

ISSN Online 2148-015X

ACADEMIC FOOD JOURNAL

AKADEMİK

GIDA



Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida> Cilt/Volume:18 Sayı/Number:4 Ekim - Aralık 2020

ACADEMIC FOOD JOURNAL
A JOURNAL ON FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

SİDAS MEDYA

AKADEMİK GIDA®
ACADEMIC FOOD JOURNAL

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

Baş Editör / Editor-in-Chief

Oğuz Gürsoy
(Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

Editörler / Editors

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

Teknik Editörler / Technical Editors

Hande Özge Güler (Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi)

International Editorial Board / Uluslararası Yayın Kurulu

Mohamed H. Abd El-Salam (National Research Centre, Egypt)
Sibel Akalın (Ege University, Turkey)
Abdullah Akdoğan (Pamukkale University, Turkey)
Nihat Akın (Selçuk University, Turkey)
Nesimi Aktaş (Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, Turkey)
Tapani Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Patricia-Munsch Alatossava (University of Helsinki, Finland)
Muhammet Arıcı (Yıldız Technical University, Turkey)
Iuliana Aprodu (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)
Adriana Pavese Ariseto (State University of Campinas, Brazil)
Ahmet Ayar (Sakarya University, Turkey)
Zehra Ayhan (Sakarya University, Turkey)
Jurislaw Babic (University of Osijek, Croatia)
Chockry Barbana (Canadian Food Inspection Agency, Canada)
Ali Bayrak (Ankara University, Turkey)
Noreddine Benkerroum (Inst. Agronomique et Vet. Hassan II, Morocco)
Yavuz Beyatlı (Gazi University, Turkey)
Kamil Bostan (Istanbul Aydın University, Turkey)
Rajka Bozanic (University of Zagreb, Croatia)
Cengiz Caner (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Oana Emilia Constantin (Dunarea de Jos University of Galati, Romania)
Abdullah Çağlar (Afyon Kocatepe University, Turkey)
İbrahim Çakır (Abant İzzet Baysal University, Turkey)
Songül Çakmakçı (Atatürk University, Turkey)
İlyas Çelik (Pamukkale University, Turkey)
Utku Çopur (Uludağ University, Turkey)
Ahmet Hilmi Çon (Ondokuz Mayıs University, Turkey)
Mehmet Demirci (Namık Kemal University, Turkey)
Yusuf Dilgin (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Cynthia Ditchfield (University of Sao Paulo, Brazil)
Fahrettin Göğüş (Gaziantep University, Turkey)
Şebnem Harsa (Izmir Institute of High Technology, Turkey)
Arif Hepbaşlı (Yaşar University, Turkey)
Seda Ersus Bilek (Ege University, Turkey)
A. Adnan Hayaloğlu (İnönü University, Turkey)
Yekta Gökşungur (Ege University, Turkey)
Mehmet Güven (Çukurova University, Turkey)
Filiz İçier (Ege University, Turkey)
Kadir Halkman (Ankara University, Turkey)
Mükerrrem Kaya (Atatürk University, Turkey)
Semra Kayaardı (Manisa Celal Bayar University, Turkey)

Yonca Karagül Yüceer (Çanakkale Onsekiz Mart University, Turkey)
Harun Kesenaş (Ege University, Turkey)
Meral Kılıç Akyılmaz (Istanbul Technical University, Turkey)
Piotr Koczon (Warsaw University of Life Sciences, Poland)
Celalettin Koçak (Ankara University, Turkey)
Ergun Köse (Manisa Celal Bayar University, Turkey)
Ahmet Küçükçetin (Akdeniz University, Turkey)
Erdoğan Küçüköner (Süleyman Demirel University, Turkey)
Jung Hoon Lee (Fort Valley State University, USA)
Sebahattin Nas (Pamukkale University, Turkey)
Gülden Ova (Ege University, Turkey)
Zümrüt Begüm Ögel (Konya Food and Agriculture University, Turkey)
Semih Ötleş (Ege University, Turkey)
Halil Özbaş (Süleyman Demirel University, Turkey)
Beraat Özçelik (Istanbul Technical University, Turkey)
Filiz Özçelik (Ankara University, Turkey)
Sami Gökhan Özkal (Pamukkale University, Turkey)
Mustafa Zafer Özel (Sensient Technologies, UK)
Barbaros Özer (Ankara University, Turkey)
Edward Pospiech (Poznan University of Life Sciences, Poland)
Konstantinos Petrotos (Technological Educational Inst. of Larissa, Greece)
Pican Prabasankar (CSIR-Central Food Technological Res. Inst., India)
Jenny Ruales (Escuela Politécnica Nacional, Ecuador)
Osman Sağdıç (Yıldız Technical University, Turkey)
Saulius Satkauskas (Vytautas Magnus University, Lithuania)
Meltem Serdaroğlu (Ege University, Turkey)
Reyad R. Shaker (Jordan University of Science & Technology, Jordan)
Ömer Şimşek (Pamukkale University, Turkey)
Romeo Toledo (University of Georgia, USA)
Mahir Turhan (Mersin University, Turkey)
Yahya Tülek (Pamukkale University, Turkey)
Harun Uysal (Ege University, Turkey)
Mustafa Üçüncü (Ege University, Turkey)
Y. Sedat Velioğlu (Ankara University, Turkey)
Ünal Rıza Yaman (Ege University, Turkey)
Aydın Yapar (Pamukkale University, Turkey)
Hasan Yetim (Istanbul Gelişim University, Turkey)
Atilla Yetişemiyen (Ankara University, Turkey)
Metin Yıldırım (Ömer Halisdemir University, Turkey)
Ufuk Yücel (Ege University, Turkey)

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

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

Akademik Gıda 18 (4) (2020)
İÇİNDEKİLER / CONTENTS

■ Editörden / Editorial

IV-V

■ MAKALELER / PAPERS

■ Araştırma Makaleleri / Research Papers

Effect of Scallop-Shell Powder Suspension Treatment on *Listeria monocytogenes* Growth on Kashar Cheese /
*Kaşar Peynirine Uygulanan Midye Kabuğu Tozu Çözeltisinin *Listeria monocytogenes* Gelişimi Üzerine Etkisi /*
Sümeyye Erol, Arzu Çağrı Mehmetoğlu

339-346

Effect of Vacuum Cooking Process Conditions on Color, Textural, Microstructural and Sensory Properties of Beef /
Vakum Pişirmede İşlem Koşullarının Kırmızı Etin Renk, Tekstür, Mikroyapı ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi /
Esra Devseren, Dilara Okut, Mehmet Koç, Haluk Karataş, Figen Kaymak-Ertekin

347-356

Nickel and Copper Removal from Aqueous Media using Polyaniline/Sugar Beet Pulp (PANI/SBP) Composite /
Polianilin/Şeker Pancarı Posası (PANI/SBP) Kompoziti Kullanılarak Sulu Ortamdan Nikel ve Bakırın Uzaklaştırılması /
Kevser Isık Yigit, Songul Sen Gursoy

357-366

Effect of Ethylene Scavenging-Active Packaging on Quality and Shelf Life of Button Mushrooms
(*Agaricus bisporus*) / Etilen Tutucu İçeren Aktif Ambalajmanın Mantarın (*Agaricus bisporus*) Kalitesi ve Raf Ömrüne
Etkisi / Elif Kütahne, Amal Al Obaidi, Zehra Ayhan

367-374

Physicochemical and Rheological Properties of Commercial Kefir Drinks / Ticari Kefirlerin Fizikokimyasal ve Reolojik
Özellikleri / Oguz Gursoy, Kübra Kocatürk, Hande Özge Güler Dal, Hasne Nazlı Yakalı, Yusuf Yılmaz

375-381

İlımlı Elektrik Alan ve Ultrases Ön İşlemlerinin Mikrodalga ve Derin Yağda Kızartma Teknikleriyle Üretilen Havuç
Cipslerinin Renk ve Nem İçeriği Üzerine Etkisi / Effect of Moderate Electric Field and Ultrasound Applications on Color
and Moisture Contents of Carrot Chips Produced by Microwave and Deep-Frying Methods / Ahsen Rayman Ergün,
Bengünur Kutlu, Fahriye Ayriç, Taner Baysal

382-389

Kombu Çayı Üretiminde Kapari Tomurcuklarının (*Capparis spp.*) Kullanımının Fenolikler, Antioksidant Kapasite ve
Biyoerişilebilirliğe Etkisi / Effect of Caper Buds (*Capparis spp.*) on Phenolics, Antioxidant Capacity, and Bioaccessibility
on Kombucha Tea Production / Nihan Giritlioğlu, Elif Yıldız, Ozan Gürbüz

390-401

Sıvı Yumurta Sarısının Ultrases Tekniğiyle İşlenmesi ile Yapısal Özelliklerinin Karakterizasyonu ve Reolojik
Davranışının Belirlenmesi / Rheological Behavior and Structural Characterization of Liquid Egg Yolk Treated with
Ultrasound Processing Technique / Muhammed Yüceer

402-410

Safety of Polycarbonate Water Carboys for Residual and Migration Levels of Bisphenol-A / Bisfenol-A Kalıntı ve
Migrasyon Seviyeleri için Polikarbonat Su Damacanalarının Güvenliği / Özlem Kızılırmak Esmer, Özlem Çağrı

411-420

■ Derleme Makaleler / Review Papers

Eksozomlar: Kompozisyonları, Biyolojik Fonksiyonları ve Biyoaktif Bileşiklerin Taşınmasındaki Potansiyelleri /
Exosomes: Their Composition, Biological Functions and Potential for Transport of Bioactive Compounds / Cansu İnanır,
Lütfiye Ekici

421-432

Covid-19 Salgınının Yayılmasını Önleyici Hijyen Uygulamaları / Good Hygiene Practices to Prevent Covid-19
Outbreak Spreading / Sibel Özçakmak, Işıl Var

433-441

■ Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları / Guidelines to Authors

VI-IX

■ Etik Beyanı / Ethics and Publication Malpractice Statement

X-XV

**Sahibi**

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

Genel Yayın Yönetmeni

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

Baş Editör

Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY
ogursoy@yahoo.com

Editörler

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

Reklam Müdürü

Nurcan AKMAN ŞENGÖR

Hukuk Danışmanı

Av. Yrd. Doç. Dr. Murteza AYDEMİR

Abone Sorumlusu

Halil SOLAK

Grafik Tasarım

Sidas Medya Tasarım Grubu

Yönetim Yeri

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

Üç Ayda Bir Yayınlanan Dergimiz
Basın Meslek İlkelerine Uymaktadır.

