. *Afr J Pharm Pharmacol*, 3(2): 51–57.

Evans, J., Alemu, M.H., Flore, R., Frøst, M.B., Halloran, A., Jensen, A.B., Maciel-Vergara, G., Meyer-Rochow, V.B., Münke-Svendsen, C., Olsen, S.B., Payne, C., Roos, N., Rozin, P., Tan, H.S.G., van Huis, A., Vantomme, P., Eilenberg, J. (2015). ‘Entomophagy’: an evolving terminology in need of review. *J Insects as Food Feed*, 1(4): 293-305, doi: 10.3920/JIFF2015.0074

FAO/INFOODS (2017). *Food Composition Database for Biodiversity Version 4.0 – BioFoodComp4.0*. Rome, Italy.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP, WHO (2018). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2018. Building climate resilience for food security and nutrition*. Rome, Italy.

FAO (2020). Insects for food and feed. The contribution of insects to food security,

- livelihoods and the environment. <http://www.fao.org/edible-insects/en/> (Accessed: 22 July 2020).
- FDA (2016). Frequently Asked Questions About GRAS for Substances Intended for Use in Human or Animal Food: Guidance for Industry. <https://www.fda.gov/media/101042/download> (Accessed 22 July 2020).
- Finke, M.D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol*, 26(2): 105-115, doi: 10.1002/zoo.20123.
- Finke, M.D., Oonincx, D.D. (2014). Insects as food for insectivores. In: *Mass Production Of Beneficial Organisms: Invertebrates And Entomopathogens*, Morales- Ramos, J.A., Rojas, M.G., Shapiro-Ilan, D.I. (chief ed.). Elsevier, New York, pp. 583–616.
- Gahukar, R.T. (2020). Edible insects collected from forests for family livelihood and wellness of rural communities: A review. *Glob Food Sec*, 25: 100348, doi: 10.1016/j.gfs.2020.100348
- Halloran, A., Roos, N., Eilenberg, J., Cerutti, A., Bruun, S. (2016). Life cycle assessment of edible insects for food protein: a review. *Agron Sustain Dev*, 36(4): 57, doi: 10.1007/s13593-016-0392-8.
- Imathiu, S. (2020). Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS J*, 18: 1-11, doi: 10.1016/j.nfs.2019.11.002.
- Klunder, H.C., Wolkers-Rooijackers, J., Korpela, J.M., Nout, M.J.R. (2012). Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*, 26(2): 628–631, doi: 10.1016/j.foodcont.2012.02.013.
- Koko, M.Y.F., Mariod, A.A. (2020). Sensory Quality of Edible Insects. In: *African Edible Insects As Alternative Source of Food, Oil, Protein and Bioactive Components*, Mariod, A.A. (chief ed.), Springer Nature, Switzerland, pp. 115-122.
- Kourimská, L., Adámková, A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS J*, 4: 22–26, doi: 10.1016/j.nfs.2016.07.001.
- Latunde-Dada, G.O., Yang, W., Aviles, M.V. (2016). In vitro iron availability from insects and sirloin beef. *J Agric Food Chem*, 64(44): 8420–8424, doi: 10.1021/acs.jafc.6b03286.
- Le, L.T., Nyengaard, J.R., Golas, M.M., Sander, B. (2018). Vectors for expression of signal peptide-dependent proteins in baculovirus/insect cell systems and their application to expression and purification of the high-affinity immunoglobulin gamma Fc receptor I in complex with its gamma chain. *Mol Biotechnol*, 60(1): 31-40, doi: 10.1007/s12033-017-0041-8.
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Yang, Q. (2012). Antioxidant activity and phenolic compounds of *Holotrichia parallela* motschulsky extracts. *Food Chem*, 134(4): 1885–1891, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.03.091.
- Liu, Y.Y., Liu, J., Zou, Y.X., Liao, S.T., Shen, W., Lin, G. (2015). Process optimization for preparation of active peptides from male silkworm moth proteins using dual enzymatic hydrolysis. *Science of Sericulture*, 41: 716–723 [In Chinese].
- Liu, Y., Wan, S., Liu, J., Zou, Y., Liao, S. (2016). Antioxidant activity and stability study of peptides from enzymatically hydrolyzed male silkworm. *J Food Process Pres*, 41(1): 13081, doi: 10.1111/jfpp.13081.
- Liu, Y.J., Wu, S.L., Love, K.R., Hancock, W.S. (2017). Characterization of Site-Specific glycosylation in Influenza A Virus Hemagglutinin produced by *Spodoptera frugiperda* insect cell line. *Anal Chem*, 89(20): 11036–11043, doi: 10.1021/acs.analchem.7b03025.
- Malan, M., Serem, J.C., Bester, M.J., Neitz, A.W., Gaspar, A.R. (2016). Anti-inflammatory and anti-endotoxin properties of peptides derived from the carboxyterminal region of a defensin from the tick *Ornithodoros savignyi*. *J Pept Sci*, 22(1): 43–51, doi: 10.1002/psc.2838.
- Manditsera, F.A., Luning, P.A., Fogliano, V., Lakemond, C. M. (2019). Effect of domestic cooking methods on protein digestibility and mineral bioaccessibility of wild harvested adult edible insects. *Food Res Int*, 121: 404-411, doi: 10.1016/j.foodres.2019.03.052.

- Mlcek, J., Borkovcova, M., Rop, O., Bednarova, M. (2014). Biologically active substances of edible insects and their use in agriculture, veterinary and human medicine - a review. *J Cent Eur Agric*, 15(4): 225–237, doi: 10.5513/JCEA01/15.4.1533.
- Mulia, R.N. (2019). Global simulation of insect meat production under climate change. *Front Sustain Food Syst*, 3: 91, doi: 10.3389/fsufs.2019.00091.
- Nowak, V., Persijn, D., Rittenschober, D., Charrondiere, R. (2015). Review of food composition data for edible insects. *Food Chem*, 193: 39–46, doi: 10.1016/j.foodchem.2014.10.114.
- Paul, A., Frederich, M., Megido, R.C., Alabi, T., Malik, P., Uyttenbroeck, R., Francis, F., Blecker, C., Haubruge, E., Lognau, G., Danthine, S. (2017). Insect fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans and *Tenebrio molitor* L. larvae. *J Asia Pac Entomol*, 20(2): 337–340, doi: 10.1016/j.aspen.2017.02.001.
- Payne, C.L.R., Scarborough, P., Rayner, M., Nonaka, K. (2016). Are edible insects more or less 'healthy' than commonly consumed meats? A comparison using two nutrient profiling models developed to combat over- and undernutrition. *Eur J Clin Nutr*, 70(3): 285–291, doi: 10.1038/ejcn.2015.149.
- Poma, G., Cuykx, M., Amato, E., Calaprice, C., Focant, J.F., Covaci, A. (2017). Evaluation of hazardous chemicals in edible insects and insect-based food intended for human consumption. *Food Chem Toxicol*, 100: 70–79, doi: 10.1016/j.fct.2016.12.006.
- Poortvliet, P.M., Van Pas, L., Mulder, B.C., Fogliano, V. (2019). Healthy, but disgusting: An investigation into consumers' willingness to try insect meat. *J Econ Entomol*, 112(3): 1005–1010, doi: 10.1093/jee/toz043.
- Rahnamaeian, M., Cytryńska, M., Zdybicka-Barabas, A., Dobszlaff, K., Wiesner, J., Twyman, R.M., Zuchner, T., Sadd, B.M., Regoes, R.R., Schmid-Hempel, P., Vilcinskis, A. (2015). Insect antimicrobial peptides show potentiating functional interactions against gram-negative bacteria. *Proc R Soc Biol Sci Ser B*, 282(1806): 2–10, doi: 10.1098/rspb.2015.0293.
- Raiten, D.J., Allen, L.H., Slavin, J.L., Mitloehner, F.M., Thoma, G.J., Haggerty, P.A., Finley, J. W. (2020). Understanding the intersection of climate/environmental change, health, agriculture and improved nutrition: a case study on micronutrient nutrition and animal source foods. *Curr Dev Nutr*, 4(7): 1–8, doi: 10.1093/cdn/nzaa087.
- Rumpold, B.A., Schlüter, O.K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol Nutr Food Res*, 57(5): 802–823, doi: 10.1002/mnfr.201200735.
- Schlüter, O., Rumpold, B., Holzhauser, T., Roth, A., Vogel, R.F., Quasigroch, W., Vogel, S., Heinz, V., Jäger, H., Bandick, N., Kulling, S., Knorr, D., Steinberg, P., Engel, K.H. (2017). Safety aspects of the production of foods and food ingredients from insects. *Mol Nutr Food Res*, 61(6): 1–14, doi: 10.1002/mnfr.201600520.
- Stull, V., Patz, J. (2020). Research and policy priorities for edible insects. *Sustain Sci*, 15(2): 633–645, doi: 10.1007/s11625-019-00709-5.
- Sonnabend, A., Spahn, V., Stech, M., Zemella, A., Stein, C., Kubick, S. (2017). Production of G protein-coupled receptors in an insect-based cell-free system. *Biotechnol Bioeng*, 114(10): 2328–2338, doi: 10.1002/bit.26346.
- Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G.I.N., You, L., Zhang, J., Liu, Y., Ma, L., Gao, J., Dong, Yi. (2016). Transforming insect biomass into consumer wellness foods: A review. *Food Res Int*, 89: 129–151, doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.001.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L.Y., Van Valenberg, H.J.F., Van Boekel, M.A.J.S., Lakemond, C. M.M. (2014). Insect lipid profile: Aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Res Int*, 62: 1087–1094, doi: 10.1016/j.foodres.2014.05.052.
- Tzompa-Sosa, D.A., Yi, L., Van Valenberg, H.J.F., Lakemond, C.M.M. (2019). Four insect oils as food ingredient: physical and chemical characterisation of insect oils obtained by an

- aqueous oil extraction. *J Insects as Food Feed*, 5(4): 279-292, doi: 10.3920/JIFF2018.0020.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. (2013). *Edible insects: future prospects for food and feed security*. FAO, Rome.
- Van Huis, A., Oonincx, D. G. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agron Sustain Dev*, 37(5): 43 doi: 10.1007/s13593-017-0452-8.
- Van Huis, A. (2020). Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: a review. *J Insects as Food Feed*, 6(1): 27-44, doi: 10.3920/JIFF2019.0017.
- Van Spiegel, M., Van Noordam, M.Y., Van Fels-Klerx, H.J. (2013). Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 12: 662-678, doi: 10.1111/1541-4337.12032.
- Vandeweyer, D., Lievens, B., Van Campenhout, L. (2020). Microbiological safety of industrially reared insects for food: Identification of bacterial endospores and targeted detection of foodborne viruses. *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.04.22.055236.
- Verhoeckx, K.C., Vissers, Y.M., Baumert, J.L., Faludi, R., Feys, M., Flanagan, S., Herouet-Guicheney, C., Holzhauser, T., Shimojo, R., van der Bolt, N., Wichers, H., Kimber, I. (2015). Food processing and allergenicity. *Food Chem Toxicol*, 80: 223-240, doi: 10.1016/j.fct.2015.03.005.
- Wade, M., Hoelle, J. (2020). A review of edible insect industrialization: Scales of production and implications for sustainability. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/aba1c1/meta> (Accessed 22 July 2020).
- Wai, C.Y., Leung, N.Y., Chu, K.H., Leung, P.S., Leung, A.S., Wong, G.W., Leung, T.F. (2020). Overcoming shellfish allergy: How far have we come?. *Int J Mol Sci*, 21(6): 2234, doi: 10.3390/ijms21062234.
- Wendt, S., Czaczkes, T.J. (2020). Labeling effect in insects: Cue associations influence perceived food value in ants (*Lasius niger*). *J Comp Psychol*, doi: doi.org/10.1037/com0000212.
- WHO (2020). Chagas disease (American trypanosomiasis). [https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1) (Accessed 22 July 2020).
- Yi, H.Y., Chowdhury, M., Huang, Y.D., Yu, X. Q. (2014). Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 98(13): 5807-5822, doi: 10.1007/s00253-014-5792-6.
- Zhang, D.D., Liu, L., Tang, Y., Pei, Z.H., Kong, L.C., Liu, S.M., Ma, H.X. (2017). Progress on mechanism and application of antifungal peptides from insects. *Progress in Veterinary Medicine*, 7: 17 [In Chinese].
- Zielińska, E., Karaś, M., Jakubczyk, A. (2016). Antioxidant activity of predigested protein obtained from a range of farmed edible insects. *Int J Food Sci Technol*, 52(2): 306-312, doi: 10.1111/ijfs.13282.



## **EDIBLE COATING OF CEREAL BARS USING DIFFERENT BIOPOLYMERS: EFFECT ON PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES DURING STORAGE**

**Vildan Eyiz, İsmail Tontul\*, Selman Türker**

Necmettin Erbakan University, Engineering and Architecture Faculty, Food Engineering Department, Konya,  
Turkey

Received /Geliş: 14.02.2020; Accepted /Kabul: 15.09.2020; Published online /Online baskı: 30.09.2020

*Eyiz, V., Tontul, İ., Türker, S. (2020). Edible coating of cereal bars using different biopolymers: effect on physical and chemical properties during storage, GIDA (2020) 45(5) 1019-1029 doi: 10.15237/gida.GD20029*

Eyiz, V., Tontul, İ., Türker, S. (2020). Tahıl barlarının farklı biyopolimerler ile yenilebilir kaplanması: Depolama süresince fiziksel ve kimyasal özellikler üzerine etkisi, *GIDA* (2020) 45(5) 1019-1029 doi: 10.15237/gida.GD20029

### **ABSTRACT**

Cereal bars were coated with three different biopolymers to prevent the changes during storage. The edible coating using sodium alginate (SA), carboxymethyl cellulose (CMC) and whey protein isolate (WPI) had little effect on chemical properties of the bars. The moisture content of coated bars was found to be significantly higher than that of control samples because of moisture diffusion during treatments and prevention of moisture loss during storage. SA was the most effective coating materials in terms of preservation of the textural properties. On the other hand, coating cereal bars with CMC caused some undesirable changes in the color and textural properties of the bars. All three coating materials provided higher content of total phenolics compared to control. As a result of the study, it is recommended to use of SA as an edible coating for cereal bars to increase the physical and chemical stability of the product.

**Keywords:** cereal bar, edible coating, storage, textural properties, chemical properties

## **TAHİL BARLARININ FARKLI BİYOPOLİMERLER İLE YENİLEBİLİR KAPLANMASI: DEPOLAMA SÜRESİNCE FİZİKSEL VE KİMYASAL ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ**

### **ÖZ**

Bu çalışmada tahıl barlarının depolanması sırasında, değişiklikleri önlemek için 3 farklı biyopolimer ile kaplanmıştır. Sodyum aljinat (SA), karboksimetil selüloz (KMS) ve peynir altı suyu protein izolatu (PASP) kullanılarak yenilebilir kaplamanın barların kimyasal özellikleri üzerinde çok az etkisi olmuştur. Kaplanmış barların nem içeriğinin, kontrol numunelerinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum uygulama sırasında nem difüzyonu ve depolama sırasında nem kaybının önlenmesi ile açıklanmıştır. Depolama sırasında barların tekstürel özelliklerinin korunması açısından en etkili kaplama SA olmuştur. Öte yandan, tahıl barı örneklerinin KMS ile kaplanması, renk ve tekstürel özelliklerinde bazı istenmeyen değişikliklere neden olmuştur. Üç kaplama malzemesinin hepsi kontrole göre daha yüksek toplam fenolik içeriği sağlamıştır. Çalışmanın sonucu olarak, ürünün fiziksel ve kimyasal stabilitesini arttırmak için tahıl barları için yenilebilir kaplama olarak SA kullanılması tavsiye edilmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Tahıl barı, yenilebilir kaplama, depolama, tekstürel özellikler, kimyasal özellikler

\* Corresponding author / Yazışmalardan sorumlu yazar:

✉ : itontul@erbakan.edu.tr,

☎ : (+90) 332 325 2024

☎ : (+90) 332 325 2024

Vildan Eyiz; ORCID no: 0000-0003-1081-4166

İsmail Tontul; ORCID no: 0000-0002-8995-1886

Selman Türker; ORCID no: 0000-0003-1233-7906

## INTRODUCTION

Cereals are an essential part of the diet since they contain the dietary fibers, proteins, minerals, vitamins and antioxidants. Cereals comprise dietary fibers such as beta-glucan, arabinoxylan, resistant starch, as well as phenolic substances and phytoestrogens that exhibit antioxidant properties. The most commonly consumed cereals are reported as wheat, rice, corn, oats and barley. Cereals have been reported to prevent cancer and cardiovascular diseases, reduce blood pressure, cholesterol and fat absorption rate, and reduce the risk of heart disease (Chaturvedi *et al.*, 2011).

Due to the increase in the health awareness of people, instead of snacks with high fat, energy and salt concentrations, demand to alternatives that have high fiber content, suitable energy level and rich in vitamins and minerals increased. The market share of extruded or baked products has risen in recent years as an alternative to fried products (Harper, 2019). Such products are generally cereal-based and occasionally supplemented with dried fruits and nuts.

The edible coating is defined as packaging materials obtained from natural sources, which can be consumed together with food, used to protect food and extend the shelf life (Keleş, 2002). Edible coating of foods has many advantages such as protection of food from environmental effects, low impact to the environment, allowing to use of different technologies, improvement of the nutritional value of product and biodegradability (Bourtoom, 2008). Biopolymers, used in the edible coating of various food products, are classified into four groups: polysaccharides, proteins, lipids and composites (Williams *et al.*, 2006). Polysaccharide and protein-based biopolymers, generally known as their excellent gas barrier properties. In this way, they prevent oxidation reactions typically occurs in coated food. On the other hand, since they have hydrophilic properties, their water vapor permeability is high (Yang & Paulson, 2000). As hydrophobic materials, lipid-based biopolymers have very low water vapor permeability, but their mechanical properties are adequate (Vieira *et al.*, 2011). Since different

biopolymers can be used in the edible coating of food, some considerations must be taken into account in the production of a good quality edible coating material. These are;

-It should be generally recognized as safe (GRAS).

-It should have low oxygen permeability to prevent various reactions that oxygen catalyzes in the product.