Yıl / Cilt: 18

Sayı: 90

Ekim - Kasım - Aralık 2020

ISSN Print 1304-7582

ISSN Online 2148-015X

Akademik Gıda Dergisi

Bir **SİDAS MEDYA** Yayınıdır.

GRUP

Yayın Türü: Yerel Süreli

Akademik Gıda Dergisi Hakemli Dergidir.

Akademik Gıda dergisinin 18. yayın yılının son sayısı ile sizlerle birlikteyiz. Bu sayımızda 9 araştırma ve 2 derleme çalışması olmak üzere toplam 11 makale yer almaktadır.

Makale yazarlarından zaman zaman gelen sorular nedeniyle makale kabulü ile ilgili daha önce yaptığımız bilgilendirmeyi tekrar etmek istiyoruz. Dergimiz 2017 yılı birinci sayısından itibaren <http://www.academicfoodjournal.com> adresinin yanı sıra TÜBİTAK ULAKBİM çatısı altında, Türkiye'de yayımlanan akademik dergiler için elektronik ortamda barındırma ve editöryal süreç yönetimi hizmeti sunan DergiPark'ta, <http://dergipark.gov.tr/akademik-gida> adresinde yayımlanmaya başlamıştır. Ancak dergimize yayımlanmak üzere gönderilen makalelerin kabulü halen <http://www.academicfoodjournal.com> adresinden yapılmakta olup, DergiPark üzerindeki makale kabul süreçlerini içeren sistem kullanılmamaktadır. Bu sistem üzerinden makale kabulüne 2021-2022 yılları içerisinde geçilmesi planlanmaktadır. Dergimizin tüm arşivine DergiPark üzerinden erişiminin sağlanması için gerekli çalışmalar TÜBİTAK ULAKBİM tarafından yapılmakta olup, bu çalışmaların kısa bir süre içerisinde tamamlanması beklenmektedir. Söz konusu çalışmalarla birlikte dergimizde yayımlanan makalelerin ulaşılabilirliğinde de önemli düzeyde artış olması beklenmektedir.

Yazarlarımıza hatırlatmak istediğimiz diğer önemli bir husus 2020 yılından itibaren dergimize gönderilecek makalelerde Etik Kurul izni gerektiren çalışmaların ilgili izni aldıkları ile ilgili bilgi ve belgelerini TR-Dizin'e yüklemek üzere dergimize (makalelerini dergimize gönderme aşamasında) sunmaları gerekliliğidir. Dergimizin etik hususlarla ilgili detaylı etik beyanına web sayfamızdan (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/page/6477>) ulaşılabilir.

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

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

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

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

Saygılarımızla.

Oğuz Gürsoy
Baş Editör

Özer Kınık
Ramazan Gökçe
Yusuf Yılmaz
Editörler

BİLİMSEL ETKİNLİKLER

Peynir Çalıştayı

Peynir ve Peynir Teknolojileri ile ilgili çalışanlar veya bu sektörlere hizmet verenler ile bilim insanlarının bir araya getirilmesi, güncel gelişmeler ve sektör sorunların tartışılması hedefleriyle Sidas Medya Ltd. Şti. ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü tarafından düzenlenecek Peynir Çalıştayı ile ilgili bilgilere etkinliğin Facebook ve Instagram sosyal medya hesaplarından ulaşılabilir.

5. Uluslararası Anadolu Tarım, Gıda, Çevre ve Biyoloji Kongresi

Tarım, gıda, çevre ve biyoloji alanındaki gelişmeleri gündeme getirmek ve yeni iş birliklerine olanak sağlamak amacıyla, 5.Uluslararası Anadolu Tarım, Gıda, Çevre ve Biyoloji Kongresi Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi ve Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi (TURJAF) öncülüğünde 1-4 Ekim 2020 tarihlerinde Tokat'ta düzenlenecektir. Kongre ile ilgili <http://www.targid.org/> adresinden ulaşılabilir.

IV. Et Ürünleri Çalıştayı

Ülkemizde Et Bilimi ve Teknolojisi alanında öncü bir organizasyon olma özelliği taşıyan ve teması "Et Ürünleri Üretiminde Yenilikçi Yaklaşımlar" olarak belirlenen IV. Et Ürünleri Çalıştayı 6-8 Ekim 2020 tarihlerinde Seven Seas Sealight Elite Otel'de (Kuşadası, Aydın) düzenlenecektir. Çalıştay ile ilgili ayrıntılı bilgilere <https://etcalistayi2020.ege.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

Türkiye 13. Gıda Kongresi

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

7. Uluslararası Gıda Güvenliği Kongresi

Gıda Güvenliği Derneği tarafından düzenlenen Uluslararası Gıda Güvenliği Kongrelerinin yedincisi 3-4 Haziran 2021 tarihlerinde İstanbul'da (Grand Cevahir Hotel Convention Center) gerçekleştirilecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <https://www.gidaguvenligikongresi.org/> adresinden ulaşılabilir.




10. Ulusal Analitik Kimya Kongresi

2002 yılından bu yana iki yılda bir düzenlenen Analitik Kimya Kongrelerinin onuncusu Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi ev sahipliğinde 2-5 Eylül 2021 tarihlerinde düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://uakk2020.mu.edu.tr/> adresinden ulaşılabilir.

V. International Joint Science Congress of Materials and Polymers

Malzeme Bilimleri alanında son gelişmelerin tartışılacağı V. International Joint Science Congress of Materials and Polymers kongresi 15-17 Eylül 2021 tarihleri arasında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi ev sahipliğinde Lavanta Tepesi Hotel'de (Burdur) düzenlenecektir. Kongre ile ilgili bilgilere <http://iscmp.org/> adresinden ulaşılabilir.

Effect of Scallop-Shell Powder Suspension Treatment on *Listeria monocytogenes* Growth on Kashar Cheese

Sümeyye Erol , Arzu Çağrı Mehmetoğlu  

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Sakarya University, Sakarya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 25.12.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 23.12.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): acagri@sakarya.edu.tr (A. Çağrı Mehmetoğlu)

☎ +90 264 295 5920 📠 +90 264 295 5600

ABSTRACT

High occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheeses is an important risk for human health. The present work aims to investigate antibacterial effect of scallop-shell powder (SSP) on *L. monocytogenes* on Kashar cheese. Cheese samples were immersed into 0, 0.5, 1.0 or 1.5% of SSP suspensions. After drying, the surface of cheese samples was inoculated with *L. monocytogenes* (5 log cfu/g). Following drying for 2 h, each sample was individually vacuum-packed and stored at 4°C for 28 days. The microbiological and chemical properties of samples were determined at every 7 and 14 days of storage, respectively. Application of SSP solution (%) significantly inhibited the growth of *L. monocytogenes* and mold but not yeast or lactic acid bacteria. Treatment of SSP did not affect the pH value, color and chemical properties ($p>0.05$) but increased the ash contents of cheese samples ($p<0.05$). The results suggested that SSP treatment could be used to reduce risk of *L. monocytogenes* contamination on Kashar cheese.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Scallop-shell powder, Kashar cheese

Kaşar Peynirine Uygulanan Midye Kabuğu Tozu Çözeltisinin *Listeria monocytogenes* Gelişimi Üzerine Etkisi

ÖZ

L. monocytogenes peynirlerde bulunan bir patojen olarak insan sağlığı için bir tehdit unsurudur. Bu çalışma ile midye kabuğu tozu (MKT) uygulanmasının Kaşar peynirinde *L. monocytogenes* üremesine karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, *L. monocytogenes* (5 log kob/g) bulaştırılan peynir yüzeylerine daha sonra farklı konsantrasyonlardaki (%0, 0.5, 1.0, 1.5) MKT çözeltisi uygulanmıştır. Peynirler vakumlanıp 4°C'de depolanmıştır. Depolanmanın her 7 ve 14 gününde örneklerde sırasıyla mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapılmıştır. MKT'nin uygulanması *L. monocytogenes* ve küf üremesini engellerken maya ve laktik asit bakterilerinin üremesini etkilememiştir. MKK uygulaması örneklerin pH'sı, rengi ve kimyasal özelliklerine etki etmemiştir ($p<0.05$) fakat kül içeriğinde artışa neden olmuştur ($p<0.05$). Sonuçlar, peynirde MKT'nin *L. monocytogenes* ve küflenme problemini azaltmak için kullanılabilirliğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Listeria monocytogenes*, Midye kabuğu tozu, Kaşar peyniri

INTRODUCTION

Kashar cheese has been one of the most popular semi-hard cheeses in Turkey. *L. monocytogenes* caused

outbreaks in milk and dairy products and therefore became a risk factor in the dairy industry [1, 2]. These pathogens have been shown to be able to survive and grow in soft and semi-soft cheeses [3]. *L.*

monocytogenes is resistant to high salt concentration and can survive even below the refrigerator temperature. Foodborne infectious diseases caused by *L. monocytogenes* are called listeriosis. Listeriosis is defined as a disease that causes serious infections leading to meningitis, abortion, septicemia and even death as a result of consumption of foods contaminated with *L. monocytogenes*.

Several studies showed that the growth of *L. monocytogenes* could be inhibited in Kashar cheese by some applications. For example, chitosan or whey protein coating solutions containing essential oils like thyme and clove have been shown to have antimicrobial effect on *L. monocytogenes* in Kashar cheese [1]. Similarly, in another study, zein-wax composite films containing lysozyme prevented the growth of *L. monocytogenes* ATCC 7644 in Kashar cheese [2, 3]. In this study, the application of scallop shell powder (SSP) suspension was investigated as a cheap and safe alternative antimicrobial preservative against *L. monocytogenes* on Kashar cheese.

SSP is a waste product produced from scallop shell in Japan and Korea. It was listed as a food additive (E529) in Turkish Food Codex. The main ingredient of SSP is calcium carbonate (CaCO_3), but when heat treatment is applied at temperatures of 700°C and above, CaCO_3 is transformed into calcium oxide (CaO) having strong antibacterial effect [4, 5]. The studies revealed that the application of SSP inhibited growth of several pathogens including *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* [4, 6-12] and also increased shelf life of some food products. For example, the addition of SSP solution into ingredients increased the shelf life of the traditional fermented product kimchi, shredded cabbage and fresh soy cheeses [13-15].