-The water vapor permeability should be at the appropriate level to prevent moisture loss/gain.

-It should improve the textural properties of the product (Williams *et al.*, 2006).

In the present study, the edible coating of cereal bars to prevent or limit physical and chemical changes occurred during storage of product was carried out. For this aim, three different biopolymers, namely sodium alginate, carboxymethyl cellulose and whey protein isolate, were tested.

Cereal bars are produced by mixing different cereals and their products (oats, corn flakes, wheat, rice), dried fruits (apricots, figs, dates, grapes and apples), nuts (sunflower seeds, nuts, and peanuts) and other ingredients (honey, sugar syrup, vegetable oil, vanilla, salt, etc.). This homogenous mixture is spread on trays, baked for a specified duration and sliced into a rectangular form. Since cereal bars are both delicious and nutritious, they are highly preferred by consumers in recent years. Consumers prefer cereal bars because of their high dietary fiber, carbohydrate, protein and low-fat content (Bower & Whitten, 2000). Cereal bars which are quite good in terms of organoleptic properties and portable foods with a moderate shelf life is consumed as a snack or supplementary food. However, the textural and chemical properties of cereal bars are tended to change during storage because of environmental factors such as temperature, relative humidity, oxygen etc. To prevent or limit these changes, edible coating of cereal bars were tested in the present study for the first time in literature.

Several studies have been published on cereal bars. In one of these studies, Dutcosky *et al.* (2006) developed a cereal bar with prebiotic

properties. The optimum formulations (50% inulin + 50% oligofructose or 8.46% inulin + 66.16% gum arabic + 25.38% acacia gum) reported having better textural properties than bars produce using prebiotics alone. Sun-Waterhouse et al. (2010) comparatively analyzed enriched cereal bars (with dietary fiber and/or polyphenols) and control bars. According to the results, apple fiber added bars had the highest total fiber content (5.3%). It was also determined that the cooking process had no significant effects on the fiber and polyphenol content. Polyphenol or dietary fiber-enriched bars were found to contain more phenolic substances than control bars. In different studies, cereal bars were produced using different exotic fruits (jenipapo and jackfruit) (Torres *et al.*, 2011), proteins (Padmashree et al., 2012) and probiotics (Bampi *et al.*, 2016). Mendes et al. (2013) aimed to evaluate the oxidative stability and changes in the chemical composition of cereal bars packed in different packages (laminated, transparent, transparent under vacuum and laminated under vacuum). After 120 days of storage, cereal bars did not indicate of oxidation at all samples, thereby low-cost packages such as vacuum-free transparent packaging were suggested.

The study is conducted to preserve the physical and chemical properties of cereal bars with edible coating using three different biopolymers (SA, CMC, WPI) during storage at two different temperatures (25 and 37 °C). First of all, the effect of edible coating on the chemical composition of cereal bars was determined. Then, the impact of biopolymers and storage temperature on moisture content, color, browning index, textural properties, total phenolic content and radical scavenging activity of cereal bars was comparatively investigated.

## MATERIAL AND METHODS

### Material

Oat (Sağlık agricultural products, Konya, Turkey), grapes (Temel 1993, Manisa, Turkey), butter (Çağlak, Konya, Turkey), glycerol (Tastearom, İstanbul, Turkey) and honey (Billur, Samsun, Turkey) were used in cereal bar production. Whey protein isolate (Hipro IsoWhey, Hard Line Nutrition, İstanbul, Turkey), sodium alginate

(Alfasol, İstanbul, Turkey), carboxymethyl cellulose (Alfasol, İstanbul, Turkey) and glycerol (Tastearom, İstanbul, Turkey) were used in edible coating material production. All chemicals used in the analysis were reagent grade and provided from Merck (Germany).

### Cereal bar production

Cereal bar formulation was determined preliminary experiments using different amounts of oat flakes, dried fruits (grapes, apricots), nuts, butter, glycerol and honey. As a result of the preliminary experiments, the acceptable formulation was determined as 50% cereal (baked oat flakes at 150 °C for 15 min), 28% dried fruits (grapes), 0.5% glycerol, 1.5% butter and 20% honey. All materials were homogenized using Hobart mixer (N50 5-Quart, Ontario, Canada) for 6 min. The mixture was laid in trays [3 cm (thickness) × 40 cm (width) × 60 cm (length)] and baked at 150 °C for 15 minutes. After baking both sides of the bars were dried for 24 hours at room temperature under shade. Finally, cereal bars were sliced to obtain a rectangular shape (3.0 cm × 6.0 cm). A total of 112 bars were obtained for each replication, and the bars were divided into four groups. Three groups were used in coating experiments and the other one evaluated as a control group.

### Preparation of coating solutions and treatment

SA (1%), CMC (1%) and WPI (10%) were used as coating materials and glycerol was used as a plasticizer. In preparing the coating solutions, required amount of coating material and glycerol (the ratio of coating material to plasticizer was 1:1) were dissolved in distilled water, and the volume of the solution was made up to 4 L. The solution heated to 90 °C in a water bath and held for 30 minutes under stirring continuously. Finally, the coating solution kept in an ultrasonic bath which operated at 35 kHz and 650 W (Bandelin Sonorex, Berlin, Germany) for 5 minutes to degassing. After cooling of the solutions to room temperature, the cereal bars were coated by dipping into the solution for 5 s. Both sides of the bars were dried for 24 hours at room temperature under shade.

### Storage

Samples were packaged in low-density polyethylene pouches, and packages were closed with heat sealing. Storage was done at two different temperatures; conditioned room temperature (~25) and 37 °C in an incubator. Six packages were stored for each treatment at each replication. Analyzes were carried out every two weeks at 25 °C (70 days), and every week at 37 °C (35 days).

### Chemical composition and energy content

The moisture content of the cereal bars was gravimetrically determined by drying of samples at 70 °C until constant weight. The protein (AACC 46-12), crude oil (AACC 30-25) and ash (AACC 08-01) contents of the cereal bars were determined according to the AACC (2000). Carbohydrate content of the samples was calculated from moisture, crude oil, protein and ash content as reported by Nergiz and Ötleş (1993) (Eq.1). The total energy content of the cereal bars was calculated using Eq. 2. The protein, crude oil, carbohydrate, ash and energy content of the cereal bars were only determined after the production of samples.

$$\text{Carbohydrate (g)} = 100 - (\text{Moisture} + \text{Crude oil} + \text{Protein} + \text{Ash}) \quad (1)$$

$$\text{Energy (kcal/100 g)} = \text{Crude oil} \times 9 + \text{Protein} \times 4 + \text{Carbohydrate} \times 4 \quad (2)$$

### Color and browning index

Color analyses were carried out using a Konica Minolta colorimeter (CR-400, Japan). Before measurement of samples, the colorimeter was calibrated using the reference white tile. After calibration, the color of samples was measured from 10 different parts of bars. Color was determined in terms of L\*, a\* and b\* color scale and Hue angle, chroma and browning index were calculated using these values according to Tontul *et al.* (2016).

### Texture analysis

The textural properties of the cereal bars were determined using a texture analyzer (TA.XT 2Plus, Stable Micro Systems, Surrey, UK). The

hardness, resilience, cohesiveness, springiness and chewiness of the cereal bars were calculated from the plot obtained by texture profile analysis (AACC, 2000). The measurement conditions were; probe: P / 36R cylindrical probe, pretest speed: 10 mm/s, trigger force: 0.196 N, test speed: 0.2 mm/s, compression ratio: 30%, holding time: 5 s.

### Total phenolic content and radical scavenging activity

The total phenolic content (Folin-Ciocalteu method) and radical scavenging activity (DPPH inhibition method) of the cereal bars were analyzed according to Tontul and Topuz (2017).

### Statistical analyses

The treatment and analyses were performed in duplicate. Analysis of variance (at  $P < 0.01$  or  $P < 0.05$  level) and Duncan's multiple range test (at  $P < 0.05$  level) were applied to data using SAS v9 software (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Chemical composition and energy content

The effect of edible film coating on chemical properties was determined. Protein, oil, carbohydrate, ash and energy values of cereal bars were determined in the range of 8.64-10.37 g/100g, 1.18-1.40 g/100g, 72.48-78.95 g/100g, 1.35 -1.51 g/100 g and 339.90-362.19 kcal/100 g, respectively (Table 1.). It was determined that edible coating caused a statistically significant decrease in energy value. This phenomenon could be related to the increased moisture content as a result of moisture diffusion during the coating of cereal bars. Indeed, the moisture content of coated bars was significantly higher than the control samples (Table 2). Mridula *et al.* (2013) produced energy bars containing flaxseeds and sweeteners enriched with omega 3 in their studies. The maximum energy values of the bars were determined as 397.95 kcal/100 g. The chemical properties of the produced bars were as followed: moisture content 11-13%, protein content 10-11%, fat content 5-11%, ash content 1-1.5%, carbohydrate content 60-71%. The result of the present study was found to be consistent with the literature.



Table 1. Chemical composition and energy content of cereal bars<sup>1</sup>

Sample	Protein (g/100g)	Crude oil (g/100g)	Carbohydrate (g/100g)	Ash (g/100g)	Energy (kcal/100 g)
Control	8.64±0.33 <sup>b</sup>	1.31±0.40	78.95±1.05 <sup>a</sup>	1.51±0.02 <sup>a</sup>	362.19±0.77 <sup>a</sup>
SA	9.14±0.13 <sup>b</sup>	1.40±0.63	74.37±0.63 <sup>b</sup>	1.40±0.04 <sup>ab</sup>	346.64±3.72 <sup>b</sup>
CMC	8.99±0.11 <sup>b</sup>	1.18±0.09	73.32±0.26 <sup>b</sup>	1.46±0.02 <sup>ab</sup>	339.90±1.45 <sup>b</sup>
WPI	10.37±0.31 <sup>a</sup>	1.39±0.04	72.48±1.33 <sup>b</sup>	1.35±0.05 <sup>b</sup>	343.91±3.72 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Mean ± std error. different letters in same column shows significant difference ( $P < 0,05$ ).

Table 2. Moisture content, total phenolic content, radical scavenging activity and ascorbic acid content of cereal bars<sup>1</sup>

Variation sources	Moisture (g/100g)		Total phenolic content (mg GAE/kg dm)		Radical scavenging activity (mg TEAA/kg dm)	
	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C
	Coating					
Control	9.80±0.13 <sup>c</sup>	9.64±0.20 <sup>c</sup>	1766.8±152.8 <sup>d</sup>	2283.2±198.8 <sup>c</sup>	1563.8±93.8 <sup>a</sup>	1528.4±98.8 <sup>a</sup>
SA	15.26±0.37 <sup>a</sup>	14.67±0.28 <sup>a</sup>	2046.3±91.3 <sup>c</sup>	2437.2±62.2 <sup>bc</sup>	1412.5±63.2 <sup>bc</sup>	1396.0±74.6 <sup>a</sup>
CMC	14.11±0.33 <sup>b</sup>	14.12±0.37 <sup>ab</sup>	2360.2±67.7 <sup>a</sup>	2635.8±69.7 <sup>a</sup>	1447.7±73.7 <sup>c</sup>	1528.3±55.1 <sup>a</sup>
WPI	13.75±0.39 <sup>b</sup>	13.45±0.43 <sup>b</sup>	2184.9±94.7 <sup>b</sup>	2520.9±129.3 <sup>ab</sup>	1497.5±64.8 <sup>ab</sup>	1475.7±62.2 <sup>a</sup>
Storage						
Initial	13.18±0.83 <sup>a</sup>	13.18±0.83 <sup>ab</sup>	2725.2±66.0 <sup>a</sup>	2725.2±66.0 <sup>a</sup>	1767.0±62.2 <sup>a</sup>	1767.0±62.2 <sup>a</sup>
1. Storage time	12.92±0.74 <sup>a</sup>	13.87±0.83 <sup>a</sup>	2161.0±56.6 <sup>b</sup>	2802.5±40.2 <sup>a</sup>	1680.8±49.6 <sup>a</sup>	1619.9±60.7 <sup>a</sup>
2. Storage time	13.10±0.97 <sup>a</sup>	13.40±0.81 <sup>a</sup>	2055.4±103.9 <sup>bc</sup>	2677.6±81.3 <sup>a</sup>	1669.6±23.7 <sup>a</sup>	1472.8±82.3 <sup>a</sup>
3. Storage time	13.43±0.90 <sup>a</sup>	13.10±0.81 <sup>ab</sup>	1969.5±111.9 <sup>c</sup>	2369.3±61.7 <sup>b</sup>	1330.3±30.4 <sup>b</sup>	1433.5±19.7 <sup>b</sup>
4. Storage time	13.57±0.95 <sup>a</sup>	12.04±0.77 <sup>b</sup>	1786.2±127.4 <sup>d</sup>	2430.6±122.2 <sup>b</sup>	1254.9±24.0 <sup>bc</sup>	1417.8±50.5 <sup>b</sup>
5. Storage time	13.18±0.82 <sup>a</sup>	12.21±0.86 <sup>b</sup>	1839.9±131.0 <sup>d</sup>	1810.4±202.2 <sup>c</sup>	1179.6±34.7 <sup>c</sup>	1181.8±97.6 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> Mean ± std error of 12 observations for coating and 8 observations for storage. Different letters in same column shows significant difference ( $P < 0,05$ ). Initial, 1, 2, 3, 4, 5, storage times represent 0, 14, 28, 42, 56 and 70 days of storage for 25 °C and 0, 7, 14, 21, 28 and 35 days of storage for 37 °C respectively.

The protein content of WPI coated bars was significantly higher than other samples. Since WPI as coating material was prepared at a higher concentration (10%) than other counterparts, this result was expected. However, this result also shows edible coating material constituted an important portion of the product. By edible coating of cereal bars with WPI, the nutritional value of the product was increased since WPI contains essential amino acids, minerals and proteins (Ha & Zemel, 2003). Additionally, coated bars contained lower content of ash compared to control samples. This result could be related to the reduction of the oat flake ratio in the product.

### Moisture content

The moisture content of cereal bars stored at two different temperatures was given in Table 2. The

bars with the highest moisture content were SA coated samples, and it was followed by CMC-coated, WPI-coated and control samples at both temperatures, respectively. No significant change in the moisture content of samples stored at 25 °C was observed. On the other hand, a considerable reduction was determined throughout the storage at 37 °C. As previously discussed, the reason for the lower moisture content of the control samples could be related to the higher initial moisture content of coated samples because of moisture diffusion during coating. Additionally, the resistance of coating materials to the moisture loss during the storage period may contribute to this result. Similarly, Albert and Mittal (2002) reported that coating grain products with WPI prevented water loss. Moreover, Rossi Marquez *et al.* (2014) found that WPI coating prevents moisture loss in

cooked foods. Oms-Oliu *et al.* (2008) stated polysaccharide-based coatings provides moisture balance in product during storage by increasing the water vapor resistance.

### **Total phenolic content and radical scavenging activity**

Changes in total phenolic content and radical scavenging activity during storage of cereal bars stored at 25 and 37 °C are given in Table 2. The highest total phenolic contents were found in the bars coated with CMC, followed by WPI coated and SA coated bars, at both temperatures. On the other hand, control samples have the lowest content of total phenolics. These results clearly show that edible coating has a protective effect on degradation/oxidation of phenolics. This protective effect of edible coating sourced from barrier properties of coating materials to oxidative factors such as light, oxygen and humidity (Fabra *et al.*, 2012). Indeed, it has been emphasized in many previous studies that WPI is an excellent oxygen barrier (Galus & Kadzińska, 2016; Vukić *et al.*, 2017). As expected, there was a significant reduction in the total phenolic content of bars during storage at both temperatures.

Radical scavenging activity of the bars was determined using DPPH inhibition method. Opposite to total phenolic content results, control samples had higher radical scavenging activity than those of coated bars at 25 °C. On the other hand, all treatments had statically similar radical scavenging activity at 37 °C. The higher radical scavenging activity of control bars, although low total phenolic content, could be related to higher non-enzymatic browning reactions that occurred in these samples. Indeed, some products of non-enzymatic browning reactions have high radical scavenging activity (Lee & Shibamoto, 2002). Among the coated samples stored at 25 °C, WPI coated bars had the highest radical scavenging activity. LE Tien *et al.* (2001) stated that the radical scavenging activity of WPI is quite high. Many studies have shown that WPI is a much better aroma and gas barrier than other polysaccharides used in the edible coating (Mahboobeb Kashiri *et al.*, 2017; Nuanmano *et al.*, 2015). WPI is thought to limit the losses of phenolics and radical

scavenging activity by preventing oxygen catalyzed reactions in the product. Antioxidant activity decreased during storage at both temperatures. This reduction is due to degradation or oxidation of components that are sensitive to environmental conditions (Kalt, 2005).

### **Color and browning index**

The average change in L\*, hue angle, chroma and browning index values of cereal bars stored at 25 and 37 °C is given in Table 3. The bars coated with WPI had the highest L\* value, and no significant differences were detected between the other samples at 25 °C. On the other hand, control and WPI coated bars had the highest L\* values at 37 °C. The coating with WPI may have increased the brightness of the product. L\* values of the bars coated with SA and CMC were statistically similar. There was a continuous reduction in L\* during the storage period at both temperatures. As expected, reduction of L\* value is faster at 37 °C compared to 25 °C. This reduction was expected since non-enzymatic browning reactions occurred during storage cause darkening of samples (Rhim & Hong, 2011). Koyuncu and Savran (2002) stated that WPI provides a bright surface to the product. Olivas and Barbosa-Cánovas (2005) concluded that edible coating limits the browning reactions by acting as a barrier in fresh-cut fruits and thus prolongs the storage time.

The hue angle values show a qualitative evaluation of food products, and 0 shows reddish and 90 shows yellowish color. The hue angle of the coated bars was similar and higher than the control samples at 25 °C (Pathare *et al.*, 2013). Interestingly, the hue angle of control samples was the highest (but statistically similar with WPI coated and SA coated samples) at 37 °C. This finding may be sourced from reactions in edible coating materials at high storage temperature. There was a decrease in the hue angle value at both storage temperatures during storage, probably due to non-enzymatic browning reactions. Similarly, changes in Hue angle of sliced red guava fruits coated with CMC was also reported in a previous study (Forato *et al.*, 2015).