Objectives of the study were to (1) inspect the inhibition effect of SSP on the growth of *L. monocytogenes* on Kashar cheese; (2) investigate the impact of SSP application on shelf life of Kashar cheese in terms of numbers of lactic acid bacteria, yeast and mold, and chemical properties (dry matter, protein, fat, ash, water activity, pH); and (3) examine the sensory and color characteristics of Kashar cheese treated with SSP.

MATERIALS and METHODS

Listeria monocytogenes culture

L. monocytogenes ATCC 7644 was twice successively transferred in 10 mL of tryptic soy broth (Merck Laboratories) at 30°C for 24 h. Optical density of *L. monocytogenes* culture at 600 nm reached to 0.7 which represents 9 log/ml cells. The culture was diluted in 0.1% peptone water to a concentration of approximately 7 log/mL for following inoculation.

Preparation of Kashar Cheese Samples

Fresh Kashar cheese samples (20 g) were immersed into SSP suspension prepared at 0, 0.5, 1.0 or 1.5% concentration for 10 sec (immersing time was kept short to avoid solid weight loss from the cheese samples and water residues on the surface) and were dried for 2 h in a biosafety cabinet. Following spreading 0.1 mL of *L. monocytogenes* (5 log CFU/g) on both surfaces, the cheese samples were dried and vacuumed packed in sterile bags (polyamide-polyethylene), and kept at 4°C for 28 days.

Microbiological Analysis

In every 7 days, 10 g sample was homogenized using a stomacher (Interscience, Bagmixer 400, France) in 90 mL of peptone water (0.1%) for 2 min. To determine the number of *L. monocytogenes*, lactic acid bacteria and yeast/mold, appropriate dilutions were plated on Modified Oxford Agar (30°C for 48 h), de Man, Rogosa and Sharpe Agar (42°C for 2 days) and Oxytetracycline-Glucose-Yeast-Extract Agar supplemented with oxytetracycline (25°C for 5 days), respectively.

Chemical Analysis

Cheese samples were evaluated for moisture using oven drying method, protein using Kjeldahl method [16], fat using Gerber Method [17] and ash [18] at 0, 14 and 28th days of storage. The pH and water activity of the samples were also monitored by using a pH meter (Hannah pH 211 model), and using a water activity meter (AQUA Lab Series 3), respectively.

Color

A tintometer (Lovibond RT 300 Series Reflectance England) was used to evaluate the color characteristics of the cheese samples at every 14 days and recorded as hunter color system (a^* (redness), b^* (yellowness) and L^* (lightness)). The colorimeter was calibrated using a standard white tile. For each cheese sample, five readings were taken in triplicate.

Statistical Analysis

IBM SPSS software package and two-way analysis of variance was used to analyze data from triplicate experiments (SPSS 20.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Duncan's Multiple Range Test assessed differences among means at the 95% significance level.

RESULTS and DISCUSSION

Listeria monocytogenes

The number of *L. monocytogenes* observed for 28 days of storage with the standard deviations of the means was shown in Figure 1a. The initial *L. monocytogenes* number was found to be about 4.5 log CFU/g in all samples. The number of *L. monocytogenes* inoculated in all Kashar cheese samples started to decrease

significantly from day 7 ($p < 0.05$). At the end of storage, the number of *L. monocytogenes* reduced from 4.5 to approximately 2 log in the cheese samples treated with 0, 0.5 or 1.0% SSP. No significant difference within effect of those treatments was observed. However, immersing cheese samples into 1.5% SSP significantly increased drop seen in the population of *L. monocytogenes* ($p < 0.05$).

Antimicrobial effect of SSP is coming from released hydroxyl ions which oxidize free radicals and increase reactivity [12, 19, 20]. They could kill microorganism cells by damaging cytoplasmic membrane and denaturation DNA and proteins. The similar studies also showed the antimicrobial effect of SSP against the growth of *L. monocytogenes* [12, 21]. For example, even application of 0.1% SSP suspension significantly reduces the number of *L. monocytogenes* on chicken wings and frankfurters surface by 6 and 3.5 log CFU/g, respectively [12, 21]. Likewise, another study confirmed

that 0.15% CaO solution for 3 min treatment reduced the number of *L. monocytogenes* by 50% [12]. The results in the current study showed that the number of *L. monocytogenes* reduced around 2 log on all cheese samples with or without SSP treatment during 28 d refrigerated storage. Çetinkaya and Soyutemiz [22] also showed the similar inhibition pattern of *L. monocytogenes* during ripening stage of Kashar cheese. Hurdle concept including salt, high acid and presence of lactic acid bacteria on cheese may play important role on reduced number of *L. monocytogenes*. Several studies revealed that existence of lactic acid bacteria could prevent the growth of pathogens and spoilage microorganisms in fermented foods by production of antimicrobial compounds including organic acids, diacetyl and bacteriocins. SSP treatment at 1.5% concentration together with mentioned antimicrobial compounds above might have synergistic effect on inhibition of *L. monocytogenes*.

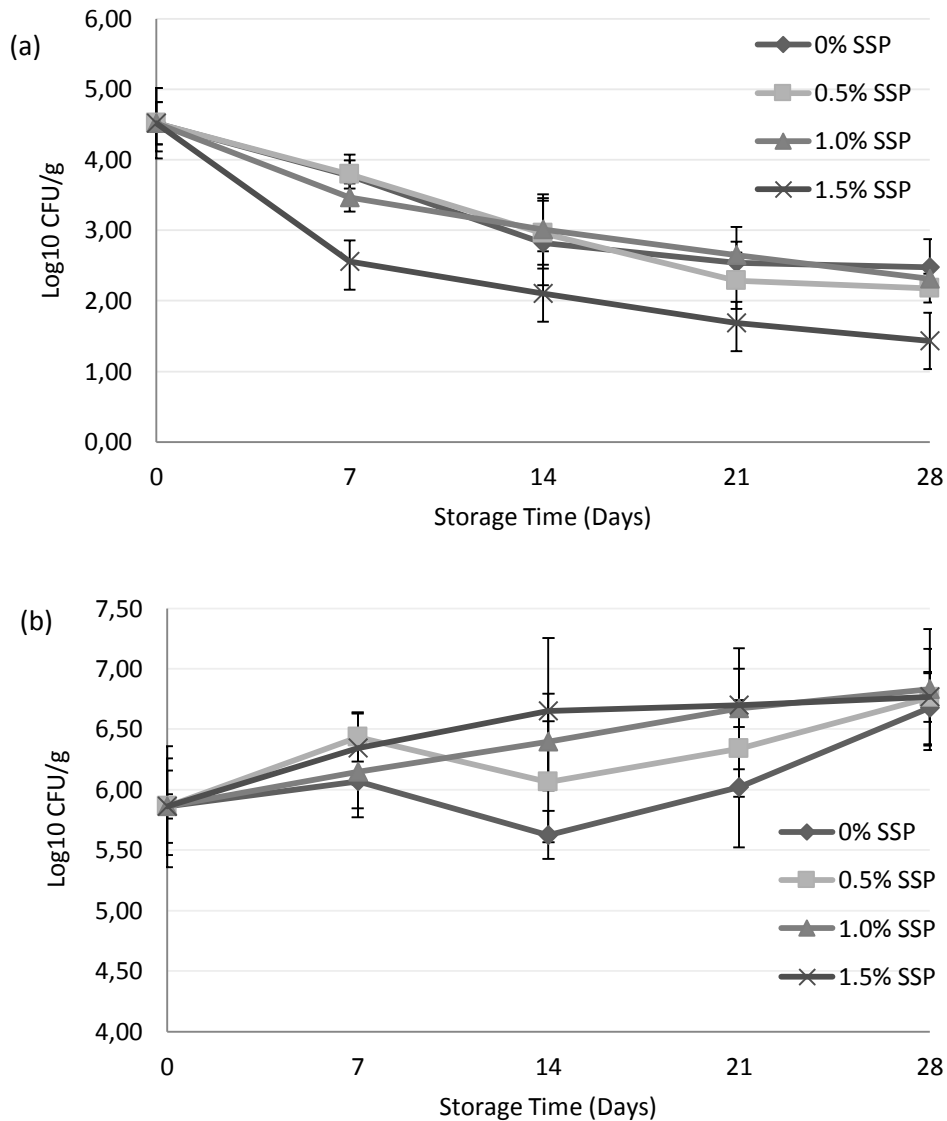


Figure 1. Effect of scallop shell powder (SSP) treatment on the growth of *Listeria monocytogenes* (a) and lactic acid bacteria (b) on the surface of Kashar Cheese

Lactic Acid Bacteria

The change in the number of lactic acid bacteria in the Kashar cheese samples treated by the SSP suspension at different concentrations (0, 0.5, 1.0, 1.5%) is shown in Figure 1b. In general, the number of lactic acid bacteria increased by approximately from 5.8 to 6.7 log CFU/g in all samples during the storage period. However, increasing concentration of SSP did not significantly affect the growth of lactic acid bacteria in the cheese ($p>0.05$). In the similar studies, the application of SSP on frankfurters or kimchis did not have a lethal effect on lactic acid bacteria [12, 15]. Occurrence of lactic acid bacteria in Kashar cheese provides preservation of the products by synthesizing antimicrobial compounds and also promotes flavor development during maturation period.

In the current study, SSP treatment limited to surface of the cheese, so that it did not affect interior part. Most of the lactic acid bacteria are facultative anaerobes and can be exist and grow inside of cheese structure. The hidden microorganism interior part could not be inactivated by SSP treatment on the surface.

Molds

In Kashar samples, the number of mold was counted as 0.47 log CFU/g at the beginning of the storage (Figure 2a). While 0.94 log CFU/g increase in the growth of mold was observed in the cheese treated by 0% and 0.5% SSP suspensions at the end of 28 d storage period, no mold growth was observed in the cheeses containing 1% and 1.5% SSP. Increasing concentration of SSP significantly decreased the growth of mold in Kashar cheese. Similarly, Bodur et al. [12] and Cagri-Mehmetoglu [15] confirmed that SSP treatment could suppress mold growth on chicken wings and frankfurters.