Table 3. Colour and browning index of cereal bars<sup>1</sup>

Variation sources		L*		Hue angle		Chroma		Browning index	
		25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C
Coating	Control	55.71±0.50 <sup>b</sup>	54.35±0.58 <sup>a</sup>	78.13±0.32 <sup>b</sup>	78.48±0.31 <sup>a</sup>	18.47±0.22 <sup>a</sup>	18.58±0.37 <sup>b</sup>	45.96±0.57 <sup>a</sup>	45.19±0.89 <sup>c</sup>
	SA	55.45±0.49 <sup>b</sup>	51.99±0.93 <sup>b</sup>	79.56±0.19 <sup>a</sup>	77.72±0.58 <sup>ab</sup>	18.21±0.17 <sup>ab</sup>	18.59±0.35 <sup>b</sup>	44.72±0.70 <sup>a</sup>	49.95±1.53 <sup>b</sup>
	CMC	55.90±0.67 <sup>b</sup>	51.55±1.24 <sup>b</sup>	79.27±0.28 <sup>a</sup>	77.14±0.87 <sup>b</sup>	17.91±0.25 <sup>ab</sup>	17.41±0.17 <sup>c</sup>	44.09±0.92 <sup>a</sup>	47.74±2.14 <sup>bc</sup>
	WPI	58.04±0.74 <sup>a</sup>	54.14±1.07 <sup>a</sup>	79.81±0.29 <sup>a</sup>	78.56±0.47 <sup>a</sup>	17.81±0.38 <sup>b</sup>	21.27±0.48 <sup>a</sup>	40.82±0.86 <sup>b</sup>	55.81±2.78 <sup>a</sup>
Storage	Initial	58.08±1.00 <sup>a</sup>	58.08±1.00 <sup>a</sup>	79.91±0.48 <sup>a</sup>	80.00±0.48 <sup>a</sup>	18.81±0.37 <sup>a</sup>	18.81±0.37 <sup>a</sup>	41.78±0.79 <sup>b</sup>	41.78±0.79 <sup>c</sup>
	1. Storage time	57.68±0.71 <sup>a</sup>	54.97±0.46 <sup>b</sup>	79.37±0.30 <sup>ab</sup>	79.19±0.36 <sup>ab</sup>	18.59±0.11 <sup>a</sup>	18.77±0.39 <sup>a</sup>	42.90±0.71 <sup>ab</sup>	45.10±1.15 <sup>bc</sup>
	2. Storage time	56.65±0.60 <sup>ab</sup>	51.85±0.86 <sup>c</sup>	79.25±0.33 <sup>ab</sup>	78.40±0.39 <sup>bc</sup>	18.41±0.06 <sup>a</sup>	18.73±0.70 <sup>a</sup>	44.02±0.89 <sup>ab</sup>	48.41±2.49 <sup>bc</sup>
	3. Storage time	56.30±0.41 <sup>ab</sup>	50.88±0.73 <sup>c</sup>	79.22±0.37 <sup>ab</sup>	77.49±0.57 <sup>c</sup>	18.23±0.17 <sup>ab</sup>	19.12±0.65 <sup>a</sup>	43.95±0.83 <sup>ab</sup>	52.78±2.30 <sup>a</sup>
	4. Storage time	55.00±0.54 <sup>bc</sup>	51.68±0.74 <sup>c</sup>	78.79±0.40 <sup>ab</sup>	77.14±0.45 <sup>c</sup>	17.69±0.23 <sup>b</sup>	18.76±0.82 <sup>a</sup>	44.87±1.21 <sup>ab</sup>	53.90±2.40 <sup>a</sup>
	5. Storage time	53.94±0.55 <sup>c</sup>	50.59±1.15 <sup>c</sup>	78.63±0.44 <sup>b</sup>	75.64±0.91 <sup>d</sup>	16.86±0.35 <sup>c</sup>	19.58±0.99 <sup>a</sup>	45.87±1.78 <sup>a</sup>	56.09±2.91 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Mean  $\pm$  std error of 12 observations for coating and 8 observations for storage. Different letters in same column shows significant difference ( $P < 0.05$ ). Initial, 1, 2, 3, 4, 5, storage times represent 0, 14, 28, 42, 56 and 70 days of storage for 25 °C and 0, 7, 14, 21, 28 and 35 days of storage for 37 °C respectively.

Chroma (C\*), which ranges in 0 to 100, is considered as a quantitative attribute of color (Pathare *et al.*, 2013). Chroma values of the cereal bars were determined in a narrow range of 16.86-21.27 (Table 3). At 37 °C, WPI coated samples had higher chroma values and followed by control, SA coated, and CMC coated samples. While it was decreased throughout the storage at 25 °C, no significant change was observed at 37 °C. This distinctive result is mainly sourced from increasing chroma values of WPI coated samples during storage at 37 °C (data not shown). Therefore, it could be said that high storage temperature causes a reaction that increases the chroma of WPI.

When the browning index values of the bars stored at 37 °C were examined, it was determined that the highest browning index value belongs to the bars coated with WPI. This may be due to the promotion of non-enzymatic browning reactions by enrichment of bars with protein and high storage temperature. Many studies have shown that browning reactions accelerated with the increase in the amount of protein in sugary products (Broersen *et al.*, 2004; Jiang, 2013; Mesa *et al.*, 2008). On the other hand, the WPI coating of cereal bars provided the least browning index

values among the samples stored at 25 °C. Therefore, this study clearly shows that the effect of coating material on the browning index is highly dependent on storage temperature. According to the results of this study, WPI coating prevents browning reactions at room temperature while it promotes the browning reactions at higher storage temperatures. In a previous research on the mushroom coating with SA, coating prevented the browning reactions that occur during storage of product (Jiang, 2013). As expected, the browning index values at both storage temperatures increased due to browning reactions that occurred during the storage period (Rattanathanalerk *et al.*, 2005).

### Texture

Textural properties of cereal bars (hardness, resilience, cohesiveness, springiness and chewiness) are shown in Table 4. The bars coated with WPI had the highest hardness at both temperatures. On the contrary, CMC coated bars had the lowest hardness, which may be due to the softening of the product because of the interaction of cereal bars and CMC. According to the results, the most suitable film material which can be used to maintain the hardness value of cereal bars was determined as SA since the

hardness value of the bars were similar throughout the storage period. Similarly, in a previous study, it has been shown that coating sliced fuji apples with SA prevented softening of the product (Rojas-Graü *et al.*, 2008). In another study, it was determined that the changes in the hardness were prevented during storage of mushrooms coated with SA (Jiang, 2013). At both storage temperatures hardness of cereal bars gradually increased during the storage period. At the end of the storage period, 2.6 and 3.2-fold

increment of hardness was observed in comparison to initial values at 25 and 37 °C, respectively. This finding could be related to the hardening of the product due to moisture loss or tightening of the structure because of cohesive forces. Likewise, with the present study, the hardness of fruit bars coated with WPI increased during the storage period (Bilbao-Sainz *et al.*, 2018).

Table 4. Textural properties of cereal bars<sup>1</sup>

Variation sources	Hardness(N)		Resilience		Cohesiveness		Springiness		Chewiness(N,s)		
	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	25 °C	37 °C	
Coating	Control	100.06±14.23 <sup>bc</sup>	111.65±12.80 <sup>c</sup>	10.86±0.61 <sup>b</sup>	11.65±1.03 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>c</sup>	0.31±0.01 <sup>c</sup>	54.76±1.95 <sup>b</sup>	53.81±2.99 <sup>b</sup>	17.20±1.82 <sup>b</sup>	18.66±3.12 <sup>c</sup>
	SA	126.46±11.24 <sup>ab</sup>	150.98±19.40 <sup>b</sup>	16.33±0.88 <sup>a</sup>	17.30±1.00 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	58.74±1.28 <sup>ab</sup>	61.39±1.29 <sup>a</sup>	28.26±1.77 <sup>a</sup>	38.64±5.53 <sup>b</sup>
	CMC	76.07±10.73 <sup>c</sup>	74.24±10.28 <sup>c</sup>	11.26±0.63 <sup>b</sup>	12.62±0.95 <sup>b</sup>	0.35±0.01 <sup>b</sup>	0.36±0.01 <sup>b</sup>	56.89±1.36 <sup>ab</sup>	63.55±2.51 <sup>a</sup>	13.87±2.08 <sup>b</sup>	15.53±3.06 <sup>c</sup>
	WPI	142.55±15.43 <sup>a</sup>	203.15±28.19 <sup>a</sup>	16.15±0.79 <sup>a</sup>	19.68±1.63 <sup>a</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.43±0.02 <sup>a</sup>	62.36±2.75 <sup>a</sup>	62.84±2.77 <sup>a</sup>	31.27±3.08 <sup>a</sup>	54.48±7.76 <sup>a</sup>
Storage	Initial	64.58±7.83 <sup>d</sup>	64.58±7.84 <sup>c</sup>	10.87±0.85 <sup>c</sup>	10.87±0.85 <sup>d</sup>	0.33±0.02 <sup>c</sup>	0.33±0.02 <sup>c</sup>	53.49±3.03 <sup>a</sup>	53.49±3.03 <sup>b</sup>	12.96±2.45 <sup>b</sup>	12.96±2.45 <sup>c</sup>
	1. Storage time	86.80±10.93 <sup>cd</sup>	101.56±14.83 <sup>bc</sup>	12.15±0.96 <sup>bc</sup>	13.35±1.11 <sup>cd</sup>	0.35±0.01 <sup>bc</sup>	0.36±0.02 <sup>bc</sup>	57.79±0.81 <sup>a</sup>	55.98±2.99 <sup>b</sup>	17.43±2.73 <sup>b</sup>	23.10±4.94 <sup>bc</sup>
	2. Storage time	100.58±13.67 <sup>bcd</sup>	121.22±19.76 <sup>b</sup>	13.65±1.02 <sup>ab</sup>	14.59±1.33 <sup>bc</sup>	0.38±0.02 <sup>ab</sup>	0.38±0.02 <sup>bc</sup>	57.57±3.64 <sup>a</sup>	59.93±2.40 <sup>b</sup>	24.02±3.44 <sup>a</sup>	25.90±5.16 <sup>bc</sup>
	3. Storage time	120.22±17.29 <sup>bc</sup>	135.19±16.55 <sup>b</sup>	14.26±1.11 <sup>ab</sup>	15.35±1.57 <sup>bc</sup>	0.38±0.02 <sup>ab</sup>	0.39±0.02 <sup>ab</sup>	58.56±1.80 <sup>a</sup>	61.45±2.68 <sup>ab</sup>	25.43±4.25 <sup>a</sup>	32.18±6.88 <sup>bc</sup>
	4. Storage time	128.20±15.80 <sup>b</sup>	183.68±31.75 <sup>a</sup>	15.45±1.60 <sup>a</sup>	17.56±1.81 <sup>ab</sup>	0.39±0.02 <sup>a</sup>	0.39±0.02 <sup>ab</sup>	59.53±1.76 <sup>a</sup>	62.00±2.19 <sup>ab</sup>	27.51±2.79 <sup>a</sup>	44.72±9.64 <sup>a</sup>
	5. Storage time	167.33±18.11 <sup>a</sup>	203.81±38.58 <sup>a</sup>	15.52±1.40 <sup>a</sup>	20.14±2.37 <sup>a</sup>	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.42±0.02 <sup>a</sup>	62.18±2.54 <sup>a</sup>	69.51±3.60 <sup>a</sup>	28.55±3.90 <sup>a</sup>	52.12±11.24 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Mean ± std error of 12 observations for coating and 8 observations for storage. Different letters in same column shows significant difference ( $P < 0.05$ ). Initial. 1. 2. 3. 4. 5. storage times represent 0. 14. 28. 42. 56 and 70 days of storage for 25 °C and 0. 7. 14. 21. 28 and 35 days of storage for 37 °C respectively.

Two different groups were observed in the present study according to the resilience of samples. Resilience values of the bars coated with WPI and SA were similar and higher than those of other samples. There is an increase in the resilience value of cereal bars during storage. Mahboobeh Kashiri *et al.* (2016) reported that the films obtained from WPI had a positive effect on the texture because of improved mechanical strength. Additionally, alginate-based films increased mechanical resistance and improved the active properties of products due to their excellent colloidal properties (Dhanapal *et al.*, 2012).

The highest cohesiveness was determined in the bars coated with either WPI or SA at both temperatures. On the contrary, control samples had the lowest cohesiveness values. The higher

cohesiveness of the coated bars is related to the formed tight structure at the surface of the product and the adherence of coating materials to the product. An increase in cohesiveness occurred during storage at both temperatures probably due to increasing interactions of ingredients.

The springiness of coated bars was determined to be higher than control samples at both storage temperatures. Therefore, it can be claimed that the edible coating of bars has retained their textural properties. Calva-Estrada *et al.* (2019) reported that protein-based edible coating enhanced the texture of products and ensured the stable textural properties during storage. An increase, although statistically insignificant at 25 °C, was observed at both storage temperatures.

The bars coated with WPI had the highest chewiness values and followed by SA coated, control and CMC coated bar, respectively. These results were expected since the chewiness value is a function of hardness, springiness and cohesiveness (Gerçekaslan *et al.*, 2007). In a previous study on fresh-cut fruits, WPI coating maintained chewability and hardness of products during storage (Rossi Marquez *et al.*, 2017). As expected, chewiness value was 2,2 and 4,0-fold increased throughout the storage at 25 and 37 °C, respectively.

### CONCLUSION

In this study, the changes of physical and chemical properties of cereal bars during storage was tried to prevent or limit by the edible coating of product using different biopolymers (SA, CMC and WPI). Control and coated cereal bars were stored at two different temperatures (25 and 37 °C). The edible coating had a low impact on the chemical composition of cereal bars. It has been found that coated samples had significantly higher moisture content because of high initial moisture content and provided resistance to moisture loss. Edible coating of cereal bars provided higher content of total phenolics compare to control samples. However, radical scavenging activity of control bars was found to be higher than coated samples. This unexpected result could be related to the product of non-enzymatic browning reactions that have radical scavenging activity. According to the color result, coated samples had higher L\* values since biopolymers gave brightness to the product. It must be noted that the effectiveness of coating materials on color protection was depended on storage temperature. Indeed, WPI coated samples had the lowest browning index values at 25 °C, while those had the highest values at 37 °C. Coating of cereal bars with SA prevented the negative changes in the textural properties of the product during storage. Overall, the results showed that coating with SA limited undesirable changes in cereal bars during storage at room and elevated temperatures. However, additional studies using composite coatings of SA with lipophilic biopolymers such as beeswax, carnauba wax etc. are needed to improve the storage stability of cereal bars.

### ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Necmettin Erbakan University (Konya, Turkey) under grant number of BAP-181319013.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declared no conflict of interest.

### AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Vildan EYİZ – Data collection, literature review, writing the article

İsmail TONTUL – Idea/Concept, Supervision, critical review

Selman TÜRKER – Idea/Concept, Supervision, critical review

### REFERENCES

- AACC, C. (2000). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA: AACC.
- Albert, S., & Mittal, G. S. (2002). Comparative evaluation of edible coatings to reduce fat uptake in a deep-fried cereal product. *Food Res Int*, 35(5): 445-458.
- Bampi, G. B., Backes, G. T., Cansian, R. L., de Matos, F. E., Ansolin, I. M. A., Poletto, B. C., Corezzolla, L. T. & Favaro-Trindade, C. S. (2016). Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food Bioprocess Tech*, 9(8): 1422-1428.
- Bilbao-Sainz, C., Chiou, B. S., Punotai, K., Olson, D., Williams, T., Wood, D., Rodov, V., Poverenov, E. & McHugh, T. (2018). Layer-by-layer alginate and fungal chitosan based edible coatings applied to fruit bars. *J Food Sci*, 83(7): 1880-1887.
- Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *Food Res Int*, 15(3): 237-248.
- Bower, J. A., & Whitten, R. (2000). Sensory characteristics and consumer liking for cereal bar snack foods. *J Sens Stud*, 15(3): 327-345.
- Broersen, K., Voragen, A. G., Hamer, R. J., & de Jongh, H. H. (2004). Glycoforms of  $\beta$ -lactoglobulin with improved thermostability and

- preserved structural packing. *Biotechnol Bioeng*, 86(1): 78-87.
- Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., & Lugo-Cervantes, E. (2019). Protein-based films: advances in the development of biomaterials applicable to food packaging. *Food Eng Rev.*: 1-15.
- Chaturvedi, N., Sharma, P., Shukla, K., Singh, R., & Yadav, S. (2011). Cereals nutraceuticals, health ennoblement and diseases obviation: a comprehensive review. *J Appl Pharm Sci*, 1(7): 6-12.
- Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhini, G., & Banu, M. S. (2012). Edible films from polysaccharides. *Food Sci Qual Manag*, 3(0): 9.
- Dutcosky, S. D., Grossmann, M. V. E., Silva, R. S. S., & Welsch, A. K. (2006). Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. *Food Chem*, 98(4): 630-638.
- Fabra, M. J., Talens, P., Gavara, R., & Chiralt, A. (2012). Barrier properties of sodium caseinate films as affected by lipid composition and moisture content. *J Food Eng*, 109(3): 372-379.
- Forato, L. A., de Britto, D., de Rizzo, J. S., Gastaldi, T. A., & Assis, O. B. (2015). Effect of cashew gum-carboxymethylcellulose edible coatings in extending the shelf-life of fresh and cut guavas. *Food Packag Shelf Life*, 5: 68-74.
- Galus, S., & Kadzińska, J. (2016). Moisture sensitivity, optical, mechanical and structural properties of whey protein-based edible films incorporated with rapeseed oil. *Food Technol Biotechnol*, 54(1): 78-89.
- Gerçekaslan, K. E., Kotancılar, H. G., & Karaoğlu, M. M. (2007). Ekmek bayatlaması ve bayatlama derecesini ölçmede kullanılan yöntemler: I. *GIDA*, 32(6): 305-315.
- Ha, E., & Zemel, M. B. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *J Nutr Biochem*, 14(5): 251-258.
- Harper, J. M. (2019). Extrusion of foods: CRC press.
- Jiang, T. (2013). Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under a high oxygen modified atmosphere. *Postharvest Biol Tech*, 76: 91-97.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci*, 70(1): R11-R19.
- Kashiri, M., Cerisuelo, J. P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2016). Novel antimicrobial zein film for controlled release of lauroyl arginate (LAE). *Food Hydrocoll*, 61: 547-554.
- Kashiri, M., Cerisuelo, J. P., Domínguez, I., López-Carballo, G., Muriel-Gallet, V., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. (2017). Zein films and coatings as carriers and release systems of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil for antimicrobial food packaging. *Food Hydrocoll*, 70: 260-268.
- Keleş, F. (2002). Gıda ambalajlama ilkeleri: Atatürk üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları
- Koyuncu, M., & Savran, H. (2002). Yenilebilir kaplamalar. *Süleyman Demirel Üniv Fen Bilimleri Enst Derg*, 6(3): 73-83.
- LE Tien, C., Vachon, C., Mateescu, M.-A., & Lacroix, M. (2001). Milk protein coatings prevent oxidative browning of apples and potatoes. *J Food Sci*, 66(4): 512-516.
- Lee, K.-G., & Shibamoto, T. (2002). Toxicology and antioxidant activities of non-enzymatic browning reaction products. *Food Rev Int*, 18(2-3): 151-175.
- Mendes, N. d. S. R., Gomes-Ruffi, C. R., Lage, M. E., Becker, F. S., Melo, A. A. M. d., Silva, F. A. d., & Damiani, C. (2013). Oxidative stability of cereal bars made with fruit peels and baru nuts packaged in different types of packaging. *J Food Sci Technol*, 33(4): 730-736.
- Mesa, M. D., Silván, J. M., Olza, J., Gil, Á., & del Castillo, M. D. (2008). Antioxidant properties of soy protein-fructooligosaccharide glycation systems and its hydrolyzates. *Food Res Int*, 41(6): 606-615.

- Mridula, D., Singh, K. K., & Barnwal, P. (2013). Development of omega-3 rich energy bar with flaxseed. *J Food Sci Technol*, 50(5): 950-957.
- Nergiz, C., & Ötleş, S. (1993). Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chem*, 48(3): 259-261.
- Nuanmano, S., Prodpran, T., & Benjakul, S. (2015). Potential use of gelatin hydrolysate as plasticizer in fish myofibrillar protein film. *Food Hydrocoll*, 47: 61-68.
- Olivas, G., & Barbosa-Cánovas, G. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45(7-8): 657-670.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biol Tech*, 50(1): 87-94.
- Padmashree, A., Sharma, G. K., Srihari, K. A., & Bawa, A. S. (2012). Development of shelf stable protein rich composite cereal bar. *J Food Sci Technol*, 49(3): 335-341.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A.-J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food Bioprocess Tech*, 6(1): 36-60.
- Rattanathanalerk, M., Chiewchan, N., & Srichumpoung, W. (2005). Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *J Food Eng*, 66(2): 259-265.
- Rhim, J.-W., & Hong, S.-I. (2011). Effect of water activity and temperature on the color change of red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder. *Food Sci Biotechnol*, 20(1): 215-222.
- Rojas-Graü, M. A., Tapia, M. S., & Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT-Food Sci Technol* 41(1): 139-147.
- Rossi Marquez, G., Di Pierro, P., Esposito, M., Mariniello, L., & Porta, R. (2014). Application of transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin films as water barrier coatings in fried and baked foods. *Food Bioprocess Technol*, 7(2): 447-455.
- Rossi Marquez, G., Di Pierro, P., Mariniello, L., Esposito, M., Giosafatto, C. V. L., & Porta, R. (2017). Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT-Food Sci Technol*, 75: 124-130.
- Sun-Waterhouse, D., Teoh, A., Massarotto, C., Wibisono, R., & Wadhwa, S. (2010). Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. *Food Chem*, 119(4): 1369-1379.
- Tontul, I., & Topuz, A. (2017). Effects of different drying methods on the physicochemical properties of pomegranate leather (pestil). *LWT-Food Sci Technol*, 80: 294-303.
- Tontul, I., Topuz, A., Ozkan, C., & Karacan, M. (2016). Effect of vegetable proteins on physical characteristics of spray-dried tomato powders. *Food Sci Technol Int*, 22(6): 516-524.
- Torres, E., Castro, E., Santana, R., Cardoso, J., Soares, C. M. F., & Lima, Á. (2011). Cereal bar development using exotic fruit. Paper presented at the Proceedings of 11th ICEF Conference on Engineering and Food, Food Process Engineering in a Changing World, Athens, Greece.
- Vieira, M. G. A., da Silva, M. A., dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *Eur Polym J*, 47(3): 254-263.
- Vukić, M., Grujić, S., & Odzaković, B. (2017). Application of Edible Films and Coatings in Food Production. In E. Pellicer, D. Nikolic, J. Sort, M. Baró, F. Zivic, N. Grujovic, R. Grujic, & S. Pelemis (Eds.), *Advances in Applications of Industrial Biomaterials*, Cham: Springer International Publishing, 121-138.
- Williams, P.A., Phillips, G.O., Stephen, A.M. & Churms, S.C. (2006). Gums and mucilages. In: Stephen AM, Phillips GO, Williams PA, editors. *Food polysaccharides and their applications*, CRC Press Taylor and Francis Group, 455-495.
- Yang, L., & Paulson, A. (2000). Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Res Int*, 33(7): 571-578.



## GIDA KATKI MADDELERİNİN MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ

**Hatice Merve Bayram, S. Arda Öztürkcan\***

İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Geliş / Received: 17.05.2020; Kabul / Accepted: 17.09.2020; Online baskı / Published online: 30.09.2020

Bayram, H.M., Öztürkcan, S.A. (2020). Gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisi. *GIDA* (2020) 45(5) 1030-1046 doi: 10.15237/gida.GD20070

Bayram, H.M., Öztürkcan, S.A. (2020). Effects of food additives on microbiota. *GIDA* (2020) 45(5) 1030-1046 doi: 10.15237/gida.GD20070

### ÖZ

Mikrobiyota, mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak ifade edilmektedir ve bağırsak mikrobiyotası doğum ile birlikte değişmeye ve gelişmeye başlamaktadır. Beslenme, bakteriler için gerekli besinleri sağlayarak, mikro çevrelerini değiştirerek ve kompozisyonları ile fonksiyonlarını modüle ederek mikrobiyota üzerine etkiler gösterebilmektedir. 20. yüzyılın başlarından beri insanların diyetlerinde önemli değişiklikler görülmeye başlanmış olup özellikle işlenmiş gıdalara yönelmeleri sonucu tüm bu vb. gıdalara eklenen katkı maddelerinin tüketimleri artış göstermiştir. Karbonhidratlar, yağlar, proteinler ve fitokimyasallar gibi bazı diyet bileşenlerinin mikrobiyota üzerine etkisi değerlendirilmiştir fakat gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisi belirsizliğini korumaktadır. Günümüzde birçok gıda katkı maddesi için belirlenmiş üst limitler olsa da sağlığı olumsuz yönde etkileyebileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle mikrobiyota üzerine etkisini kapsamlı bir şekilde değerlendirerek toplumu bilinçlendirmek önem arz etmektedir. Bu derlemenin amacı gıda katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini inceleyen literatürde bulunan çalışmaları 3 grup halinde (tatlandırıcılar, emülsifyerler ve diğer katkı maddeleri olarak) bir araya toplayıp güncel yaklaşımlar ile kapsamlı bir şekilde değerlendirmektir.

**Anahtar kelimeler:** Gıda katkı maddeleri, mikrobiyota, yapay tatlandırıcılar, emülsifyerler

## EFFECTS OF FOOD ADDITIVES ON MICROBIOTA

### ABSTRACT

Microbiota is expressed as the community of microorganisms and intestinal microbiota begins to change and develop with birth. Nutrition can affect the microbiota by providing the necessary nutrients for bacteria, changing the microenvironment and modulating the composition and functions of bacteria. Since the early 20th century, important changes have been seen in the diets, especially consumption of processed foods began popular hence consumptions of food additives, added to almost all these foods, have increased. The effects of some dietary components such as carbohydrates, fats, proteins and phytochemicals on microbiota have been evaluated but the effect of food additives on microbiota is still uncertain. Today, although there are upper limits for many food additives, studies suggesting that they may affect health negatively. Therefore, it is important to raise awareness of the society by comprehensively evaluating their effect on microbiota. The aim of this review is to collect the studies, determining the effects of food additives on gut microbiota in 3 groups (as sweeteners, emulsifiers and other additives) and to evaluate them comprehensively with current approaches.

**Keywords:** Food additives, microbiota, sweeteners, emulsifiers

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉: sozturkcan@gelisim.edu.tr,

☎: (+90) 212 422 70 00/400

☎: (+90) 212 422 74 01

Hatice Merve Bayram; ORCID no: 0000-0002-7073-2907

S. Arda Öztürkcan; ORCID no: 0000-0001-7982-6988



## GİRİŞ

İnsanların gastrointestinal sistemlerinde vücutlarındaki somatik hücre sayısından yaklaşık 10 kat daha fazla mikroorganizma (yaklaşık 100 trilyon) bulunmaktadır (Cani ve Everard, 2016). Yaklaşık 1000 farklı tür içeren bağırsak mikrobiyotasında temel olarak en çok bulunanlar; *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria* ve *Actinobacteria* türleridir (Viennois ve Chassaing, 2018). Büyük ve karmaşık mikroorganizma popülasyonuna sahip bağırsak mikrobiyotası insanlarda sağlık ve hastalığa katkıda bulunur ve bazen "unutulmuş organ" olarak adlandırılır (Clemente vd., 2012). Ayrıca insan bağırsak mikrobiyotası, insan genomunda bulunan genlerin 150 katından fazla gen bulundurmasının (Wang vd., 2017) yanı sıra fazla sayıda biyoaktif bileşen içerdiği için; bağırsak epitelinin bütünlüğünün korunmasına, hücre-hücre bağlantılarının korunmasına, yaralanma sonrası epitel onarımının teşvik edilmesine ve enterositlerin devir hızının düzenlenmesine de katkıda bulunur (Saad vd., 2012).

Mikrobiyotanın doğum sırasında (vajinal ya da fekal mikroflora yoluyla) değişmeye başlamasının yanı sıra, bileşimi ve işlevleri, yaşa, cinsiyete, ırka, beslenme alışkanlıklarına, ilaç kullanımına ve çevresel faktörlere göre farklılık göstermektedir (Sekirov vd., 2010; Wang vd., 2017). Bu faktörler arasında yer alan beslenme, direkt veya indirekt olarak mikrobiyotayı etkiler ve bakteriler için gerekli besinleri sağlayarak, bakterilerin mikro çevresini değiştirerek ve bakterilerin kompozisyonu ile fonksiyonlarını modüle ederek bu etkilerini gösterebilmektedir (Biesiekierski vd., 2019; Le Roy vd., 2019; Schoeler ve Caesar, 2019; Zmora vd., 2019).

Diyet bileşenleri mikrobiyota bariyerinin koruyucu fonksiyonlarını ve konakçı-mikrobiyom dengesini bozabilir ve disbiyozise neden olarak inflamatuvar süreçlere katkıda bulunabilir (Zmora vd., 2019). 20. yüzyılın başlarından beri insanların diyetlerinde önemli değişiklikler görülmeye başlanmış ve özellikle işlenmiş gıdalara yönelmeleri sonucu hemen hemen tüm işlenmiş gıdalara eklenen gıda katkı maddeleri tüketimleri artış göstermiştir (Chassaing vd., 2015).

Karbonhidratlar, yağlar, proteinler ve fitokimyasallar gibi bazı diyet bileşenlerinin mikrobiyota üzerine etkisi değerlendirilmiştir fakat gıda katkı maddelerinin etkisine dair bir netlik bulunmamaktadır. Artan işlenmiş gıda tüketimi sonucu artan gıda katkı maddeleri tüketiminin de mikrobiyotayı etkileyebileceği düşünülmektedir fakat bu konuda yapılan insan çalışmaları oldukça sınırlıdır (Roca-Saavedra vd., 2018). Bu derlemenin amacı gıda katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini inceleyen literatürde bulunan çalışmaları 3 grup halinde (tatlandırıcılar, emülsifiyerler ve diğer katkı maddeleri olarak) bir araya toplayıp güncel yaklaşımlar ile kapsamlı bir şekilde değerlendirmektir.

## TATLANDIRICI OLARAK KULLANILAN GIDA KATKI MADDELERİNİN MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ

Tatlandırıcılar, aşırı miktarda enerji alımından kaçınarak yiyecek ve içeceklerin lezzetini artırmak için kullanılan önemli şeker ikameleridir. Bazı çalışmalar, tatlandırıcıların vücut ağırlığı kaybında olumlu rol göstererek potansiyel bir vücut ağırlığı yönetimi aracı olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Bellisle vd., 2007; Husøy vd., 2008). Bununla birlikte bazı çalışmalar, tatlandırıcıların insan vücudunda aktif bir metabolik role sahip olduğunu ve glukoz intoleransını indükleyerek obezite ve metabolik sendroma neden olarak insan metabolizmasını bozabileceğini göstermiştir (Dhingra vd., 2007; Suez vd., 2014). Bağırsak mikrobiyotası üzerine etkisi en çok çalışılan grubu tatlandırıcılar oluşturmaktadır.

### Sakkarin

İlk keşfedilen yapay tatlandırıcı olan sakkarin 1878 yılında bulunmuştur ve 1981 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (Özdemir vd., 2014). Sükrozdan 300-500 kat daha tatlı olup, özellikle diyabetik hastalar için en önemli ve yaygın kullanılan tatlandırıcıdır (Özdemir vd., 2014; Amin vd., 2016). Günlük kabul edilebilir değeri (ADI) 5 mg/kg doz şeklindedir (Cao vd., 2020). Sakkarin ne kadar güvenli olarak kabul edilse de olumsuz etkisi gösterilen çalışmalar mevcuttur. Örneğin bazı çalışmalar yüksek miktarlarda tüketiminin

inflatuar yanıtı artırabileceğini düşündürmektedir (Gong vd., 2016; Zhao vd., 2018; Kim vd., 2020). Başka bir çalışma, sakkarin tüketimi ile obeziteye yol açan glukoz intoleransı ve diyabet gibi metabolik sendromlar arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Foletto vd., 2016). Ayrıca, mesane kanseri ve diğer kanser vakaları ile ilişkili olduğu da gösterildiğinden, tüketiciler risklerinin ve yararlarının farkında olmalıdır (Amin vd., 2016). Kullanım yaygınlığı en yüksek olan sakkarin, mikrobiyota üzerine etkisi en çok çalışılan grubu oluşturmaktadır.

*İn vitro* bir çalışmada, %2,5 sodyum sakkarin takviyesinin 20 saat sonunda *Lactobacillus* ve *Escherichia coli* (*E. coli*) türlerini azalttığı bildirilmiştir (Naim vd., 1985). Farelere 10 gün boyunca %7,5 sodyum sakkarin takviyesi verildiğinde aerobik bakterilerde artış olduğunu gözlenmiştir (Anderson ve Kirkland, 1980). Başka bir çalışmada %5 ya da %7,5 sakkarin takviyesinin farelerde propiyonat, bütirat ve valerat seviyelerini azalttığı rapor edilmiştir (Anderson, 1985). Farelere 20 hafta süresince 50 g sakkarin takviyesi, 20. haftada toplam bakteri sayısını hem takviye verilmeyen hem de takviye verilen grupta artırmış, amonyak konsantrasyonu ise sakkarin verilen grupta %30-50 oranında artmıştır. Bu durumun bakteriyel enzim aktivitelerini azalttığı gözlenmiştir (Mallett, vd., 1985). Yine farelere 40 gün %7,5 sakkarin takviyesi sonucu triptofanın metabolitleri olan indikan ve p-kresolün idrarla günlük atım miktarında 3-4 kat artış gösterdiği rapor edilmiştir. Çalışmada da belirtildiği üzere protein metabolizması bağırsak florasını değiştirmiştir (Lawrie vd., 1985). Domuzlar üzerinde yapılan bir çalışmada, domuzlara 2 hafta %0,015 sakkarin ve neohesperidin dihidrokalkon takviyesinin hem fekal *Lactobacillus* miktarında, hem de bağırsak lümeninde laktik asit konsantrasyonlarında artış gösterdiği saptanmıştır (Daly vd., 2014). Domuzlarda yapılan bir diğer çalışmada ise aynı süre ve dozda sakkarin ve neohesperidin dihidrokalkon takviyesi, benzer olarak *Lactobacillus* popülasyonunda oldukça yüksek bir artışa yol açmıştır (Daly vd., 2016). Farelere 11 hafta boyunca suda çözünmüş 0,1 mg/ml sakkarin, sükraloz veya aspartam takviyesi verilen başka bir çalışmada, sakkarin alan grupta

*Bacteroidetes* ve bazı *Clostridium* türleri ile glikan bozunma ürünlerinde artış gözlemlenmiştir. Yüksek seviyelerde bulunan glikan bozunma ürünlerinin, konakçı için enerji kaynağı veya glukoneogenez, liponeogenez ve kolesterol sentezi için sinyal molekülleri veya substratları olarak işlev görebileceği saptanmıştır (Suez vd., 2015). Yine farelere 6 ay suda çözünmüş 0,3 mg/ml sakkarin takviyesinin, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) aktivitelerini ve lipopolisakkaritler (LPS) ile bakteriyel toksinler gibi patojene bağlı moleküllerde artış sağlayan bakteri türlerinin sayılarını arttığı gösterilmiştir (Bian vd., 2017c). Farklı olarak, farelere 17 hafta %0,3 sodyum sakkarin ve sodyum siklamat içeren yoğurt takviyesi mikrobiyotayı önemli ölçüde etkilememiştir (Falcon vd., 2020). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise 1 hafta sakkarin tüketimi sonrası bazı bireylerde glukoz intoleransı görülmüş olup; bu kişilerin fekal mikrobiyotası mikropsuz farelere nakledildiğinde, *Weissella* ve *Bacteroides fragilis* sayılarında artış, göreceli olarak *Candidatus Athromitus* sayılarında ise azalma olmuştur. Ek olarak, fekal transplantasyonu yapılan bireylerde transplantasyon sonrası önemli glukoz intoleransı gözlenmiştir (Suez vd., 2014).