Mold growth on Kashar cheese is very important problem in decreasing shelf life. Vacuum packaging of cheese partially inhibits mold growth since vacuuming cannot completely suck air out due to less smooth structure of cheese [23, 24]. In the present study, on the control cheese even vacuum packaging some mold growth was also observed. SSP, which is a safe and inexpensive antimicrobial, has been proven in this study as an effective method against mold growth together with vacuum packaging. Shawai and Yoshikowa [25] also showed that SSP has the stronger antifungal effect than antibacterial effect. Alkaline effect of SSP and the generation of active oxygen such as superoxide anions from the application of SSP may have antifungal effect against mold growth.

Yeasts

The changes in the number of yeasts for 28 days of storage for Kashar cheese samples treated by SSP suspension are shown in Figure 2b. In the application, the initial number of yeasts for all cheese samples was observed to be approximately 2.76 log CFU/g, while the number of yeast increased to an average of 3.7 log CFU/g at the end of the storage. Increasing in SSP

concentration did not significantly affect the growth of yeast on the cheese ($p>0.05$).

However, in our previous studies on frankfurters and chicken wings, treatment of 0.10 or 0.50% SSP compared with the untreated control samples reduced the number of yeast cells on both products by 0.4 to 1.4 log CFU/g, respectively.

Another antimicrobial mechanism of CaO is that it strongly alkalinizes cell membrane, leading depolarization and possibly blockage of electrochemical gradient renewal by transferring calcium into the cytoplasm, rising to internal alkalization, and, to end with cell death. The proton gradient in bacteria and yeasts through the membrane is a common process; however, the growth of yeast was not prevented by CaO in the present study unlike other studies. The reason for this must be that application of CaO treatment could not show antifungal effect on yeast cells by failing internal alkalization since low pH of Kashar cheese did not allow that.

Water Activity

The water activity value of the coated Kashar cheese with SSP solution was measured around 0.90 (Table 1). Statistical analysis showed that SSP did not significantly affect water activity in the application of Kashar cheese ($p>0.05$).

pH

The pH values of the samples of the Kashar cheese samples were 5.67-5.70 at the first day; at the 28th day it was determined to be 5.69-5.68 (Table 1). A significant increase in the pH value of the first 14-day period was observed in the samples of Kashar cheese, and a decrease in the pH values was observed in the period up to 28 days after the 14th day. In general, the pH value at the end of storage was determined as 5.68. While this average value was found to be higher than the reference study, SSP suspensions prepared at a concentration of 1% and 1.5% had a significant effect on pH in Kashar cheese at the first 14 days of storage ($p<0.05$). This is due to the fact that SSP is an alkaline agent and its pH is close to 11. During the last 14 days of storage, the amount of lactic acid produced by lactic acid bacteria during the cheese ripening kept the pH balance again.

Chemical Analysis

The dry matter value of the samples of Kashar cheese was found to be 56.46% at the end of the 28th day (Table 2). Statistically, there was no effect of SSP on dry matter in Kashar cheese ($p>0.05$). Ash content of cheese treated with SSP solution at different concentration was changed from 3.07 to 4.07%. Only 14 days of storage significantly increased ash content of the cheese samples immersed into only 1.0 and 1.5% SSP suspensions. The cheese samples contain 28.92 to 31.08% fat and 2.8 to 3.2% protein. Fat and protein content of the samples significantly did not change during 28 days of storage ($p>0.05$).

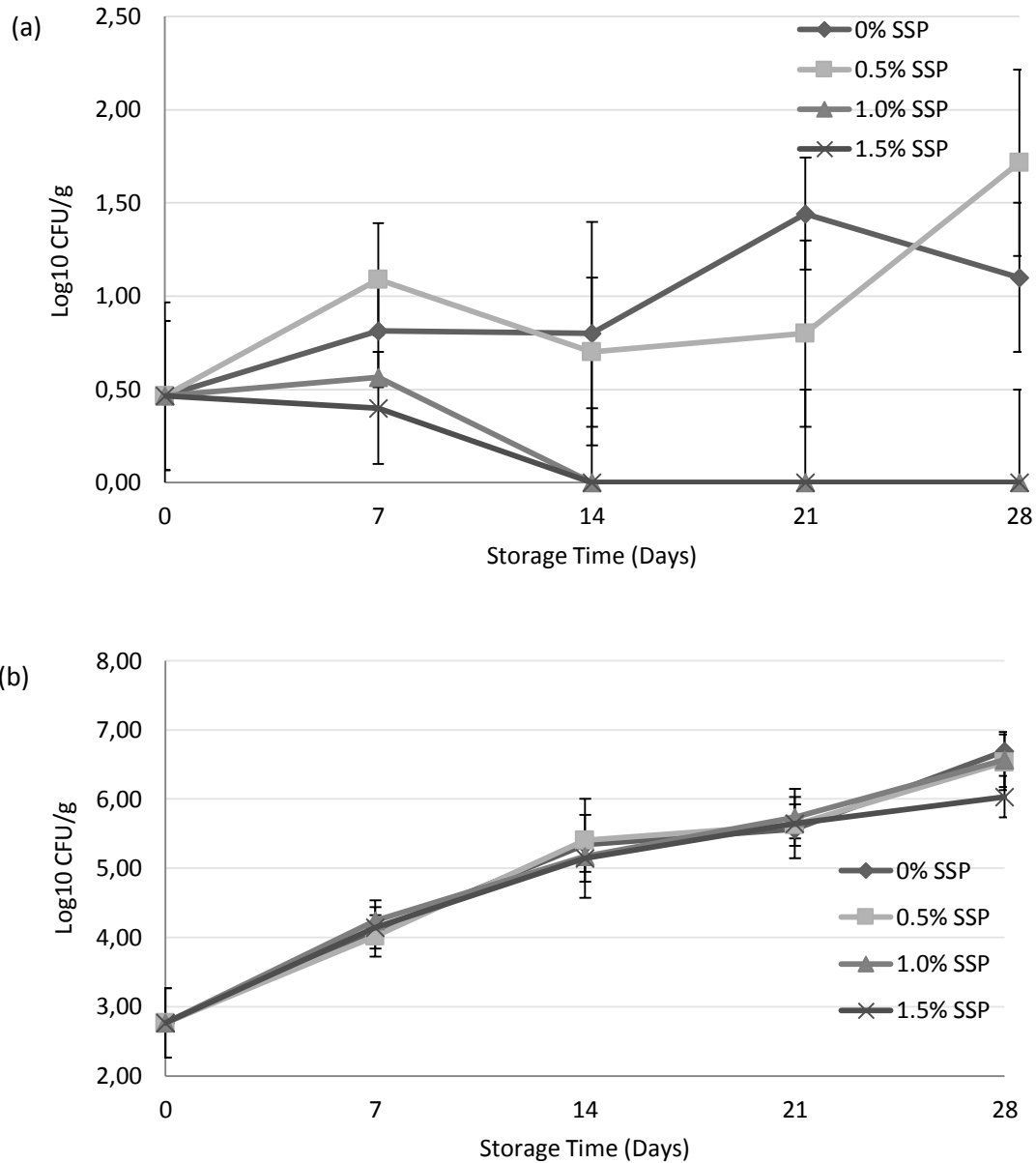


Figure 2. Effect of scallop shell powder (SSP) treatment on mold (a) and yeasts (b) growth on the surface of Kashar cheese

Table 1. The effect of scallop shell powder (SSP) application on water activity and pH of Kashar Cheese

SSP Treatment (%, w/v)	Storage Time (Day)		
	0	14	28
Water activity			
0	0.88±0.02 ^{aA}	0.89±0.008 ^{aA}	0.91±0.005 ^{aA}
0.5	0.89±0.01 ^{aA}	0.91±0.007 ^{aA}	0.91±0.002 ^{aA}
1	0.91±0.005 ^{aA}	0.91±0.004 ^{aA}	0.91±0.003 ^{aA}
1.5	0.90±0.01 ^{aA}	0.91±0.001 ^{aA}	0.91±0.008 ^{aA}
pH			
0	5.67±0.03 ^{aA}	5.73±0.01 ^{aA}	5.69±0.01 ^{aA}
0.5	5.68±0.02 ^{aA}	5.75±0.01 ^{aA}	5.68±0.02 ^{aA}
1	5.67±0.02 ^{aA}	5.81±0.01 ^{bA}	5.67±0.01 ^{aA}
1.5	5.70±0.08 ^{aA}	5.77±0.03 ^{abA}	5.68±0.05 ^{aA}

*Mean (n =3) ± Standard deviation. a, b, c, d: Different letters in the same row indicate significant differences among storage duration (p<0.05). A, B, C, D Different letters in the same column indicate significant differences among treatments (p<0.05).

Table 2. The effect of scallop shell powder (SSP) application on the chemical composition of Kashar cheese during 28 days of storage

	SSP Treatment (% w/v)	Storage Time (Day)		
		0	14	28
Dry Content (%)	0	58.85±0.56 ^{aA}	56.98±0.56 ^{bA}	56.08 ±2.40 ^{bA}
	0.5	59.16±0.89 ^{aA}	55.31±1.60 ^{bA}	56.94±1.69 ^{bA}
	1.0	59.98±0.04 ^{aA}	57.21±0.68 ^{bA}	56.44±2.01 ^{bA}
	1.5	59.91±1.30 ^{aA}	55.38±0.40 ^{bA}	56.40±2.18 ^{bA}
Fat (%)	0	28.63±0.22 ^{Aa}	28.12±0.80 ^{Aa}	30.11±0.66 ^{Aa}
	0.5	29.18±0.74 ^{Aa}	29.19±0.58 ^{Aa}	30.32±0.85 ^{Aa}
	1.0	28.13±0.63 ^{Aa}	28.55±0.70 ^{Aa}	29.67±0.88 ^{Aa}
	1.5	29.21±0.71 ^{Aa}	30.25±0.78 ^{Aa}	30.08±0.49 ^{Aa}
Ash (%)	0	3.07±0.55 ^{Aab}	3.32±0.13 ^{Aa}	3.34±0.77 ^{Aa}
	0.5	3.17±0.19 ^{Aa}	3.64±0.22 ^{Ba}	3.69±0.82 ^{Ba}
	1.0	3.59±0.28 ^{Bb}	3.82±0.68 ^{Ca}	3.88±0.22 ^{Ca}
	1.5	3.86±0.15 ^{Cb}	4.10±0.65 ^{Da}	4.07±0.41 ^{Da}
Protein (%)	0	3.27±0.61 ^{Aa}	3.36±0.33 ^{Aa}	3.37±0.29 ^{Aa}
	0.5	3.18±0.29 ^{Aa}	3.29±0.38 ^{Aa}	3.38±0.37 ^{Aa}
	1.0	3.20±0.77 ^{Aa}	3.25±0.32 ^{Aa}	3.28±0.55 ^{Aa}
	1.5	3.22±0.29 ^{Aa}	3.29±0.19 ^{Aa}	3.33±0.39 ^{Aa}

*Mean (n =3) ± Standard deviation. a, b, c, d: Different letters in the same row indicate significant differences among storage duration (p<0.05). A, B, C, D Different letters in the same column indicate significant differences among treatments (p<0.05).