### Aspartam

Aspartam 1965 yılında keşfedilmiş olup, 1981 yılında FDA tarafından onay almıştır (Özdemir vd., 2014). Sükrozdan 180-200 kat daha tatlı olan aspartam, fenilalaninin karboksil ucunun metile edildiği fenilalanin ve aspartik asitten oluşan bir dipeptittir (Özbek ve Yentür, 1993; Ruiz-Ojeda vd., 2019). ADI değeri 40 mg/kg dozdur (Cao vd., 2020). Yapılan çalışmalar yüksek doz tüketiminin organların fonksiyonunu bozarak oksidatif strese neden olabileceğini ve hücre zarı bütünlüğüne zarar verebileceğini hatta kansere kadar götürebileceğini ortaya koymuştur (Ardalan vd., 2017; Choudhary ve Pretorius, 2017; Ali vd., 2019). Özellikle, aspartam diyabet, baş ağrısı, nöbetler, depresyon, artrit vb. tıbbi durumların alevlenmesi ile bağlantılıdır (John, 2016). Diyabetli bireylerde tüketimi önerilmemektedir çünkü diyabette yapay tatlandırıcıların kullanımının diyabetin komplikasyonlarında kötüleşme ve obezite ile ilişkili sorunlara neden

olabilecekleri gösterilmiştir (Imamura vd., 2015; Temizkan vd., 2015; Santos vd., 2018).

Aspartamın mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır. Farelere 8 hafta boyunca 5-7 mg/kg günlük doz aspartam takviyesi, *Clostridium leptum* ve *Enterobacteriaceae* sayılarında artışa yol açmış ve aynı zamanda aspartam alımı, kısa zincirli yağ asidi olan propiyonat ve glukoneogenezin dolaşım seviyesini arttırmış ki bunun da hiperglisemi ve insülin toleransına yol açabileceği gösterilmiştir (Palrnäs vd., 2014). Başka bir çalışmada besin tüketim sıklığı formu kullanılarak insanların tatlandırıcı tüketimini saptamışlar ve tatlandırıcı tüketimi olan kişilerde *Enterobacteriaceae*, *Deltaproteobacteria* ve *Actinobacteria* popülasyonlarında artış saptanmıştır (Suez vd., 2014). Ayrıca, insanlar üzerinde yapılan bir diğer çalışmada, insanlara 4 gün boyunca 5,3 mg ile 112 mg günlük doz aspartam ve 1,7 mg ile 33,2 mg günlük doz asesülfam potasyum verilmiş ve iki grup arasında ortalama bakteri sayılarında anlamlı bir fark görülmemiş olup, *Bacteroidetesin Firmicutes* oranının değişmediği tespit edilmiştir (Frankenfeld vd., 2015).

### Asesülfam-potasyum (Ace-K)

1967 yılında keşfedilmiş olup 1988 yılında FDA tarafından onaylanan Ace-K, sükrozdan 200 kat daha tatlı olan asidik bir siklik sülfonamid türevidir (Özdemir vd., 2014). ADI değeri 15 mg/kg dozdur (Cao vd., 2020). Ace-K'nin genotoksik olduğu ve bağırsak bakterileri tarafından glukoz fermantasyonunu inhibe edebileceği düşünülmektedir (Bandyopadhyay vd., 2008). Yapılan bir çalışmada da Ace-K alımı DNA hasarını artırmıştır (Fındıklı ve Türkoğlu, 2014).

Ace-K tatlandırıcısının mikrobiyota üzerine etkisini değerlendirmek üzere yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Örneğin, 4 hafta boyunca farelerde 37,5 g günlük doz Ace-K takviyesi sonrası, erkek farelerin vücut ağırlığında ve *Bacteroidetes*, *Sutterella* ve *Anaerostipes* sayılarında önemli ölçüde artış görülmüştür. Dişi farelerde ise vücut ağırlığında önemli bir değişiklik olmazken, 2-oleotrigliserit, süksinik asit ve D-laktik asit gibi birçok bakteriyel metabolitte azalma gözlenmiştir.

*Oxalobacteraceae*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ve *Ruminococcaceae* azalırken, *Mucispirillum* türlerinde artış görülmüştür. Ek olarak, Ace-K'ya maruz kalan dişi farelerde LPS sentezinde yer alan genlerin ekspresyonu da artmıştır (Bian vd., 2017b). Başka bir çalışmada ise farelere 8 hafta 15 mg/kg günlük doz sükraloz veya Ace-K takviyesi sonucu Ace-K'nin bağırsak mikrobiyotasını değiştirmediği sonucuna varılmıştır (Uebanso vd., 2017).

### Sükraloz (splenda)

1976 yılında keşfedilmiş olan sükraloz, 1999 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (Özdemir vd., 2014). Sükroza göre 320-1000 kat daha tatlı olan sükraloz, klorlu bir disakkarittir. ADI değeri 15 mg/kg doz şeklindedir (Cao vd., 2020). Sükraloz tüketiminin glukoz intoleransını artırdığını gösteren çalışmalar mevcut olsa da (Pepino vd., 2013; Pepino vd., 2018) etkisi olmadığı da gösterilmiştir (Grotz vd., 2017). Güncel bir derleme sükraloz tüketiminin sağlık üzerine etkisini değerlendirmiş ve çalışmalar arasında farklılık saptamıştır. Bu nedenle tüketiminin fayda-zarar bağlamında değerlendirilmesi kesin değildir (Ahmad vd., 2020).

Sükralozun mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmalara bakıldığında; farelere 3 gün %20'lik sükraloz ya da sorbitol takviyesi sonucu, sorbitol takviyesi toplam aerobik veya anaerobik bakteri, aerobik *Streptococcus* ve maya sayısında önemli bir değişikliğe yol açmamışken, sükraloz tüketimi dışındaki toplam aerobik ve anaerobik bakterileri azaltmıştır (Salminen vd., 1986). Başka bir çalışmada, farelere 12 hafta boyunca oral gavaj yoluyla 100, 300, 500 veya 1000 mg/kg günlük doz splenda takviyesi yapılmış ve *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ile *Bacteroidetes* türlerinde yüksek sayıda azalma ve *Enterobacteriaceae* sayılarında daha az seviyede bir azalma olduğunu bildirilmiştir (Abou-Donia vd., 2008). Farelere 8 hafta 15 mg/kg günlük doz sükraloz ve Ace-K takviyesi sonucu sükralozla beslenen farelerde *Clostridium Cluster XIVa* sayılarında azalma gözlenmiştir (Uebanso vd., 2017). Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, 6 ay boyunca 0,1 ml/1 sükraloz

takviyesi sonucu; 3 ay sonunda, *Ruminococcus*, *Bacillales*, *Peptostreptococcaceae*, *Staphylococcus* ve *Anaerostipes* popülasyonları azalırken; 6 ay sonunda, *Christensenellaceae*, *Clostridiaceae*, *Akkermansia*, *Roseburia* ve *Turicibacter* popülasyonları artmış; *Erysipelotrichaceae*, *Dehalobacterium*, *Streptococcus* ve *Ruminococcus* popülasyonlarında azalma gösterilmiştir (Bian vd., 2017a). Farelere doz artışı yapılarak, ilk 6 hafta 1,08 mg/ml, sonraki 6 hafta 3,5 mg/ml ve diğer 6 hafta 35 mg/ml splenda takviyesi verilen bir çalışmada, ateroskleroz oluşumunda rolü olan myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesinde artış olduğunu görülmüştür. Ayrıca splenda, tüm farelerde *Proteobacteria* sayılarının artışını sağlayarak disbiyozise yol açmıştır (Rodriguez-Palacios vd., 2018). Yine farelerde 8 hafta boyunca suda çözünmüş %2,5 sükraloza takviyesi sonucu mikrobiyotada *Firmicutes* türlerinde artış görüldüğü rapor edilmiştir (Wang vd., 2018). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise, 34 sağlıklı erkek iki gruba ayrılmış ve bir gruba 7 gün boyunca, 780 mg günlük doz sükraloza içeren kapsül takviyesi diğerine plasebo verilmiştir. İnsülin yanıtına göre sınıflama yapıldığında, sükraloza içeren kapsül takviyesi, insülin yanıtı düşük olan bireylerde *Bacteroidetes* sayılarında artış, *Firmicutes* sayılarında azalmaya yol açmıştır (Thomson vd., 2019).

### Diğer tatlandırıcılar

Neotam, şekerden 7000 ile 13.000 kat daha tatlı olan, kimyasal olarak aspartama benzeyen bir tatlandırıcıdır (Fitch ve Keim, 2012) ve 2002 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (Özdemir vd., 2014). Neotamın ADI değeri 2 mg/kg şeklindedir (Cao vd., 2020). Çalışmalara göre neotamın glukoz intoleransı üzerine olumsuz bir etkisi görülmemiştir (Mayhew vd., 2003; Sanyaolu vd., 2019). Mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmada, farelere 4 hafta boyunca günlük 0,75 mg/kg günlük doz neotam takviyesi sonucu, farelerde *Bacteroidetes* sayılarında artış görülürken, *Firmicutes* sayılarında önemli bir azalma gözlenmiştir. Neotam ile beslenen farelerde on iki bakteri türünün popülasyonunda artış olmuş ve neotam tüketmeyen gruba göre, *Ruminococcaceae* ve *Lachnospiraceae* üyeleri olan *Ruminococcus*, *Oscillospira*, *Dorea* ve *Blautia* bakteri

popülasyonlarında önemli bir azalma olduğunu bildirilmiştir (Chi vd., 2018).

Stevia, şekerden 250 kat daha tatlı olup, 2008 yılında FDA tarafından onaylanmıştır ve besinlerin içerik listelerinde rebiana, rebaudiozit A/reb A, steviosid veya steviol glikozitler olarak da bilinmektedir (Özdemir vd., 2014). Stevianın vücut ağırlığı yönetimi, diyabet ve iştah kontrolündeki rolü hakkında sınırlı sayıda araştırma mevcuttur (Serrano ve Riebl, 2019). Mikrobiyota üzerine etkisini değerlendirmek için yapılan *in vitro* bir çalışmada, 1 mg/ml steviosid ve rebaudiozit A takviyesi, insan bağırsak mikrobiyotası bileşiminde önemli bir değişikliğe yol açmamıştır; bununla birlikte, steviosidin toplam aerobik bakteriler üzerinde hafif bir inhibe edici etkiye sahip olduğu görülürken, rebaudiozit A'nın toplam aerobik bakteriler ve koliformların çoğalmasını etkilediği gösterilmiştir (Gardana vd., 2003). Başka bir *in vitro* çalışmada ise 40 mg sodyum siklamat, sükraloza, sodyum sakkarin ve steviol tozu mikroorganizma sayısını  $10^9$  genom/ml'ye, steviol ve esmer şeker, steviol kapsülü ve beyaz şeker takviyesi ise  $10^8$  genom/ml'ye düşürmüştür. Ayrıca *Bacteroidetes-Prevotella-Porphyrromonas* grupları steviol kapsül tüketimi ile azalmıştır. Sodyum sakkarin, steviol tozu ve kapsülü ile steviol ve esmer şeker takviyesi *Firmicutes* türlerini artırmış, sodyum siklamat, sükraloza ve beyaz şeker tüketimi ise azaltmıştır (Vamanu vd., 2019).

Yukarıdaki çalışmalar incelendiğinde, hayvan modellerinde gıda katkı maddelerinin tüketiminin disbiyozise yol açabileceği gösterilmiştir. Tatlandırıcılar ile yapılmış çalışmalarda genellikle anaerobik bakterilerde artış görülmüştür (Anderson ve Kirkland, 1980; Gardana vd., 2003; Palmnäs vd., 2014; Suez vd., 2015; Bian vd., 2017b). Özellikle *Bacteroidetes*, *Clostridium leptum*, *Lactobacillus* türleri artış gösteren bakteri grupları iken, tam tersini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Naim vd., 1985; Abou-Donia vd., 2008; Daly vd., 2014). Yapılan çalışmalar farklı hayvan modelleri üzerinde olduğu için farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir. Yine tatlandırıcılar, proinflamatuar etki gösteren biyobelirteçleri de etkilemektedirler (Mallett vd., 1985; Bian vd., 2017c). İnsanlarda

sakkarin tüketimi, tüm katılımcılarda olmasa da bazılarında glukoz homeostazını bozmuştur (Suez vd., 2014). Yine bir diğer çalışmada hayvan çalışmalarına benzer olarak *Bacteroidetes* seviyelerinde artış, *Firmicutes* seviyelerinde azalma meydana gelmiştir (Thomson vd., 2019).

Mikrobiyota üzerine etkileri genellikle hayvan modelleri ile sınırlı kalsa da çalışmaların çoğunda tatlandırıcıların doku ve organları olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. Çizelge 1’de tatlandırıcıların mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özetlerini verilmiştir.

Çizelge 1. Tatlandırıcıların mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özetleri

Çalışma grubu	Kullanılan GKM, süresi ve dozu	Sonuçlar	Kaynak
<i>In vitro</i>	20 saat, %2,5 sodyum sakkarin	<i>Lactobacillus</i> ve <i>E. coli</i> popülasyonlarında azalma	Naim vd., 1985
<i>In vitro</i>	1 mg/ml steviosid ve rebaudiozit A	Steviosid toplam aerobik bakterilerde az düzeyde azalma, rebaudiozit A toplam aerobik ve koliformların miktarında artış	Gardana vd., 2003
<i>In vitro</i>	40 mg sodyum siklamat, sükraloze, sodyum sakkarin, steviol tozu, steviol ve esmer şeker, steviol kapsül, beyaz şeker	Steviol kapsül, <i>Bacteroidetes-Prevotella-Porphyrromonas</i> türlerinde azalma; sodyum sakkarin, steviol tozu ve kapsülü ile steviol ve esmer şeker, <i>Firmicutes</i> türlerinde artış; sodyum siklamat, sükraloze ve beyaz şeker <i>Firmicutes</i> türlerinde azalma	Vamanu vd., 2019
Fare	10 gün, %7,5 sakkarin	Aerobik bakterilerde artış	Anderson ve Kirkland, 1980
Fare	%5 ve %7,5 sakkarin	Propiyonat, bütirat ve valerat seviyelerinde azalma	Anderson, 1985
Fare	20 hafta, 50 g sakkarin	%30-50 oranında amonyak konsantrasyonunda ve bakteriyel enzim aktivitelere azalma	Mallets vd., 1985
Fare	40 gün, %7,5 sakkarin	İndikan ve p-kresolün idrarla günlük atılımında 3-4 kat artış	Lawrie vd., 1985
Fare	3 gün, %20 sorbitol ya da sükröz	Sorbitol tüketimi bakteriler üzerinde önemli bir değişiklik göstermemiş, sükröz tüketimi dışındaki toplam aerob ve anaerob sayılarında azalma	Salminen vd., 1986
Fare	12 hafta, 100, 300, 500 veya 1000 mg/kg splenda	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> ile <i>Bacteroidetes</i> türlerinde yüksek, <i>Enterobacteriaceae</i> türlerinde daha az seviyede bir azalma	Abou-Donia vd., 2008
Fare	8 hafta, 5-7 mg/kg/gün aspartam	<i>Enterobacteriaceae</i> ve <i>Clostridium leptum</i> sayılarında artış	Palrnäs vd., 2014
Domuz	2 hafta, %0,015 sakkarin ve neohesperidin dihidrokalkon	Fekal <i>Lactobacillus</i> miktarında ve bağırsak lümeninde laktik asit konsantrasyonlarında artış	Daly vd., 2014
Fare	11 hafta, 0,1 mg/ml sodyum sakkarin, sükraloze veya aspartam	Sodyum sakkarin tüketimi <i>Bacteroidetes</i> ve bazı <i>Clostridium</i> türlerinde artış	Suez vd., 2015
Domuz	2 hafta, %0,015 sakkarin ve neohesperidin dihidrokalkon	<i>Lactobacillus</i> popülasyonunda oldukça yüksek bir artış	Daly vd., 2016
Fare	6 ay, 0,1 ml/l sükraloze	3 ay sonunda, <i>Ruminococcus</i> , <i>Bacillales</i> , <i>Peptostreptococcaceae</i> , <i>Staphylococcus</i> ve <i>Anaerostipes</i> popülasyonlarında azalma; 6 ay sonunda, <i>Christensenellaceae</i> , <i>Clostridiaceae</i> , <i>Akkermania</i> , <i>Roseburia</i> ve <i>Turicibacter</i> popülasyonlarında artış; <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Dehalobacterium</i> , <i>Streptococcus</i> ve <i>Ruminococcus</i> sayılarında azalma	Bian vd., 2017a

Fare	4 hafta, 37,5 g/gün Ace-K	Erkek farelerde <i>Bacteroidetes</i> , <i>Sutterella</i> ve <i>Anaerostipes</i> sayılarında artış; dişi farelerde <i>Oxalobacteraceae</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> ve <i>Ruminococcaceae</i> azalma ile <i>Mucispirillum</i> sayılarında artış	Bian vd., 2017b
Fare	6 ay, 0,3 mg/ml sakkarin	iNOS ve TNF- $\alpha$ aktivitelerinde ile LPS'lerde artış	Bian vd., 2017c
Fare	8 hafta, 15 mg/kg sükraloza ya da Ace-K	Ace-K tüketimi bağırsak mikrobiyotasını değiştirmemiş, sükraloza tüketimi <i>Clostridium Cluster XIVa</i> sayılarında azalma	Uebanso vd., 2017
Fare	Art arda gelen 6 hafta, 1,08, 3,5 ve 35 mg/ml splenda	MPO aktivitesinde ve <i>Proteobacteria</i> sayılarında artış	Rodriguez-Palacios vd., 2018
Fare	8 hafta, %2,5 sükraloza	<i>Firmicutes</i> popülasyonunda artış	Wang vd., 2018
Fare	4 hafta, 0,75 mg/kg/gün neotam	<i>Bacteroidetes</i> sayılarında artış, <i>Firmicutes</i> sayılarında azalma	Chi vd., 2018
Fare	17 hafta, % 0,3 sodyum sakkarin ve sodyum siklamat içeren yoğurt	Mikrobiyotada önemli bir değişikliğe yol açmamıştır	Falcon vd., 2020
İnsan	Besin tüketim sıklığı ile tatlandırıcı tüketim durumu	Tatlandırıcı tüketimi ile <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Deltaproteobacteria</i> ve <i>Actinobacteria</i> popülasyonlarında artış	Suez vd., 2014
İnsan	4 gün, 5,3-112 mg/gün aspartam ve 1,7-33,2 mg/gün Ace-K	Aspartam ve Ace-K tüketimi <i>Bacteroidetes</i> ve <i>Firmicutes</i> oranını etkilemedi	Frankenfeld vd., 2015
İnsan	7 gün, 780 mg/gün sükraloza içeren kapsül	İnsülin yanıtı düşük olan bireylerde <i>Bacteroidetes</i> seviyelerinde artış ve <i>Firmicutes</i> seviyelerinde azalma	Thomson vd., 2019

GKM: gıda katkı maddesi, mg: miligram, ml: mililitre, kg: kilogram, l:litre, Ace-K: Asesülfam potasyum, iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentaz, TNF- $\alpha$ : tümör nekroz faktör- $\alpha$ , LPS: lipopolisakarit, MPO: myeloperoksidaz

### EMÜLSİFİYER OLARAK KULLANILAN GIDA KATKI MADDELERİN MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİSİ

Emülsifiyerler gıdanın dokusunu ve tadını iyileştirmeye, ürün stabilitesini artırmaya ve raf ömrünü uzatmaya yardımcı olarak kullanılan gıda katkı maddeleridir (Halmos vd., 2019). Bazı emülsiyonlaştırıcılar, gıdalarda doğal olarak bulunur ve diğerleri, karboksimetil selüloz (CMC) ve polisorbat 80 (P80) gibi doğal olarak oluşan bileşiklerden sentezlenir. Son yıllarda, artan çalışmalar gıda emülsiyonlaştırıcılarının bağırsak mikrobiyotasını etkileyebileceğini, göstermiştir (Swidsinski vd., 2009; Chassaing vd., 2015; Chassaing vd., 2017; Singh vd., 2016; Viennois vd., 2017; Furuhashi vd., 2020).