Color

The color parameters of cheese are shown in Table 3. The L* values (representing brightness for cheeses) treated with SSP at different concentrations were ranged from 77 to 81. Similarly, Civelek and Cagri-Mehmetoglu [26] reported similar results that L* values for Kashar cheese stored for 56 days did not significantly changed.

During storage, the a* values indicating redness (+), greenness (-) ranged from -0.85 to -1.79 for cheese

samples. Although treatment of SSP did not statistically change the a* value of the samples, the storage of the cheese for at least 14 days significantly decreased (p<0.05). The b* values representing yellowness of the cheese samples was measured between 24.77 and 30.07. Storage of 28 days or SSP treatments did not statistically change the b* value of the samples (p>0.05). Unlike our studies, the studies usually reported that aging cheese increase yellowness (b* value) of cheese in terms of moisture loss and increased in dry matter [27, 28, 29].

Table 3. The effect of scallop shell powder (SSP) treatment on color values of Kashar cheese during 28 days of storage

	SSP Treatment (% w/v)	Storage Time (Day)		
		0	14	28
L*	0	77.64±3.34 ^{Aa}	78.10±2.07 ^{Aa}	78.22±1.27 ^{Aa}
	0.5	79.17±3.04 ^{Aa}	78.91±2.30 ^{Aa}	79.66±1.33 ^{Aa}
	1	80.83±3.11 ^{Aa}	81.06±0.85 ^{Aa}	80.81±2.05 ^{Aa}
	1.5	80.95±2.95 ^{Aa}	79.72±1.43 ^{Aa}	79.10±0.76 ^{Aa}
a*	0	-0.85±0.99 ^{Aa}	-1.66±0.44 ^{Aab}	-1.79±0.18 ^{Aab}
	0.5	-0.96±0.78 ^{Aa}	-1.55±0.98 ^{Aab}	-1.56±0.81 ^{Aab}
	1	-1.27±0.64 ^{Aa}	-1.62±0.97 ^{Aab}	-1.67±0.72 ^{Aab}
	1.5	-1.33±0.94 ^{Aa}	-1.79±0.69 ^{Aab}	-1.78±0.66 ^{Aab}
b*	0	24.77±1.34 ^{Aa}	26.17±2.07 ^{Aa}	27.43±1.28 ^{Aa}
	0.5	29.47±1.87 ^{Aa}	26.66±1.29 ^{Aa}	28.28±0.88 ^{Aa}
	1	28.18±2.39 ^{Aa}	26.13±1.92 ^{Aa}	27.55±1.19 ^{Aa}
	1.5	30.07±3.14 ^{Aa}	26.56±1.09 ^{Aa}	29.06±0.47 ^{Aa}

*Mean (n =3) ± Standard deviation. a, b, c, d: Different letters in the same row indicate significant differences among storage time (p<0.05). A, B, C, D Different letters in the same column indicate significant differences among treatments (p<0.05).

CONCLUSION

In conclusion, it is the most important finding of this study that more than 1% SSP application on Kashar surface prevented the development of *L. monocytogenes*. The other important finding is that the

mold growth was not observed on the samples of Kashar cheese treated by SSP at different concentrations. However, the growth of the yeast or lactic acid bacteria could not be inhibited by application of SSP treatment. No inhibition on the growth of the yeast and lactic acid bacteria, which are important

functions in Kashar ripening, is another important result of this study. The chemical and physical properties of the cheese samples were not significantly affected by SSP treatment. Since SSP is a safe natural product in

terms of health, it is thought to have an important role in use as an industrial food additive that can prevent the growth of *L. monocytogenes* and molds in cheese.

REFERENCES

- [1] Nizamlioğlu, M., Torlak, E. (2009). Doğal Antimikrobial maddeler ile hazırlanan yenilebilir filmlerin *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 25, 1-2; 15-21.
- [2] Ünalın, İ.U., Arcan, İ., Korel, F., Yemenicioğlu, A. (2013). Application of active zein-based films with controlled release properties to control *Listeria Monocytogenes* growth and lipid oxidation in fresh Kashar Cheese. *Innovation of Food Science and Emergency Technology*, 2, 208-214.
- [3] Akin, M.B., Çelikel, A. (2017). Yenilebilir Filmler ve Peynir Teknolojisinde Kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 7(2/2), 14-18.
- [4] Sawai, J., Shiga, H., Kojima, H. (2001a). Kinetic analysis of the bactericidal action of heated scallop-shell powder. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 211-218.
- [5] Bodur, T., Yaldırak, G., Kola, O., Çağrı-Mehmetoğlu, A. (2010). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on Frankfurters Using Scallop-Shell Powder. *Journal of Food Safety*, 30, 740-752.
- [6] Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M. (1995). Evaluation of growth inhibitory effect of ceramics powder slurry on bacteria by conductance method. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 28, 288-293.
- [7] Sawai, J., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M. (1996a). Effect of particle size and heating temperature of ceramic powders on antibacterial activity of their slurries. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29, 251-256.
- [8] Sawai, J., Kawada, E., Kanou, F., Igarashi, H., Hashimoto, A., Kokugan, T., Shimizu, M. (1996b). Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 29, 627-633.
- [9] Sawai, J., Kojima, H., Igarashi, H., Hashimoto, A., Shoji, S., Takehara, A., Sawaki, T., Kokugan, T., Shimizu, M. (1997). *Escherichia coli* damage by ceramic powder slurries. *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 30, 1034-1039.
- [10] Sawai, J., Kojima, H., Igarashi, H., Hashimoto, A., Shoji, S., Shimizu, M. (1999). Bactericidal action of calcium oxide powder. *Trans Material Research Society of Japan*, 24, 667-670.
- [11] Sawai, J., Miyoshi, H., Kojima, H. (2003). Sporicidal kinetic of *Bacillus subtilis* pore by heated scallop shell powder. *Journal of Food Protection*, 66, 1482-1485.
- [12] Bae, D.H., Yeon, J.H., Park, S.Y., Lee, D.H., Ha, S.D. (2006). Bactericidal effects of CaO (scallop-shell powder) on foodborne pathogenic bacteria. *Archives Pharmacy Research*, 29(4), 298-301.
- [13] Sawai, J., Satoh, M., Horikawa, M., Shiga, H., Kojima, H. (2001b). Heated Scallop-Shell powder slurry treatment of shredded cabbage. *Journal of Food Protection*, 64(10), 1579-1583.
- [14] Choi, T.M., Whang, J.H., Kim, J.M., Suh, H.J. (2006). The effect of oyster shell powder on the extension of the shelf-life of Kimchi. *Food Control*, 17, 695-699.
- [15] Kim, Y.S., Choi, Y.M., Noh, D.O., Cho, S.Y., Suh, H.J. (2007). The effect of oyster shell powder on the extension of the shelf life of tofu. *Food Chemistry*, 103, 155-160.
- [16] International Dairy Federation (1993). *Determination of the nitrogen (Kjeldahl method) and calculation of the crude protein content*, IDF Standard 20B. International Dairy Federation, Brussels. Belgium.
- [17] Kotterer, R., Münch, S. (1978). *Untersuchungsverfahren für das milchwissenschaftliche Laboratorium*. Verlag Thomas Mann, Hildesheim, Germany, 64 p.
- [18] Kurt, A., Cakmakci, S., Caglar, A. (1993). *Analysis and examination methods for dairy products guidebook*. Ataturk Üniversitesi, Agricultural Faculty Publication, Erzurum, Türkiye, 18p.
- [19] Freeman, B.A., Crapo, J.D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 47(5), 412-426.
- [20] Siqueira, Jr. J.F., Lopes, H.P. (1999). Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, 32(5), 361-369.
- [21] Çağrı-Mehmetoğlu, A. (2011). Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* on chicken wings using scallop-shell powder. *Poultry Science*, 90, 2600-2605.
- [22] Cetinkaya, F., Soyutemiz, G.E. (2007). Evaluation of *Listeria monocytogenes* populations during the manufacture and vacuum-packaged storage of kashar cheese. *Journal of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno*, 76(1), 143-148.
- [23] Öksüztepe, G., Patır, B., Dikici, A., İlhak, O.İ. (2009). Elazığ'da tüketime sunulan vakum paketlenmiş taze kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi*, 23(2), 89-94.
- [24] Yılmaz, F., Dagdemir, E. (2012). The effects of beeswax coating on quality of Kashar cheese during ripening. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(12), 2582-2589.
- [25] Sawai, J., Yoshikawa, T. (2004). Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductometric assay. *Journal of Applied Microbiology*, 96(4), 803-809.
- [26] Civelek, İ., Cagri-Mehmetoglu, A. (2019). Determination of antifungal effect of edible coatings containing *Williopsis saturnus* var. *saturnus* against yeast and mold growth on Kashar cheese. *Journal of Food Science*, 84(2), 311-318.