#### Karboksi metil selüloz (CMC)

CMC, kloroasetik asit ve alkali ile işlenmiş odun hamurundan elde edilen bir selüloz türevidir (Cao vd., 2020). CMC'nin toksik olmadığı düşünülmektedir fakat bir fare çalışmasında ön ayak kavrama gücü ile ölçülen motor

dayanıklılığını olumsuz yönde etkilemiştir (Isa vd., 2019). İnsanlarda toksisitesiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmadığı için etkileri belirsizdir. Mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmalara bakıldığında CMC'nin doku ve organları olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülebilir (Swidsinski vd., 2009; Viennois vd., 2017). Farelere 3 hafta boyunca %2'lik CMC çözeltisi takviyesi verilmesi sonucu, bağırsak mukozasında daha fazla sayıda bakteri büyümesi gözlenmiş ve bakterilerin lieberkühn kriptalarının (ince bağırsak ekzokrin bez tipleri) aşağısına doğru göçe başladıklarını bildirilmiştir (Swidsinski vd., 2009). Başka bir çalışmada ise farelere 13 hafta boyunca %1'lik CMC veya P80 takviyesi verilmiş ve 13 hafta sonunda *Flagellin* popülasyonu ile LPS'lerde artış gösterilmiştir. Bu çalışma, CMC'nin proliferasyon ve apoptoz arasındaki dengeyi değiştirdiğini, kolonda pro-inflamatuvar bir ortam oluşturduğunu ve bunu koruduğunu, böylece karsinogenezi teşvik ettiğini öne sürmüştür (Viennois vd., 2017).

**Polisorbat 80 (P80)**

P80, polietoksillenmiş sorbitan ve oleik asitten türetilen bir emülgatördür. P80 için ADI değeri 25mg/kg şeklindedir (Cao vd., 2020). İnsanlarda tek başına P80 verilmesi sonucu sağlık üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmalara bakıldığında; *in vitro* bir çalışmada %0,1, %0,25, %0,5 ve %1'lik bir nihai konsantrasyonda CMC veya P80 takviyesinin pro-inflamatuar olan bioaktif *Flagellin* seviyelerinde artış gösterdiği rapor edilmiştir (Chassaing vd., 2017). Farelere 12 hafta boyunca suda çözülmüş %1'lik CMC veya P80 takviyesi ise 12 hafta sonunda düşük dereceli inflamasyon ve obezite ya da metabolik sendromun gelişmesinde artışa yol açmıştır. Ayrıca 12 haftanın sonunda, P80 alımının farelerdeki toplam dışkı bakterileri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüş fakat P80 bağırsak mukus kalınlığını azaltarak, bakteriler ve epitel hücreler arasındaki teması artırmış ve bağırsak adezyon florası ve dışkı bakteri kompozisyonunda değişikliklere neden olmuştur. P80 ayrıca bağırsak geçirgenliğinin, LPS'lerin ve *Flagellin* seviyelerinin artışına yol açmıştır (Chassaing vd., 2015). Başka bir çalışmada 4 hafta, %1'lik P80 takviyesi alan farelerde, Gram pozitif bakterilerin sayısında önemli ölçüde artış meydana gelmiş ve bağırsaktaki bakteri metabolitlerinin enterohepatik dolaşımı yoluyla non alkolik yağlı karaciğer hastalığına yol açtığını bulunmuştur. *Bacteroidetes* popülasyonunun azalması dışında, *Salmonella* spp. *Helicobacter*, *Clostridium*, *Campylobacter jejuni* ve *Porphyromonadaceae* popülasyonları da artış göstermiştir. Ayrıca P80 alan gruptaki farelerin kolon ve dışkılarında yüksek Lipokalin 2 (LCN2) seviyeleri, artmış bağırsak geçirgenliği ve kronik bağırsak iltihabı ile ilişkili artmış *Flagellin* ve LPS seviyeleri gösterilmiştir (Singh vd., 2016). Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise 8 hafta %1'lik P80 takviyesi,  $\gamma$ -proteobakteri sayılarını artırmış ve ince bağırsakta  $\alpha$  bakteri çeşitliliğini azaltmıştır. Kolonda ise  $\alpha$  çeşitliliğinde bir azalma gözlenmemiştir. Ayrıca P80 takviyesi, indometasin kaynaklı ince bağırsak lezyonlarının şiddetini artırmış ve İnterlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ) ekspresyonunda da artış sağlamıştır. *Proteus*

*mirabilis* ve *E. Coli* popülasyonunda artış meydana gelmiştir (Furuhashi vd., 2020).

Literatürde, mikrobiyota üzerine etkisi en çok değerlendirilen ikinci grupta yer alan emülsifiyer gıda katkı maddeleri ile yapılan çalışmaların sonuçları, gıda katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotasını doğrudan değiştirebileceği, hücre proliferasyonu ve apoptozun sinyal yollarını etkileyebileceği ve bağırsak iltihaplanması ile bozulmuş metabolik homeostaza yol açabileceğini göstermiştir (Swidsinski vd., 2009; Chassaing vd., 2015; Furuhashi vd., 2020). Özellikle LPS ve *Flagellin* seviyelerinde artışa yol açarak bu etkilerini göstermektedirler (Chassaing vd., 2015; Singh vd., 2016; Chassaing vd., 2017; Viennois vd., 2017). Bu grupta yapılan çalışmalar fare modelleri ile sınırlı kalmıştır ve insanlar üzerinde yapılan bir çalışmaya rastlanmaması insan bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini değerlendirme konusunda belirsizliğini korumaktadır. Çizelge 2'de emülsifiyer olarak kullanılan gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özetleri verilmiştir.

**DİĞER GIDA KATKI MADDELERİNİN MİKROBİTOYA ÜZERİNE ETKİSİ****Benzoik asit (BA)**

BA (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>), benzen halkasına doğrudan bağlı bir karboksilik grup ile en basit aromatik karboksilik asittir (Öztürkcan ve Acar, 2017; Del Olmo vd., 2017). Gıdalarda yaygın olarak kullanılan BA ve tuzları antimikrobiyal amaçla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, asit formuna göre BA tuzları daha fazla kullanılır, çünkü BA tuzlarının sudaki çözünürlükleri yüksektir (Öztürkcan ve Acar, 2017). BA ve tuzları orofasiyal granülomatozisin (yüzde, ağız ve çevresinde granülasyon yapan bir grup hastalık) alevlenmesi ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle kronik uygulamalarda, kronik inflammatuar hastalıklardan etkilenen hastalar için benzoat içermeyen diyet önerilmektedir (Campbell vd., 2011). BA ayrıca sindirim mukoza zarında tahrişe neden olabilir ve ADI değerinden daha yüksek dozlarda alınması (yani art arda beş gün boyunca 1000 mg/kg) bulantı, baş ağrısı, yemek borusu yanması ve sindirim kullanım katsayısının azalmasına neden olabilir (Iammarino vd., 2011).

Çizelge 2. Emülsifiyerlerin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özeti

Çalışma grubu	Kullanılan GKM, süresi ve dozu	Sonuçlar	Kaynak
<i>In vitro</i>	%0,1 %0,25, %0,5 ve %1 P80	Tüm dozlarda <i>Flagellin</i> seviyelerinde artış	Chassaing vd., 2017
Fare	3 hafta, %2 CMC	Bağırsak mukozasında daha fazla sayıda bakteri artışı	Swidsinski vd., 2009
Fare	12 hafta, %1 CMC ya da P80	P80 tüketenlerde bağırsak geçirgenliği, LPS ve <i>Flagellin</i> seviyelerinde artış	Chassaing vd., 2015
Fare	4 hafta, %1 P80	<i>Bacteroidetes</i> ’lerde azalma, <i>Salmonella</i> spp., <i>Helicobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Porphyromonadaceae</i> , <i>Flagellin</i> ve LPS’de artış	Singh vd., 2016
Fare	13 hafta, %1 CMC ya da P80	CMC tüketenlerde <i>Flagellin</i> popülasyonu ile LPS’lerde artış	Viennos vd., 2017
Fare	8 hafta %1 P80	$\gamma$ -proteobakteri’lerde artış, ince bağırsakta $\alpha$ bakteri çeşitliliğinde azalma, <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>E.coli</i> popülasyonunda artış	Furuhashi vd., 2020

GKM: gıda katkı maddesi, CMC: karboksimetil selüloz, P80: polisorbata 80, LPS: lipopolisakarit

Domuzlara 35 gün 5 ve 10 g/kg günlük doz BA ya da 12 g/kg günlük doz potasyum diformat takviyesi, bakteri sayısında azalmaya yol açmıştır. Midede toplam aerobik, anaerobik, laktik asit oluşturan ve Gram negatif bakteri sayıları; duodenumda Gram negatif bakteri sayısını ve ileumda doza bağlı bir şekilde toplam aerobik bakteri sayısını azalttığı bildirilmiştir (Kluge vd., 2006). Tavuklarda yapılan bir çalışmada, 42 gün boyunca 2,5, 5 ve 7,5 g/kg günlük doz BA takviyesi sonucu, her grupta laktik asit bakteri sayılarında artış görülürken, bu artış 7,5 g/kg günlük doz alanlarda daha yüksek olmuştur (Józefiak vd., 2010). Domuzlara 2 hafta 5 g/kg günlük doz BA ile 0, 40, 80 g/kg günlük doz inülin takviyesi sonucu bakteri çeşitliliğinde artış saptanmış ve sadece BA alan grupta laktik asit seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Halas vd., 2010). Domuzlara 42 gün boyunca 5000 mg/kg günlük doz BA takviyesi sonucu ise bağırsaklarda *Bifidobacterium* ve *Bacillus* sayılarında artış gözlenirken, *E.coli* sayılarında azalma görülmüştür (Diao vd., 2014). Yine domuzlarda yapılan başka bir çalışmada domuzlar 4 gruba ayırılmışlardır: 1. grup kontrol diyeti ile beslenen grup, 2. grup kontrol + 1000 mg/kg BA + 100 mg/kg timol, 3. grup kontrol + 1000 mg/kg BA + 200 mg/kg timol ve 4. grup kontrol + 2000 mg/kg BA + 100 mg/kg timol takviyesi almıştır. Özellikle 3. grupta daha yüksek olmak üzere tüm BA ve timol

takviyesi alan gruplarda *Lactobacillus* spp. seviyeleri ile yine tüm gruplarda benzer oranda *Bacillus* spp. seviyelerinde artış meydana gelmiştir. Ayrıca 3. grupta yüksek oranda bütirik asit seviyesi gözlenmiştir (Diao vd., 2015).

Yine antimikrobiyal amaçla kullanılan diğer gıda katkı maddeleri olan sodyum benzoat, sodyum nitrat ve potasyum sorbatın da mikrobiyota üzerine etkilerini değerlendiren Hrncirova ve ark. tarafından yapılmış çalışmalar mevcuttur (Hrncirova vd., 2019a; Hrncirova vd., 2019b). *In vitro* olarak 1 mg/ml sodyum benzoat, sodyum nitrat, potasyum sorbat takviyesi sonucu, *Clostridium tyrobutyricum* veya *Lactobacillus paracasei* gibi bilinen anti-inflamatuar özelliklere sahip bağırsak bakterilerinin, *Bacteroides thetaiotaomicron* veya *Enterococcus faecalis* gibi bilinen pro-inflamatuar veya kolitojenik özelliklere sahip bakterilerden bu katkı maddelerine daha duyarlı olduklarını göstermişlerdir (Hrncirova vd., 2019a). Farelere sodyum benzoat (4,8 mg/kg/gün), sodyum nitrit (0,36 mg/kg/gün) ve potasyum sorbat (19 mg/kg/gün) takviyesi sonucu bağırsak mikrobiyal çeşitliliğinin azalma ile özellikle bu durum *Clostridiales* sayılarının azalmasına ve *Proteobacteria* sayılarının artmasına yol açmıştır (Hrncirova vd., 2019b).



Görüldüğü üzere antimikrobiyal amaçla kullanılan gıda katkı maddelerinden olan BA ile sodyum nitrat ve potasyum sorbatın mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların sonuçları oldukça çelişkilidir. Bu grupta ki çalışmaların da çoğu benzer şekilde anaerobik bakterilerde artış ve laktik asit oluşturan bakterilerde azalma gösterirken (Kluge vd., 2006; Halas vd., 2010; Irwin vd., 2017; Hrcirova vd., 2019a), tersini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Józefiak vd., 2007; Diao vd., 2015). Ayrıca bu konuda yapılmış insan çalışmasına rastlanmaması, antimikrobiyal olarak kullanılan gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkinliğini değerlendirmeyi kısıtlamaktadır.

### Monosodyum glutamat (MSG)

MSG lezzet artırıcı olarak ev yemekleri ile ticari ürünlerde en yaygın kullanılan gıda katkı maddelerinden biridir (Lindemann vd., 2002; Öztürkcan ve Acar, 2017). MSG'nin ADI değeri 30 mg/kg doz şeklindedir (Lindemann vd., 2002). MSG'nin toksik etkileri olarak obezite ve metabolik sendrom gibi kronik hastalıklara yol açabileceğine dair yaygın bir inanç bulunmaktadır (Niaz vd., 2018; Peng vd., 2018). Bu doğrultuda yapılan bazı çalışmalar MSG'nin doku ve organları olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (Ortiz vd., 2006; Matysková vd., 2008; Eweka vd., 2010).

Domuzlarda yapılan bir çalışmada, MSG ya da yüksek yağlı diyet tüketiminin mikrobiyota üzerindeki etkileri incelenmiş ve hem MSG hem de yüksek yağ tüketimi, gastrointestinal sistemde enerji ekstraksiyonu ile ilgili bakterilerin farklı yollarla kolonizasyonlarını artırmıştır. MSG, *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Roseburia* türlerinin popülasyonunu artırırken, yüksek yağ kolon ve diğer bağırsak segmentlerinde *Prevotella* popülasyonunu artırmıştır (Feng vd., 2015). İnsanlarda 2 g günlük doz MSG takviyesinin etkisini değerlendirilen bir çalışmada, 4 hafta sonunda MSG takviyesinin mikrobiyota yapısı ve fonksiyonunu önemli derecede etkilemediği bulunmuştur (Peng vd., 2018).

Umami tad olarak değerlendirilen ve artık hemen herkesin bildiği MSG'nin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmalar kullanım

yaygınlığının tersine oldukça sınırlı olup, çelişkili sonuçlara rastlanmıştır (Feng vd., 2015; Peng vd., 2018). Çalışmaların farklı modeller üzerinde yürütülmesi ve az sayıda olmaları nedeniyle konunun aydınlatılabilmesi adına daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

### Sülfid

Sülfid genellikle gıdalarda mikrobiyal büyümeyi inhibe etmek ve rengi korumak için kullanılır. ADI değeri 0,7 mg/kg doz şeklindedir (Öztürkcan ve Acar, 2017; Cao vd., 2020). Bazı bireylerde sülfid içeren gıdaların ya da içeceklerin sindirilmesi, sülfür dioksitin solunması ve sülfid içeren ilaçların tedavi amacıyla kullanılması sonucunda, hayatı tehdit eden birçok tepkime olabilmektedir (Öztürkcan ve Acar, 2017). Mikrobiyota üzerine etkisini değerlendirmek için *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada 10-3780 mg/kg 6 saatlik sülfid takviyesi sonucu, 250-500 mg/kg'da bakteri sayılarında azalma, 1000-3780 mg/kg'da *Lactobacillus* türleri üzerinde bakterisidal etkiler ve 6 saatlik maruziyetten sonra da 2000 mg/kg'da *Streptococcus thermophilus* üzerinde bakterisidal etkiler tespit edilmiştir (Irwin vd., 2017). Bununla birlikte, gerçek bağırsak ortamı daha karmaşıktır, bu nedenle sülfidin bağırsak mikrobiyomu üzerindeki spesifik etkilerini doğrulamak için başka hayvan deneylerine veya insanlar üzerinde yapılacak klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

### Titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>)

TiO<sub>2</sub>, genellikle renklendirici olarak gıdalara eklenen bir gıda katkı maddesidir (Piget vd., 2019). Emilimi çok düşük miktarlarda olduğu için ADI değeri bulunmamaktadır (Hwang vd., 2019). TiO<sub>2</sub> tüketiminin toksik etkileri olarak, oksidatif stresi ve inflamasyonu artırdığı, ayrıca genotoksik etkiler sergileyebileceğini gösterilmiştir (Piget vd., 2019; Baranowska-Wójcik vd., 2020). TiO<sub>2</sub> tüketiminin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmada farelere 4 hafta 0, 2, 10 ve 50 mg günlük doz TiO<sub>2</sub> takviyesi sonucu, tüm dozlarda *Lactobacillus* ve *Allobaculum* türleri artmış; 50 mg dozunda ise *Parabacteroides* türlerinde artış meydana gelmiştir. Ayrıca *Adlercreutzia* ve sınıflandırılmamış *Clostridiaceae* türleri 10 ve 50 mg TiO<sub>2</sub> takviyesi ile önemli

düzeyde azalmıştır (Pinget vd., 2019). Çalışma sonuçları TiO<sub>2</sub>'nin mikrobiyotayı olumsuz yönde etkilediğini gösterse de bu konu ile ilgili yapılan ilk ve güncel tarihli bir çalışma olmasından ötürü

etkinliğini doğrulamak adına daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Çizelge 3'te diğer gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özeti verilmiştir.

Çizelge 3. Diğer gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların özetleri

Çalışma grubu	Kullanılan süresi ve dozu	GKM,	Sonuçlar	Kaynak
<i>In vitro</i>	6 saat, 10-3780 mg/kg sülfat		250-500 mg/kg'da bakteri sayılarında azalma ile 1000-3780 mg/kg'da <i>Lactobacillus</i> türlerinde bakterisidal etkiler; 6 saatlik maruziyetten sonra da 2000 mg/kg'da <i>Streptococcus thermophilus</i> üzerinde bakterisidal etkiler	Irwin vd., 2017
<i>In vitro</i>	1 mg/ml sodyum benzoat, sodyum nitrat ve potasyum sorbat		Anti-inflamatuvar bakterilerde artmış duyarlılık	Hrncirava vd., 2019a
Domuz	35 gün, 5 ve 10 g/kg BA ya da 12 g/kg potasyum diformat		Midede toplam aerobik, anaerobik, laktik asit oluşturan ve Gram negatif bakteri sayılarında azalma; duodenumda Gram negatif bakteri sayısını ve ileumda doza bağlı bir şekilde toplam aerobik bakteri sayısında azalma	Kluge vd., 2006
Tavuk	42 gün, 2,5, 5 ve 7,5 g/kg BA		Doza bağlı olarak laktik asit bakteri sayılarında artış	Józefiak vd., 2007
Domuz	2 hafta 5 g/kg BA ile 0, 40, 80 g/kg inülin		Bakteri çeşitliğinde artış gösterilmiş olup, sadece BA alan grupta laktik asit seviyelerinde azalma	Halas vd., 2010
Domuz	42 gün, 5000 mg/kg BA		<i>Bifidobacterium</i> ve <i>Bacillus</i> sayılarında artış, <i>E.coli</i> sayılarında azalma	Diao vd., 2014
Domuz	42 gün, 1000 ve 2000 mg/kg BA ile 100 ve 200 mg/kg timol		1000 mg/kg BA+200 mg/kg timol alan grupta daha yüksek olmak üzere tüm BA ve timol takviyesi alan gruplarda <i>Lactobacillus</i> spp. ve tüm gruplarda <i>Bacillus</i> spp. seviyelerinde artış ile 1000 mg/kg BA+200 mg/kg timol alan grupta bütirik asit seviyelerinde artış	Diao vd., 2015
Domuz	30 gün, diyet yağ oranının %3'ü kadar MSG		<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ve <i>Roseburia</i> popülasyonlarında artış	Feng vd., 2015
Fare	8 mg/kg/gün sodyum benzoat, 0,36 mg/kg/gün sodyum nitrit ve 19 mg/kg/gün potasyum sorbat		<i>Clostridiales</i> sayılarında azalma ve <i>Proteobacteria</i> sayılarında artış	Hrncirava vd., 2019b
Fare	3 hafta, 0, 2, 10 ve 50 mg/gün TiO <sub>2</sub>		Tüm dozlar <i>Lactobacillus</i> ve <i>Allobaculum</i> türleri; 50 mg dozu TiO <sub>2</sub> <i>Parabacteroides</i> türlerinde artış; 10 ve 50 mg dozları <i>Adlercreutzia</i> ve sınıflandırılmamış <i>Clostridiaceae</i> türlerinde azalma	Pinget vd., 2019
İnsan	4 hafta, 2g/gün MSG		Mikrobiyota yapısı ve fonksiyonunu önemli derecede etkilenmemiştir	Peng vd., 2018

GKM: gıda katkı maddesi, BA: benzoik asit, mg: miligram, ml: mililitre, g:gram, kg: kilogram, TiO<sub>2</sub>: titanyum dioksit, MSG: monosodyum glutamat

**SONUÇ**

Sonuç olarak, gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisini değerlendiren çalışmaların büyük çoğunluğunu hayvan çalışmaları oluşturmaktadır. Bilindiği üzere farklı hayvan modellerinde bağırsak mikrobiyota bileşimi ile bazı besinlerin metabolize olduğu bölgeler insanlardan farklılık gösterir. Yapılan çalışmalara göre, gıda katkı maddelerinin büyük oranda disbiyozise yol açtığı görülürken, insanlarda etkileri hala belirsizliğini korumaktadır. İnsanlarda yapılacak randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır fakat bireysel farklılıklar ve uzun süreli alışılmış beslenme alışkanlıkları da göz önüne alındığında bu çalışmaların oldukça titizlikle planlanması ve bu konunun aydınlatılması gerekmektedir.

**ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI**

Yazarların, başka kişiler ve/veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**YAZAR KATKILARI**

HMB ve SAÖ derlemeyi planlayarak, yazma, inceleme ve düzenleme aşamalarında katkı sağlamışlardır. HMB ve SAÖ makalenin son halini okumuş ve onaylamıştır.

**KAYNAKLAR**

Abou-Donia, M.B., El-Masry, E.M., Abdel-Rahman, A.A., McLendon, R.E., Schiffman, S.S. (2008). Splenda alters gut microflora and increases intestinal p-glycoprotein and cytochrome p-450 in male rats. *J Toxicol Environ Health Part A*, 71(21): 1415-1429, doi:10.1080/15287390802328630.

Ahmad, S.Y., Friel, J.K., Mackay, D.S. (2020). Effect of sucralose and aspartame on glucose metabolism and gut hormones. *Nutr Rev*, 78(9): 725-746, doi:10.1093/nutrit/nuz099.

Ali, W.A.-G., Mohammed, S.A., Abdullah, E.M., ElDeen, E.M.S. (2019). Aspartame: basic information for toxicologists. *Sobag Medical Journal*, 23(2): 47-51, doi:10.21608/SMJ.2019.46212.

Amin, K. A., Al-Muzafar, H.M., Elstar, A.H.A. (2016). Effect of sweetener and flavoring agent on oxidative indices, liver and kidney function levels in rats. *Indian J Exp Biol*, 54(1): 56-63.

Anderson, R., Kirkland, J.J. (1980). The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora. *Food Cosmet Toxicol*, 18(4): 353-355, doi: 10.1016/0015-6264(80)90188-1.

Anderson, R.L. (1985). Some changes in gastrointestinal metabolism and in the urine and bladders of rats in response to sodium saccharin ingestion. *Food Chem Toxicol*, 23(4-5): 457-463, doi:10.1016/0278-6915(85)90140-1.

Ardalan, M.R., Tabibi, H., Attari, V.E., Mahdavi, A.M. (2017). Nephrotoxic effect of aspartame as an artificial sweetener: a brief review. *Iran J Kidney Dis*, 11(5): 339.

Bandyopadhyay, A., Ghoshal, S., Mukherjee, A. (2008). Genotoxicity testing of low-calorie sweeteners: aspartame, acesulfame-K, and saccharin. *Drug Chem Toxicol*, 31(4): 447-457, doi: 10.1080/01480540802390270.

Baranowska-Wójcik, E., Szwajgier, D., Oleszczuk, P., Winiarska-Mieczan, A. (2020). Effects of titanium dioxide nanoparticles exposure on human health—a review. *Biol Trace Elem Res*, 193: 118-129, doi: 10.1007/s12011-019-01706-6.

Bellisle, F., Drewnowski, A. (2007). Intense sweeteners, energy intake and the control of body weight. *Eur J Clin Nutr*, 61(6): 691-700, doi: 10.1038/sj.ejcn.1602649.

Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., Lu, K. (2017a). Gut microbiome response to sucralose and its potential role in inducing liver inflammation in mice. *Front Physiol*, 24(8): 487, doi: 10.3389/fphys.2017.00487.

Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., Lu, K. (2017b). The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body weight gain in CD-1 mice. *PLoS One*, 12(6): e0178426, doi: 10.1371/journal.pone.0178426.

Bian, X., Tu, P., Chi, L., Gao, B., Ru, H., Lu, K. (2017c). Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food Chem Toxicol*, 107: 530-539, doi: 10.1016/j.fct.2017.04.045.

Biesiekierski, J. R., Jalanka, J., Staudacher, H. M. (2019). Can gut microbiota composition predict

- response to dietary treatments? *Nutrients*, 11(5): 1134, doi: 10.3390/nu11051134.
- Campbell, H.E., Escudier, M.P., Patel, P., Challacombe, S.J., Sanderson, J.D., Lomer, M.C. (2011). Cinnamon-and benzoate-free diet as a primary treatment for orofacial granulomatosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 34(7): 687-701, doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04792.x.
- Cani, P. D., Everard, A. (2016). Talking microbes: when gut bacteria interact with diet and host organs. *Mol Nutr Food Res*, 60(1): 58-66, doi: 10.1002/mnfr.201500406.
- Cao, Y., Liu, H., Qin, N., Ren, X., Zhu, B., Xia, X. (2020). Impact of food additives on the composition and function of gut microbiota: a review. *Trends Food Sci Technol*, 99: 295-310, doi: 10.1016/j.tifs.2020.03.006.
- Chassaing, B., Koren, O., Goodrich, J.K., Poole, A.C., Srinivasan, S., Ley, R.E., Gewirtz, A.T. (2015). Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature*, 519(7541): 92-96, doi: 10.1038/nature14232.
- Chassaing, B., Van de Wiele, T., De Bodt, J., Marzorati, M., Gewirtz, A.T. (2017). Dietary emulsifiers directly alter human microbiota composition and gene expression ex vivo potentiating intestinal inflammation. *Gut*, 66(8): 1414-1427, doi:10.1136/gutjnl-2016-313099.
- Chi, L., Bian, X., Gao, B., Tu, P., Lai, Y., Ru, H., Lu, K. (2018). Effects of the artificial sweetener neotame on the gut microbiome and fecal metabolites in mice. *Molecules*, 23(2): 367, doi: 10.3390/molecules23020367.
- Choudhary, A.K., Pretorius, E. (2017). Revisiting the safety of aspartame. *Nutr Rev*, 75(9): 718-730, doi: 10.1093/nutrit/nux035.
- Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6): 1258-1270, doi:10.1016/j.cell.2012.01.035.
- Daly, K., Darby, A.C., Hall, N., Nau, A., Bravo, D., Shirazi-Beechey, S.P. (2014). Dietary supplementation with lactose or artificial sweetener enhances swine gut *Lactobacillus* population abundance. *Br J Nutr*, 111(S1): 30-35, doi: 10.1017/S0007114513002274.
- Daly, K., Darby, A.C., Hall, N., Wilkinson, M.C., Pongchaikul, P., Bravo, D., Shirazi-Beechey, S.P. (2016). Bacterial sensing underlies artificial sweetener-induced growth of gut *Lactobacillus*. *Environ Microbiol*, 18(7): 2159-2171, doi: 10.1111/1462-2920.12942.
- Del Olmo, A., Calzada, J., Nuñez, M. (2017). Benzoic acid and its derivatives as naturally occurring compounds in foods and as additives: uses, exposure, and controversy. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57(14): 3084-3103, doi:10.1080/10408398.2015.1087964.
- Dhingra, R., Sullivan, L., Jacques, P.F., Wang, T.J., Fox, C.S., Meigs, J.B., D'Agostino, R.B., Gaziano, J.M., Vasan, R.S. (2007). Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation*, 116(5): 480-488, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.689935.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X., Yu, J., Chen, D. (2015). Effects of benzoic acid and thymol on growth performance and gut characteristics of weaned piglets. *Asian-Australas J Anim Sci*, 28(6): 827-839, doi: 10.5713/ajas.14.0704.
- Diao, H., Zheng, P., Yu, B., He, J., Mao, X., Yu, J., Chen, D. (2014). Effects of dietary supplementation with benzoic acid on intestinal morphological structure and microflora in weaned piglets. *Livest Sci*, 167: 249-256, doi: 10.1016/j.livsci.2014.05.029.
- Eweka, A.O., Eweka, A., Om'iniabohs, F.A. (2010). Histological studies of the effects of monosodium glutamate of the fallopian tubes of adult female wistar rats. *N Am J Med Sci*, 2(3): 146-149, doi: 10.4297/najms.2010.3146.
- Falcon, T., Foletto, K.C., Siebert, M., Pinto, D.E., Andrades, M., Bertoluci, M.C. (2020). Metabarcoding reveals that a non-nutritive sweetener and sucrose yield similar gut microbiota patterns in wistar rats. *Genet Mol Biol*, 43(1): e20190028, doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0028.

- Feng, Z.M., Li, T.J., Wu, L., Xiao, D.F., Blachier, F., Yin, Y.L. (2015). Monosodium L-glutamate and dietary fat differently modify the composition of the intestinal microbiota in growing pigs. *Obesity facts*, 8(2): 87-100, doi: 10.1159/000380889.
- Fındıklı, Z., Türkoğlu, Ş. (2014). Determination of the effects of some artificial sweeteners on human peripheral lymphocytes using the comet assay. *J Toxicol Environ Health Sci*, 6(8): 147-153, doi: 10.5897/JTEHS2014.0313.
- Fitch, C., Keim, K.S. (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Acad Nutr Diet*, 112(5): 739-758, doi: 10.1016/j.jand.2012.03.009
- Foletto, K.C., Melo Batista, B.A., Neves, A.M., de Matos Feijó, F., Ballard, C.R., Marques Ribeiro, M.F., Bertoluci, M.C. (2016). Sweet taste of saccharin induces weight gain without increasing caloric intake, not related to insulin-resistance in wistar rats. *Appetite*, 96: 604-610, doi: 10.1016/j.appet.2015.11.003.
- Frankenfeld, C.L., Sikaroodi, M., Lamb, E., Shoemaker, S., Gillevet, P.M. (2015). High-intensity sweetener consumption and gut microbiome content and predicted gene function in a cross-sectional study of adults in the United States. *Ann Epidemiol*, 25(10): 736-742, doi: 10.1016/j.annepidem.2015.06.083.
- Furuhashi, H., Higashiyama, M., Okada, Y., Kurihara, C., Wada, A., Horiuchi, K., Hanawa, Y., Mizoguchi, A., Nishii, S., Inaba, K., Sugihara, N., Watanabe, C., Komoto, S., Tomita, K., Miura, S., Hokari, R. (2020). Dietary emulsifier polysorbate-80-induced small-intestinal vulnerability to indomethacin-induced lesions via dysbiosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 35(1): 110-117, doi: 10.1111/jgh.14808.
- Gardana, C., Simonetti, P., Canzi, E., Zanchi, R., Pietta, P. (2003). Metabolism of stevioside and rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* extracts by human microflora. *J Agric Food Chem*, 51(22): 6618-6622, doi: 10.1021/jf0303619.
- Gong, T., Wei, Q.W., Mao, D.G., Nagaoka, K., Watanabe, G., Taya, K., Shi, F.X. (2016). Effects of daily exposure to saccharin and sucrose on testicular biologic functions in mice. *Biol Reprod*, 95(6): 116, doi: 10.1095/biolreprod.116.140889.
- Grotz, V. L., Pi-Sunyer, X., Porte Jr, D., Roberts, A., Richard Trout, J. (2017). A 12-week randomized clinical trial investigating the potential for sucralose to affect glucose homeostasis. *Regul Toxicol Pharmacol*, 88: 22-33, doi: 10.1016/j.yrtph.2017.05.011.
- Halas, D., Hansen, C.F., Hampson, D.J., Mullan, B.P., Kim, J.C., Wilson, R.H., Pluske, J.R. (2010). Dietary supplementation with benzoic acid improves apparent ileal digestibility of total nitrogen and increases villous height and caecal microbial diversity in weaner pigs. *Anim Feed Sci Technol*, 160(3-4): 137-147, doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.07.001.
- Halmos, E.P., Mack, A., Gibson, P.R. (2019). Emulsifiers in the food supply and implications for gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 49(1): 41-50, doi: 10.1111/apt.15045.
- Hrncirova, L., Hudcovic, T., Sukova, E., Machova, V., Trckova, E., Krejse, J., Hrnčir, T. (2019a). Human gut microbes are susceptible to antimicrobial food additives in vitro. *Folia Microbiol*, 64(4): 497-508, doi: 10.1007/s12223-018-00674-z.
- Hrncirova, L., Machova, V., Trckova, E., Krejse, J., Hrnčir, T. (2019b). Food preservatives induce proteobacteria dysbiosis in human-microbiota associated Nod2-deficient mice. *Microorganisms*, 7(10): 383, doi: 10.3390/microorganisms7100383.
- Husøy, T., Mangschou, B., Fotland, T.Ø., Kolset, S.O., Nøtvik Jakobsen, H., Tømmerberg, I., Bergsten, C., Alexander, J., Frost Andersen, L. (2008). Reducing added sugar intake in Norway by replacing sugar sweetened beverages with beverages containing intense sweeteners—a risk benefit assessment. *Food Chem Toxicol*, 46(9): 3099-3105, doi: 10.1016/j.fct.2008.06.013.
- Hwang, J.S., Yu, J., Kim, H.M., Oh, J.M., Choi, S.J. (2019). Food additive titanium dioxide and its fate in commercial foods. *J Nanomater*, 9(8): 1175, doi: 10.3390/nano9081175.
- Iammarino, M., Di Taranto, A., Palermo, C., Muscarella, M. (2011). Survey of benzoic acid in