- [27] Azzam, M.A. (2007). Effect of partial replacement of milk fat with vegetable oils on the quality of processed cheese spreads. *Egypt Journal of Dairy Science*, 35, 87-95.
- [28] Abd-Rabou, F.H., Abd-El Fattah, A.M., El-Sayed, M.M., Mohamed, A.G. (2005). Improvement of nutritional value of processed cheese by using modified emulsifying salts. *Egypt Journal of Dairy Science*, 33, 87-95.
- [29] Olson, D.W., Van Hekken, D.L., Tunick, M.H., Soryal, K.A., Zeng, S.S. (2007). Effects of aging on functional properties of caprine milk made into cheddar- and colby-like cheeses. *Small Ruminant Research*, 70, 218-227.
-
-

Effect of Vacuum Cooking Process Conditions on Color, Textural, Microstructural and Sensory Properties of Beef

Esra Devseren¹ , Dilara Okut¹ , Mehmet Koç² , Haluk Karataş³ , Figen Kaymak-Ertekin¹  

¹Ege University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 35100 Bornova, İzmir, Turkey

²Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 09010 Aydın, Turkey

³Arçelik A.Ş., R&D Center, 34940, İstanbul, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 04.11.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 10.10.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): figen.ertekin@ege.edu.tr (F. Kaymak-Ertekin)

☎ +90 232 311 30 06 📠 +90 232 342 75 92

ABSTRACT

In this study, the effect of vacuum cooking conditions (temperature and time) on the color, textural, microstructural and sensory quality of beef samples was investigated. In order to determine the optimum cooking temperature (60-90°C) and time (80-120 min) for beef, an optimization study was carried out following Central Composite Rotatable Design (CCRD). The optimum vacuum cooking condition was selected as 85.6°C of cooking temperature and 106.6 min of cooking time targeting maximum chewiness (textural quality), minimum shear force (textural quality) and maximum sensory overall acceptance attributes. Considering the color values of crust and inner parts of beef samples, an insignificant difference was observed among cooking temperatures and times. However, Warner Bratzler shear force values decreased with an increase in cooking temperature. Moreover, higher cooking temperature and longer cooking time resulted in superior sensorial properties in terms of overall acceptance scores.

Keywords: Vacuum cooking, Beef, Optimization, Texture, Color

Vakum Pişirmede İşlem Koşullarının Kırmızı Etin Renk, Tekstür, Mikroyapı ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi

ÖZ

Bu çalışmada vakumlu pişirme işlem koşullarının (sıcaklık ve süre) kırmızı etin renk, dokusal, mikroyapısal ve duyusal kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. Kırmızı etin optimum pişirme sıcaklığını (60-90°C) ve süreyi (80-120 min) belirlemek için Merkezi Tümlleşik Tasarım (CCRD) ile optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimum vakum pişirme koşulu, maksimum çiğneme (dokusal kalite), minimum kesme kuvveti (dokusal kalite) ve maksimum duyusal genel kabul özelliklerini hedef alarak 85.6°C pişirme sıcaklığı ve 106.6 dakika pişirme süresi olarak belirlenmiştir. Kırmızı et numunelerinin kabuk ve iç kısımlarının renk değerleri göz önüne alındığında, farklı pişirme sıcaklığı ve süre arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Warner Bratzler kesme kuvveti değerleri, pişirme sıcaklığı arttıkça azalmıştır. Ayrıca, daha yüksek pişirme sıcaklığı ve daha uzun pişirme süresi, genel kabul puanları açısından daha iyi duyusal özellikler ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Vakum pişirme, Kırmızı et, Optimizasyon, Tekstür, Renk

INTRODUCTION

Cooking process provides many positive effects on meat quality such as enhancing taste and flavor, improving digestibility, ensuring microbiological safety and increasing shelf life. During the cooking process, the meat undergoes some changes in its physical properties (i.e. color, texture) and it is subjected to chemical reactions (i.e. protein denaturation, Maillard reactions) that influence its final quality and acceptability such as aroma formation, shrinkage, firmness, changing in the amount of fat and protein fractions, increasing in pH, losses of minerals and changing of microbiological load [1]. It is well known that cooking conditions (time and temperature) and cooking methods are among the factors that mostly affect the final quality of meat products [2].

Cooking method of meat is generally determined according to the basic traits related to consumer preferences as flavour, tenderness, colour and appearance [3, 4]. The most preferred cooking methods are grilling, sauteing, and deep fat frying and boiling. In the grill type cooking method using a high heat source, the formation of dangerous carcinogenic mutagenic agents (PAH, HCA) is accelerated [5].

An alternative cooking method, called vacuum boiling or cooking, has been applied in haute cuisine restaurants from the beginning of its development to prevent the formation of unhealthy substances caused by high temperatures. Vacuum boiling consists of cooking in boiling water at below 100°C by lowering the pressure to reach the vapour pressure of water. The low pressure is maintained during cooking by the continuous function of the pump. Few scientific studies have been found in the literature about the application of this technique to cook vegetables and fruits in water [3, 6, 7]. Vacuum cooking of meat has not been commonly used in the food processing industry. The purpose of vacuum cooking of meat is to decrease the temperature to be applied to a level at which the quality deteriorations are minimized. However, a study about vacuum cooking of meat is not available in the literature.

Low-temperature heating methods provide juicy meat by improving the water holding capacity of the muscle tissue during cooking. Below 60°C, mainly transverse muscle fiber shrinkage occurs while at higher temperatures a severe longitudinal shrinkage takes place, which significantly reduces cooking yield [8, 9]. Furthermore, higher cooking temperatures lead to myofibrillar protein alterations with a toughening effect [10], which can be avoided under low temperature conditions. Maintaining these low core temperatures for a prolonged time has a tenderizing effect, which is mainly caused by a weakening in connective tissue strength [11-13].

The primary aim of the present study was to investigate the effects of vacuum cooking conditions on color, textural, microstructural and sensory quality of beef. Secondly, the optimum vacuum cooking condition (time and temperature) was determined, following Central

Composite Rotatable Design (CCRD), targeting maximum chewiness (textural quality), minimum shear force (textural quality) and maximum sensory overall acceptance attributes. The determination of optimum process conditions with regards to energy efficiency and food quality will provide the available data for the food industry in future studies.

MATERIALS and METHODS

Materials

Beef eye of round (semitendinosus muscle) was purchased from a local butcher, in Izmir, Turkey shortly after slaughter. Samples were obtained daily and stored at 4°C before the cooking process.

Design of the Vacuum Cooking Equipment Prototype

A vacuum cooking equipment prototype was designed and developed for cooking, frying and evaporation purposes, which can operate in a wide range of vacuum pressure and atmospheric pressure as well. The schematic diagram of this equipment was given in Figure 1. The same equipment was used to produce strawberry jam as discussed by Okut et al. [14] and to cook peas and carrots as given by Koç et al. [15]. The developed equipment made up a 6 L vessel equipped with a reductor mixer that worked in the 0–50 Hz range continuously or batch, an electrical heater with 1.5 kW power, an oily type vacuum pump of 0.41 kW power and a condenser of 1 kW power. PLC system was used to control mixer rate, vacuum level and cooking time, while PID system was used to control the electrical heater. The internal temperature of the cooker, vapor temperature at the condenser's exit and the internal pressure of the cooker were recorded per each 3 s.

Cooking Methods

Raw beef was cut into 2x2x1 cm quadratic slices to obtain homogeneously cooked beef pieces. The beef pieces were weighed as 200 g and put into a cooking basket. The cooking basket was stand up until the cooking water reached the desired temperature and then the basket was pulled down into the cooking water without allowing the vacuum to be broken.

Beef samples were cooked at different temperatures and times under vacuum to understand the effect of the process conditions on cooking quality. The vacuum pressure inside the cooker was applied according to the vapor pressure of water for each cooking temperature, therefore absolute pressure was varied in the range of 20 to 70 kPa (for vacuum method, absolute pressure was 20, 25, 40, 60, 70 kPa at 60, 64.4, 75, 85.6 and 90°C, respectively). The process conditions of vacuum cooking method were arranged according to CCRD experimental design as shown in Tables 1, 3 and 5

All cooking experiments were performed in replicate for each operating condition, besides each analysis in thrice.

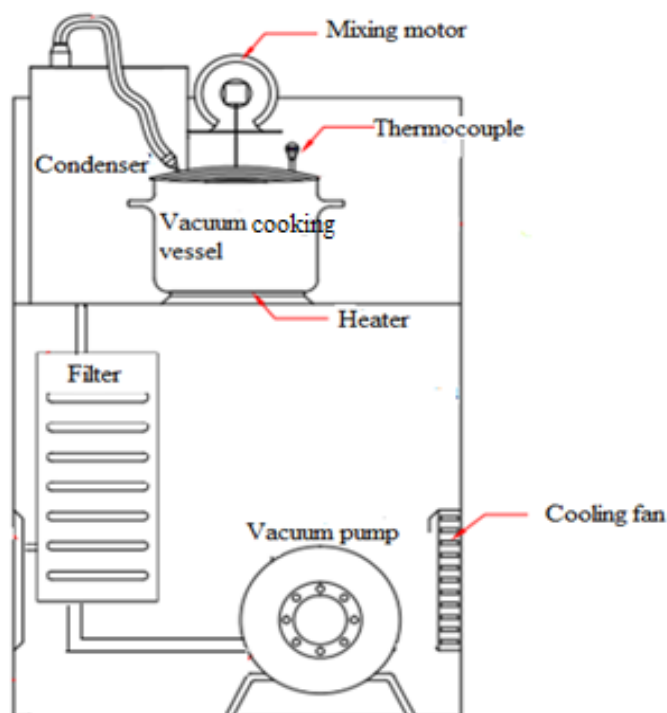


Figure 1. Vacuum cooking equipment prototype

Analyses

Color Analysis

The color was measured on the surface of the cooked samples using a colorimeter (Minolta, DP-40 Konica Minolta, Osaka, Japan) as Commission Internationale de l'éclairage (CIE) Lab color parameters, L^* (lightness), a^* (redness), b^* (yellowness). The measurements of the outer and the inner part of the cooked beef pieces were repeated at four randomly selected locations on each sample. The color intensity (Chroma, C^*) values were calculated with Eq. 1 [16-17].

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

Texture Analysis

Texture analysis was performed by means of both Warner Bratzler shear test (WB) and Texture Profile Analysis (TPA), using TA.XT2 Texture Analyzer (Texture Analyzer TA.XT2, Stable Micro Systems, Haslemere, UK) with a 30 kg load cell for each cooked sample and raw beef sample before the cooking process. Samples were kept 2 h at room temperature after cooking and then cut into pieces of 1x1x2 cm for the WB shear test and 1x1x1cm for TPA. WB shear test was achieved using Warner-Bratzler knife with triangular cut-out, perpendicularly to the direction of the muscle-fiber arrangement with the following testing procedure: pre-test speed 2 mm/s, test speed 1.5 mm/s and trigger force 20 g. The maximum shear force (WBSF) required to shear the sample and the work after the maximum force were measured and that work was taken as a measure of toughness.