- cheeses: contribution to the estimation of an admissible maximum limit. *Food Addit Contam B*, 4(4): 231-237, doi: 10.1080/19393210.2011.620355.
- Imamura, F., O'Connor, L., Ye, Z., Mursu, J., Hayashino, Y., Bhupathiraju, S.N., Forouhi, N. G. (2015). Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *BMJ*, 351: h3576, doi: 10.1136/bmj.h3576.
- Irwin, S.V., Fisher, P., Graham, E., Malek, A., & Robidoux, A. (2017). Sulfites inhibit the growth of four species of beneficial gut bacteria at concentrations regarded as safe for food. *PLoS One*, 12(10): e0186629, doi: 10.1371/journal.pone.0186629.
- Isa, A. S., Muhammad, M.S., Hudu, A.A., Jamba, B.I., Choji, E.S., Isah, H.O., Magaji, M.G. (2019). Assessment of cognitive and motor endurance activities in male wistar rats administered carboxymethyl cellulose. *Afr J Biomed Res*, 22(2): 195-199.
- John, C. (2016). Aspartame: an investigation of the use of artificial sweeteners. *J Health Dispar Res Pract*, 9(5): 61.
- Józefiak, D., Kaczmarek, S., Bochenek, M., Rutkowski, A. (2007). A note on effects of benzoic acid supplementation on the performance and microbiota populations of broiler chickens. *J Anim Feed Sci*, 16(2): 252-256, doi:10.22358/jafs/66746/2007.
- Kim, H.L., Ha, A.W., Kim, W.K. (2020). Effect of saccharin on inflammation in 3T3-L1 adipocytes and the related mechanism. *Nutr Res Pract*, 14(2): 109-116, doi: 10.4162/nrp.2020.14.2.109.
- Kluge, H., Broz, J., Eder, K. (2006). Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 90(7-8): 316-324, doi: 10.1111/j.1439-0396.2005.00604.x.
- Lawrie, C., Renwick, A.G., Sims, J. (1985). The urinary excretion of bacterial amino-acid metabolites by rats fed saccharin in the diet. *Food Chem Toxicol*, 23(4-5): 445-450, doi: 10.1016/0278-6915(85)90138-3.
- Le Roy, C.I., Bowyer, R.C.E., Castillo-Fernandez, J.E., Pallister, T., Menni, C., Steves, C.J., Berry, S.E., Spector, T.D., Bell, J.T. (2019). Dissecting the role of the gut microbiota and diet on visceral fat mass accumulation. *Sci Rep*, 9(1): 9758, doi: 10.1038/s41598-019-46193-w.
- Lindemann, B., Ogiwara, Y., Ninomiya, Y. (2002). The discovery of umami. *Chem Senses*, 27(9): 843-844, doi: 10.1093/chemse/27.9.843.
- Mallett, A.K., Rowland, I.R., Bearne, C.A. (1985). Modification of rat caecal microbial biotransformation activities by dietary saccharin. *Toxicology*, 36(2-3): 253-262, doi: 10.1016/0300-483x(85)90058-7.
- Matysková, R., Maletínská, L., Maixnerová, J., Pirník, Z., Kiss, A., Zelezná, B. (2008). Comparison of the obesity phenotypes related to monosodium glutamate effect on arcuate nucleus and/or the high fat diet feeding in C57BL/6 and NMRI mice. *Physiol Res*, 57: 727-734.
- Mayhew, D.A., Comer, C.P., Stargel, W.W. (2003). Food consumption and body weight changes with neotame, a new sweetener with intense taste: differentiating effects of palatability from toxicity in dietary safety studies. *Regul Toxicol Pharmacol*, 38(2): 124-143, doi: 10.1016/s0273-2300(03)00074-6.
- Naim, M., Zechman, J.M., Brand, J.G., Kare, M.R., Sandovsky, V. (1985). Effects of sodium saccharin on the activity of trypsin, chymotrypsin, and amylase and upon bacteria in small intestinal contents of rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 178(3): 392-401, doi: 10.3181/00379727-178-42022.
- Niaz, K., Zaplatic, E., & Spoor, J. (2018). Extensive use of monosodium glutamate: a threat to public health? *EXCLI J*, 17: 273-278, doi: 10.17179/excli2018-1092.
- Ortiz, G.G., Bitzer-Quintero, O.K., Zárate, C.B., Rodríguez-Reynoso, S., Larios-Arceo, F., Velázquez-Brizuela, I.E., Pacheco-Moisés, F., Rosales-Corral, S.A. (2006). Monosodium

- glutamate-induced damage in liver and kidney: a morphological and biochemical approach. *Biomed Pharmacother*, 60(2): 86-91, doi: 10.1016/j.biopha.2005.07.012.
- Özbek, Y., Yentür, G. (1993). Gıdalarda aspartamın katkı maddesi olarak kullanılması. *GIDA*, 18(1): 67-71.
- Özdemir, D., Başer, H., Çakır, B. (2014). Tatlandırıcılar. *Türkiye Klinikleri Endokrinoloji Dergisi*, 9(2): 60-70.
- Öztürkcan, S.A., Acar, S. (2017). Yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal gıda katkı maddeleri ile ilgili genel bir değerlendirme. *İGÜSABDER*, 1(1): 1-17.
- Palmnäs, M.S., Cowan, T.E., Bomhof, M.R., Su, J., Reimer, R.A., Vogel, H.J., Hittel, D.S., Shearer, J. (2014). Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS One*, 9(10): e109841, doi: 10.1371/journal.pone.0109841
- Peng, Q., Huo, D., Ma, C., Jiang, S., Wang, L., Zhang, J. (2018). Monosodium glutamate induces limited modulation in gut microbiota. *J Funct Foods*, 49: 493-500, doi: 10.1016/j.jff.2018.09.015.
- Pepino, M.Y., Tiemann, C D., Patterson, B.W., Wice, B.M., & Klein, S. (2013). Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. *Diabetes Care*, 36(9): 2530-2535, doi: 10.2337/dc12-2221.
- Pepino, M.Y. (2018). The not-so-sweet effects of sucralose on blood sugar control. *Am J Clin Nutr*, 108(3): 431-432, doi: 10.1093/ajcn/nqy205.
- Pinget, G., Tan, J., Janac, B., Kaakoush, N.O., Angelatos, A.S., O'Sullivan, J., Koay, Y.C., Sierro, F., Davis, J., Divakarla, S.K., Khanal, D., Moore, R.J., Stanley, D., Chrzanowski, W., Macia, L. (2019). Impact of the food additive titanium dioxide (E171) on gut microbiota-host interaction. *Front Nutr*, 2019(6): 57, doi: 10.3389/fnut.2019.00057.
- Roca-Saavedra, P., Mendez-Vilabrille, V., Miranda, J M., Nebot, C., Cardelle-Cobas, A., Franco, C.M., Cepeda, A. (2018). Food additives, contaminants and other minor components: effects on human gut microbiota-a review. *J Physiol Biochem*, 74(1): 69-83, doi: 10.1007/s13105-017-0564-2
- Rodriguez-Palacios, A., Harding, A., Menghini, P., Himmelman, C., Retuerto, M., Nickerson, K.P., Lam, M., Croniger, C.M., McLean, M.H., Durum, S.K., Pizarro, T.T., Ghannoum, M.A., Ilic, S., McDonald, C., Cominelli, F. (2018). The artificial sweetener splenda promotes gut proteobacteria, dysbiosis, and myeloperoxidase reactivity in Crohn's disease-like ileitis. *Inflamm Bowel Dis*, 24(5): 1005-1020, doi: 10.1093/ibd/izy060.
- Ruiz-Ojeda, F.J., Plaza-Díaz, J., Sáez-Lara, M.J., Gil, A. (2019). Effects of sweeteners on the gut microbiota: a review of experimental studies and clinical trials. *Adv Nutr*, 10(suppl\_1): S31-S48, doi: 10.1093/advances/nmy037.
- Saad, R., Rizkallah, M.R., Aziz, R K. (2012). Gut Pharmacomicrobiomics: the tip of an iceberg of complex interactions between drugs and gut-associated microbes. *Gut Pathog*, 4(1): 16, doi: 10.1186/1757-4749-4-16.
- Salminen, S., Salminen, E., Bridges, J., Marks, V. (1986). The effects of sorbitol on the gastrointestinal microflora in rats. *Z Ernahrungswiss*, 25(2): 91-95.
- Santos, N.C., de Araujo, L.M., De Luca Canto, G., Guerra, E.N.S., Coelho, M.S., Borin, M.F. (2018). Metabolic effects of aspartame in adulthood: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 58(12): 2068-2081, doi: 10.1080/10408398.2017.1304358.
- Sanyaolu, A., Marinkovic, A., Gosse, J., Likaj, L., Ayodele, O., Okorie, C., Verner, O. (2019). Artificial sweeteners and their association with diabetes: a review. *Public Health Nutr*, 1(4): 1-3.
- Schoeler, M., Caesar, R. (2019). Dietary lipids, gut microbiota and lipid metabolism. *Rev Endocr Metab Dis*, 20(4): 461-472, doi: 10.1007/s11154-019-09512-0.

- Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., Finlay, B.B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Am J Physiol Cell Physiol*, 90(3): 859-904, doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
- Serrano, E., Riebl, S. (2019). Non nutritive are they safe? Virginia Cooperative Extension, Virginia State University, Virginia, Amerika Birleşik Devletleri, 1 -5.
- Singh, R.K., Wheildon, N., Ishikawa, S. (2016). Food additive P-80 impacts mouse gut microbiota promoting intestinal inflammation, obesity and liver dysfunction. *SOJ Microbiol Infect Dis*, 4(1): 1-10, doi: 10.15226/sojmid/4/1/00148.
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C.A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., Elinav, E. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514(7521): 181-186, doi: 10.1038/nature13793.
- Suez, J., Korem, T., Zilberman-Schapira, G., Segal, E., Elinav, E. (2015). Non-caloric artificial sweeteners and the microbiome: findings and challenges. *Gut Microbes*, 6(2): 149-155, doi: 10.1080/19490976.2015.1017700.
- Swidsinski, A., Ung, V., Sydora, B.C., Loening-Baucke, V., Doerffel, Y., Verstraelen, H., Fedorak, R. N. (2009). Bacterial overgrowth and inflammation of small intestine after carboxymethylcellulose ingestion in genetically susceptible mice. *Inflamm Bowel Dis*, 15(3): 359-364, doi: 10.1002/ibd.20763.
- Temizkan, S., Deyneli, O., Yasar, M., Arpa, M., Gunes, M., Yazici, D., Sirikci, O., Haklar, G., Imeryuz, N., Yavuz, D.G. (2015). Sucralose enhances GLP-1 release and lowers blood glucose in the presence of carbohydrate in healthy subjects but not in patients with type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*, 69(2): 162-166, doi: 10.1038/ejcn.2014.208.
- Thomson, P., Santibañez, R., Aguirre, C., Galgani, J.E., Garrido, D. (2019). Short-term impact of sucralose consumption on the metabolic response and gut microbiome of healthy adults. *Br J Nutr*, 122(8): 856-862, doi: 10.1017/S0007114519001570.
- Uebanso, T., Ohnishi, A., Kitayama, R., Yoshimoto, A., Nakahashi, M., Shimohata, T., Mawata, K., Takahashi, A. (2017). Effects of low-dose non-caloric sweetener consumption on gut microbiota in mice. *Nutrients*, 9(6): 560, doi: 10.3390/nu9060560.
- Vamanu, E., Pelinescu, D., Florentina Gatea, F., Sârbu, I. (2019). Altered in vitro metabolomic response of the human microbiota to sweeteners. *Genes*, 10(7): 535, doi: 10.3390/genes10070535.
- Viennois, E., Merlin, D., Gewirtz, A.T., Chassaing, B. (2017). Dietary emulsifier-induced low-grade inflammation promotes colon carcinogenesis. *Cancer Res*, 77(1): 27-40, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1359.
- Viennois, E., Chassaing, B. (2018). First victim, later aggressor: How the intestinal microbiota drives the pro-inflammatory effects of dietary emulsifiers? *Gut microbes*, 9(3): 1-4, doi: 10.1080/19490976.2017.1421885.
- Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z., Li, L. (2017). The human microbiota in health and disease. *J Eng*, 3(1): 71-82, doi: 10.1016/J.ENG.2017.01.008
- Wang, Q.P., Browman, D., Herzog, H., Neely, G.G. (2018). Non-nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PloS One*, 13(7): e0199080, doi: 10.1371/journal.pone.0199080.
- Zhao, X., Yan, J., Chen, K., Song, L., Sun, B., Wei, X. (2018). Effects of saccharin supplementation on body weight, sweet receptor mRNA expression and appetite signals regulation in post-weanling rats. *Peptides*, 107: 32-38, doi: 10.1016/j.peptides.2018.07.006.
- Zmora, N., Suez, J., Elinav, E. (2019). You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastro Hepat*, 16(1): 35-56, doi: 10.1038/s41575-018-0061-2.



# İçindekiler / Content

## Araştırmalar (İngilizce) / Researches (English)

- Gültekin-Özguven, M., Berktaş, I., Gönül, Ö., Beraat Özçelik, B. *Development of dark chocolate enriched with matcha green tea (Camellia sinensis) / Maça yeşil çayı ile zenginleştirilmiş bitter çikolata geliştirilmesi*.....850-860
- Aktop, S., Aslan Canberi, H., Şentürk, E., Şanlıbaba, P. *Antibacterial activity of different essential oils on Listeria monocytogenes strains isolated from ready-to-eat foods / Çeşitli uçucu yağların tüketime hazır gıdalardan izole edilen Listeria monocytogenes suşları üzerindeki antibakteriyel aktivitesi*.....861-871
- Saimati, M., Genççelep, H. *Preventing of packaging exudation in Frankfurter sausages by using modified potato starch / Modifiye patates nişastası kullanılarak üretilen Frankfurter sosislerde ambalaja sızıntının önlenmesi* .....894-906
- Kasnak, C., Palamutoğlu, R. *Determination extraction conditions for maximum phenolic compounds in the kiwifruit using response surface design / Yanıt yüzey tasarımı kullanılarak kivi meyvesindeki maksimum fenolik bileşikler için ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi*.....989-996
- Eyiz, V., Tontul, İ., Türker, S. *Edible coating of cereal bars using different biopolymers: Effect on physical and chemical properties during storage / Tahıl barlarının farklı biyopolimerler ile yenilebilir kaplanması: Depolama süresince fiziksel ve kimyasal özellikler üzerine etkisi*.....1019-1029

## Araştırmalar (Türkçe) / Researches (Turkish)

- Vatansever, M., Tiğa, B. H., Kumcuoğlu, S., Tavman, Ş. *Farklı oranlarda mercimek unu ve patates nişastası içeren karışımların ekstrüde çabuk erişte üretiminde kullanımının incelenmesi / Investigation of the use of lentil flour and potato starch blends in the production of extruded instant noodles* .....837-849
- Uzundağ, D., Arslan, S., Yüksekdağ, Z., Beyatlı, Y., Sakallı, A. *Beyaz peynirden izole edilen Cryptococcus humicola suşlarının starter aktivitelerinin araştırılması / Investigation of starter activity of the yeast species Cryptococcus humicola isolated from white cheese* .....872-880
- Çelik, İ., Pozan, K. *Kavun çekirdeği tozunun eriştenin bazı özelliklerine etkisi / The effect of melon seed powder on some properties of noodle* .....907-916
- Bozkır, H. *Mikrodalga ve termosonikasyon haşlama yöntemleri ile patatesin haşlanması ve kalite özelliklerinin belirlenmesi / Blanching of potato using microwave and thermosonication blanching methods and determination of quality characteristics* .....917-928
- Çolak, S., Çolak, S., Dağlı, F., Çömlekioğlu, N., Kocabaş, Y. Z., Aygan, A. *Achillea aleppica subsp. aleppica'nın farklı organlarından elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi ve bazı fitokimyasal özellikleri / Antimicrobial activity and some phytochemical properties of extracts from Achillea aleppica subsp. Aleppica* .....929-941
- Kara, S., Köse, Ş. *Geleneksel yöntemle üretilen otlı peynirlerin bazı kalite özelliklerinin ve biyoaktivitesinin belirlenmesi / Determination of some quality parameters and bioactivity of herby cheese produced by traditional method* .....942-953
- Yücel Şengün, İ., Yücel, E., Öztürk, B., Kılıç, G. *Haşhaş (Papaver somniferum) çeşitlerinin tohum yağlarının yağ asidi kompozisyonu, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri / Fatty acid composition, total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of varieties of poppy (Papaver somniferum) seed oils*.....954-962
- Altınkaynak, T., Tuncer, Y. *Fermente sucuktan izole edilen antilisterial Enterococcus mundtii YB6.30 tarafından üretilen bakteriyosinin karakterizasyonu / Characterization of bacteriocin produced by antilisterial Enterococcus mundtii YB6.30 isolated from fermented sucuk*.....963-976
- İnce, C., Çağrı, Ö. *Beyaz ve tam buğday unlu ekmeğe eklenen beyaz dut (Morus alba) yaprak ve posasının antioksidan ve antidiyabetik aktivite üzerine etkisi / Effect of white mulberry (Morus alba) leaves and pulp on the antioxidant and antidiabetic activity of white and whole wheat bread* .....977-988
- Güney, A., Alaşalvar, H., Erinc, H. *Margarin formülasyonunda konjüge linoleik asit kullanımının depolama stabilitesi üzerine etkisi / The effect of conjugated linoleic acid addition on the storage stability of margarine*.....997-1008

## Derlemeler (Türkçe) / Reviews (Turkish)

- Çil, O., Erdem, F., Aday, M. S. *Nar (Punica granatum): Sağlıkta yararı, ekonomik değeri ve hasat sonrası muhafaza metotları / Pomegranate (Punica granatum): Health benefits, economic value and postharvest preservation methods*.....881-893
- Muslu, M. *Sağlığın geliştirilmesi ve sürdürülebilir beslenme için alternatif bir kaynak: Yenilebilir böcekler / An alternative source for improvement of health and sustainable nutrition: Edible insects*.....1009-1018
- Bayram, H. M., Öztürkcan, S. A. *Gıda katkı maddelerinin mikrobiyota üzerine etkisi / Effects of food additives on microbiota*.....1030-1046