TPA was performed using a 36 mm diameter of cylindrical probe with the following settings: pre-test speed 1 mm/s, test speed 1 mm/s, time interval between first and second stroke 3 s, trigger force 5 g and final strain 80%. TPA parameters of hardness, adhesiveness, chewiness, springiness and cohesiveness were determined from the force-time plot of TPA curves. Hardness (N) was defined as the force required during the first compression. Adhesiveness (g.s) was the negative force area under the baseline between the compression cycles representing the work necessary to pull the compressing plunger away from the sample if the material exhibits stickiness during decompression. Springiness, the rate at which sample returns to original shape after compressions, was calculated from the ratio of time difference of the second cycle to the first cycle. Cohesiveness, a measure of the internal strength of the bonds that make up the product, was the ratio of the positive area of the second cycle to the positive area of the first cycle. There are no units for springiness and cohesiveness. Chewiness (N) was the product of hardness (N), springiness and cohesiveness. 10 sample cuts were analyzed for each cooking test [18].

Microstructure

Microstructure measurements of the raw and cooked meat samples were carried out by using Micro Computer Tomography (Micro-CT) equipment (Scanco Medical μ CT 50, Switzerland). 3D models were created with the images received cross-section of the sample by using X-rays [19].

Sensory analysis

Sensory analysis was carried out for appearance, color, hardness (texture), smell, taste and overall acceptance by 10 semi-trained panelists [20]. The intensity of the properties was determined using a 5-point hedonic scale (1 being the lowest and 5 the highest). The overall acceptance of samples was evaluated in terms of surface color, textural properties, and juiciness of samples. Two sessions per day were conducted in which four or five randomly three digits coded samples during sessions were evaluated in random order with 2 h break between sessions. Sensory analyses were carried out at daylight and room temperature [21].

Experimental Design and Statistical Analysis

Response surface methodology (RSM) was used to investigate the main effects of the independent variables (cooking temperature and time) on the shear force, chewiness and the sensory quality of the meat during cooking of beef samples. Cooking temperature (60-90°C) and cooking time (80-120 min) were chosen as independent variables with respect to literature research and pre-elementary tests. A Central Composite Rotatable Design (CCRD) was performed that includes 13 experiments formed by 5 central points (Table 1).

For vacuum cooking, all experimental data were fitted to a second-order polynomial model. Regression coefficients were obtained for each response. Significant terms in the models were found through analysis of variance (ANOVA) by using Design Expert Ver. 7.0.0 software.

For each result ANOVA at a confidence level of 95% was carried out. Also, one sample t-test was evaluated using SPSS version 13.0 Windows program (SPSS Inc., Chicago, IL) to test the significant differences between the results estimated by model and obtained by optimum point experiments.

Optimization

Numerical methods were used for optimization (desirability function) [22]. At least five experiments were followed out at the optimum point as determined by the model (the optimum process conditions) and the optimum point was confirmed experimentally. In this study, desirability functions were evaluated for the criteria of maximum chewiness, minimum shear force and maximum sensory attributes. Response surface graphs and contour lines that helps to determine the optimum point is plotted using models obtained by regression analysis.

RESULTS and DISCUSSION

The color, textural and sensorial properties of the beef samples cooked under vacuum at different experimental conditions are given in Tables 1, 3 and 5. For the determination of the statistical significance of the model terms and to fit the model, ANOVA and regression analysis were carried out, as given in Tables 2, 4 and 6. The quadratic polynomial model represented significantly the experimental values of responses at $p < 0.05$ levels, besides the lack of fit of models were not significant.

Table 1. Crust and inner part color (CIE L*, a*, b*) and color intensity (C*) values of the beef samples cooked under vacuum at different conditions

Temperature (°C)	Time (min)	Crust				Inner part			
		L*	a*	b*	C*	L*	a*	b*	C*
64.4	85.9	58.93	8.56	13.45	15.85	62.54	10.41	11.53	15.62
85.6	85.9	48.92	11.49	10.80	15.86	52.21	9.64	12.08	15.49
64.4	114.1	56.69	9.41	12.19	15.48	61.09	7.70	11.16	13.67
85.6	114.1	49.96	7.08	12.87	14.84	58.06	8.67	12.14	14.98
60.0	100.0	61.45	6.92	11.84	13.75	62.36	10.03	11.45	15.37
90.0	100.0	51.57	12.32	12.33	17.70	55.74	9.40	11.38	14.88
75.0	80.0	35.82	4.86	9.50	10.67	38.82	5.20	7.91	9.54
75.0	120.0	52.58	10.78	13.65	17.54	58.07	8.11	11.24	13.85
75.0	100.0	49.88	11.79	12.39	17.40	57.93	9.11	12.09	15.16
75.0	100.0	53.97	8.55	13.52	16.14	60.67	8.61	11.85	14.71
75.0	100.0	53.59	7.97	13.46	15.78	61.04	7.68	11.49	13.87
75.0	100.0	51.18	8.93	13.86	16.61	58.27	8.24	12.29	14.85
75.0	100.0	55.92	7.26	13.42	15.28	58.14	8.98	11.38	14.54

Consumers have been advised that the absence of pink color can be an indicator of thorough cooking (internal temperature of 717C, USDA, 1994). However, we have observed a red internal color in patties cooked to 717C. This phenomenon seemed to be more frequent in products containing 20% fat (Berry, 1992, 1994; Berry and Stanfield, 1993). Consumers have been advised that the absence of pink color can be an indicator of thorough cooking (internal temperature of 717C, USDA, 1994). However, we have observed a red internal color in patties cooked to 717C. This phenomenon seemed to be more frequent in products containing 20% fat (Berry, 1992, 1994; Berry and Stanfield, 1993).

Color measurement in cooked meat products can provide reliable information about eating quality attributes and consumer acceptance. Because of the absence of pink color seems an indicator of appropriate cooking of the meat product by consumers. The results

of color evaluation on cooked beef samples under vacuum are given in Table 1 for all vacuum cooking conditions. The CIE color values of raw beef were 45.98 ± 1.02 (L*), 19.83 ± 1.56 (a*), and 12.03 ± 0.70 (b*). Prior to the vacuum cooking process, all samples were

stored and prepared at the same conditions, so the initial myoglobin's redox state for all samples could be accepted as same. The redox state of beef muscle myoglobin affects cooked color because each derivative differs in its thermal stability [23].

When the results of ANOVA were evaluated, it was determined that the crust color values of beef samples (L^* , a^* , b^* and C^*) could not be explained with quadratic model ($p > 0.05$). For the inner part, only L^* values of beef pieces were found to be in agreement with the

quadratic model ($p < 0.05$) and these values were affected by cooking temperature and time at significant level ($p < 0.05$) (Table 2).

No significant difference was generally observed among cooking temperatures and times ($p > 0.05$) with respect to the color values of crust of beef samples. Similarly, Becker et al. [24] found that there were insignificant differences in a^* and b^* values of pork meat between heated for 20 h at 53°C and low temperature heated to 60°C core temperature.

Table 2. ANOVA results for color analysis of vacuum cooked beef

Variation source	p - values							
	Crust			Inner part				
	L^*	a^*	b^*	C^*	L^*	a^*	b^*	C^*
Model	0.053	0.567	0.077	0.458	0.010*	0.352	0.301	0.347
X_1	0.036*	0.242	0.636	0.372	0.015*	0.849	0.633	0.91
X_2	0.099	0.480	0.036*	0.153	0.008*	0.903	0.167	0.412
$X_1 X_2$	0.707	0.287	0.111	0.863	0.285	0.506	0.838	0.642
X_1^2	0.143	0.607	0.193	0.878	0.555	0.123	0.789	0.296
X_2^2	0.061	0.630	0.066	0.228	0.011	0.178	0.071	0.093
Lack of fit	0.061	0.181	0.077	0.022*	0.106	0.028*	0.013*	0.007*

* Significant differences at 0.05 levels X_1 : Temperature (°C), X_2 : Time (min)

The lowest a^* value (redness) of the inner part and the crust of beef were found at 70°C for 80 min cooking. The amount of myoglobin, its redox status and the heat-dependent denaturation have determined the red color of cooked meat [25]. The redness is influenced by the heat treatment, the cooking method, the cooking time and temperature. An increase in cooking temperature increases the brown color and decreases the pink color [10]. According to Hunt et al. [23], deoxymyoglobin, which is predominant redox state of myoglobin immediately after cutting, denatures at temperatures of 65 to 75°C. In this study, a^* value of raw beef was 19.83 ± 1.56 and all the vacuum cooked beef had lower a^* value than the raw beef. It can be explained that the vacuum cooking above 60°C might denature major amounts of myoglobin. However, no significant changes were observed in the a^* values of beef samples with the cooking temperature and time (Tables 1 and 2). The shorter cooking time might play a role in the reduced a^*

values. The lower a^* values of the samples may be explained by the short cooking time and also the effect of vacuum that might reduce the redness probably linked to a different protein denaturation pattern. Increasing of cooking temperature of samples caused a decrease in L^* values. Also, L^* values of inner part of beef samples were found to be higher than the crust of the samples. Moreover, the beef pieces cooked at 75°C and 80 minutes had lower b^* and C^* values. This could be explained with the myoglobin denaturation of meat during cooking, which changes from bright red or pink colors to more opaque brown colors or paler shades when meat is cooked.

However, as Van Laak et al. [26] investigated a red internal color in patties cooked to 71°C, we also determined the same phenomenon for the beef pieces cooked at 75°C as well. This phenomenon has been related with the products containing 20% fat [27].

Table 3. WBSF (N) and TPA results of beef cooked under vacuum at different conditions

Temperature (°C)	Time (min)	Shear Force (N)	Hardness (N)	Adhesiveness (dimensionless)	Chewiness (N)	Springiness (dimensionless)	Cohesiveness (dimensionless)	Gumminess (N)
64.4	85.9	71.59	258.4	-2.41	72.23	0.51	0.60	144.9
85.6	85.9	50.37	156.03	-0.74	38.39	0.45	0.55	85.56
64.4	114.1	59.43	193.47	-1.95	57.78	0.49	0.56	107.15
85.6	114.1	33.03	199.6	-1.23	55.14	0.51	0.54	108.10
60.0	100.0	63.26	190.98	-2.41	52.46	0.46	0.57	103.54
90.0	100.0	31.51	154.8	-1.04	37.92	0.52	0.53	82.14
75.0	80.0	60.18	226.44	-2.06	64.45	0.49	0.58	131.64
75.0	120.0	46.35	213.95	-0.24	65.92	0.56	0.55	118.40
75.0	100.0	50.6	252.32	-2.04	67.19	0.46	0.58	145.33
75.0	100.0	45.6	230.20	-2.27	65.24	0.50	0.57	131.28
75.0	100.0	49.02	252.72	-2.49	71.17	0.49	0.56	142.78
75.0	100.0	56.18	254.96	-2.91	71.89	0.50	0.57	145.12
75.0	100.0	49.08	247.91	-3.48	73.59	0.50	0.59	146.89

In literature, textural properties of cooked meat are generally related with zoo technical characteristics of the animal [28], anatomical characteristics such as type of muscle, factors external to the animal, as handling and feeding characteristics, or technological characteristics

like electrical stimulation [29] or cooking method [30, 31]. The hardness (N) and WBSF (N) values of vacuum cooked beef determined by TPA and WB shear tests are given in Table 3, respectively.

Table 4. ANOVA results for texture analysis of vacuum cooked beef

Variation source	p - values						
	Shear force	Hardness	Adhesiveness	Chewiness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess
Model	0.000*	0.000*	0.032*	0.000*	0.247	0.003*	0.000*
X ₁	<0.000*	0.001*	0.030*	0.001*	0.553	0.001*	0.002*
X ₂	0.001*	0.215	0.156	0.663	0.093	0.009*	0.096
X ₁ X ₂	0.462	0.001*	0.425	0.003*	0.172	0.161	0.002*
X ₁ ²	0.583	<0.000*	0.091	<0.000*	0.589	0.010*	<0.000*
X ₂ ²	0.051	0.015*	0.013*	0.141	0.246	0.456	0.012*
Lack of fit	0.763	0.47	0.497	0.515	0.106	0.966	0.497

* Significant differences at 0.05 levels; X₁: Temperature (°C), X₂: Time (min)

During cooking, hardening of myofibrillar proteins due to increasing of internal temperature has a toughening effect on meat muscle. WBSF (N) is especially taken as an indicator of hardness and gives more information on the extent of denaturation of the myofibrillar proteins that resulted in shrinkage of the muscle fibers, in comparison with alterations of connective tissue component (i.e. collagen shrinkage and gelatinization) after cooking of meat. It was determined that WBSF (N) decreased with increase in cooking temperature (Table 3). On the other hand, both cooking temperature and time were found to have a significant effect on the WBSF of the cooked beef samples ($p < 0.05$) (Table 4). Belew et al. [32] have categorized the WBSF results of 40 bovine muscles based on confidence intervals reported earlier by Shackelford et al. [33]. According to the categorization, shear force lower than 31.38 N determined as “very tender”, 31.38 < shear force < 38.25 N as “tender”, 38.25 < shear force < 45.11 N as “intermediate” and higher than 45.11 N as “tough”. In this study, only the beef samples vacuum cooked at 85.6°C for 114.1 min and 90°C for 100 min meet the criteria for “tender” category. WBSF results showed that vacuum cooked beef samples except above conditions were determined as “tough”. This could be attributed to the low fat content of the beef pieces used in this study. It has been agreed that low fat beef was not appropriate for vacuum cooking method. Since *Semitendinosus muscle* is mainly composed of myofibrillar proteins, WBSF values might be more determinant parameters than hardness

values obtained from TPA for the correct evaluation of the hardness of meat. Similarly, Fabre et al. [34] found that the WBSF value of *Semitendinosus muscle* was determined 46,1 N for water bath method. In addition, they indicated that different cooking methods and muscle types had a significant effect on WBSF values.

According to ANOVA results, cooking temperature had a significant ($p < 0.05$) effect on the hardness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess and chewiness values of the vacuum cooked beef samples (Table 4). However, only the springiness values did not vary with the cooking temperature and time ($p > 0.05$). The reason of statistically undifferentiated springiness values might be explained by the high core temperatures of samples that were already exceeded myosin and α -actinin denaturation temperature in all cooking temperatures [35] because the minimum core temperature was chosen 65°C for all cooking experiments except sample 90°C/100 min. Chewiness (N), calculated using hardness as a factor, which suggests resistance to compression force was probably the main textural property determining tenderness characteristics of beef. As seen in Table 3, chewiness and gumminess (N) values showed a significant decrease with the cooking temperature increased ($p < 0.05$). The lowest chewiness and gumminess values were obtained at 90°C/100 min. It could be explained that cooking temperature effect on fiber shrinkage.

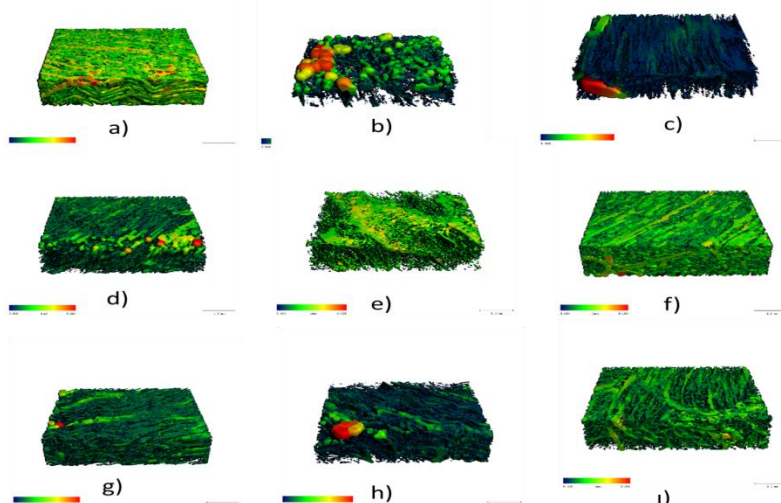


Figure 2. Micro-CT images of vacuum cooked beef a) 64.4°C-85.9 min; b) 85.6°C-85.6 min; c) 64.4°C -114.1 min; d) 85.6°C-114.1 min; e) 60°C-100 min; f) 90°C-100 min; g) 75°C-80 min; h) 75°C-120 min; i) 75°C-100 min

Microstructure of foods is considered as two-phase random media composed of a void phase (i.e., the pores) and a solid and/or liquid matrix phase (i.e., cells, cell walls, crystals, globules, oil droplets, etc.). The complex three-dimensional (3D) architecture of pores and matrix elements greatly affects the physical, sensorial and chemical properties of the food [36]. The microstructure of food changes because of simultaneous heat and mass transfer during cooking process. These changes play a key role in the formation of textural structure [37]. That's why, the structural changes in beef during cooking was analyzed with Micro Computer Tomography (Micro-CT) in this study. Micro-CT images of vacuum cooked beef are shown in Figure 2. In these images, the change of colors from blue to red indicated to enlarge the pore diameter of beef. The pore diameters increased with an increase in vacuum

cooking temperature, but it was not exactly affected by cooking time. It could occur because both the loss of connection and breakage between the myofibrils and cooking loss can be observed in some areas, in addition to the appearance of some empty intercellular spaces.

Similarly, Christensen et al. [38] have observed that increasing cooking time has a smaller effect on diameter changes than the increased temperature and, thus in the pork longissimus heated at 53-59°C there were no clear differences in fiber diameter as cooking time was increased from 3 to 20 h. In the lamb longissimus cooked at 60, 70 or 80°C (6, 12 or 24 h of cooking), the fibers in micrographs were found to be smaller at 60°C, and no significant effect of time of cooking was determined [39].

Table 5. Sensory analysis results of vacuum cooked beef at different conditions

Temperature (°C)	Time (min)	Appearance	Color	Smell	Texture	Taste	Overall acceptance
64.4	85.9	2.17	2.33	2.33	2.3	2.17	2.33
85.6	85.9	3.10	3.00	3.30	3.50	2.90	3.63
64.4	114.1	2.63	2.63	3.13	2.13	2.13	3.00
85.6	114.1	4.17	4.17	4.00	4.39	4.00	4.38
60.0	100.0	2.40	2.30	2.30	2.60	2.40	2.50
90.0	100.0	3.80	3.30	3.40	4.20	3.60	3.88
75.0	80.0	3.50	3.44	3.22	3.28	3.50	3.19
75.0	120.0	3.50	3.33	3.50	3.83	3.50	3.83
75.0	100.0	3.20	3.20	2.80	3.30	3.10	3.38
75.0	100.0	3.20	3.60	3.60	3.10	3.30	3.60
75.0	100.0	3.33	3.50	2.67	3.33	3.00	3.75
75.0	100.0	2.83	3.17	2.83	3.00	3.00	3.25
75.0	100.0	3.17	3.33	3.17	3.50	3.50	3.50

Table 6. ANOVA results for sensory analysis of vacuum cooked beef

Variation Source	p-value					
	Appearance	Color	Smell	Texture	Taste	Overall acceptance
Model	0.013*	0.013*	0.045*	0.004*	0.026*	0.001*
X ₁	0.001*	0.003*	0.008*	0.000*	0.003*	<0.000*
X ₂	0.113	0.143	0.079	0.128	0.314	0.003*
X ₁ X ₂	0.340	0.167	0.882	0.113	0.143	0.831
X ₁ ²	0.435	0.028*	0.638	0.862	0.166	0.063
X ₂ ²	0.378	0.982	0.160	0.632	0.728	0.959
Lack of fit	0.088	0.108	0.751	0.105	0.088	0.530

* Significant differences at 0.05 levels; X₁: Temperature (°C), X₂: Time (min)

Sensory evaluation was conducted to test the consumer's acceptance on the sensory properties of vacuum cooking beef in terms of appearance, color, smell, texture, taste and overall acceptance. 5-point (1=dislike very much, 5=like very much) hedonic scale was used to assess the overall liking of vacuum cooked beef samples and results are given in Table 5. Texture of beef is one of the most important criteria for consumer acceptance. A beef with rough is not acceptable by consumers. As seen in Table 5, the vacuum cooked beef sample at 85.6°C for 114.1 min possessed the highest for all sensory quality parameters. This condition is the combination of the highest temperature and time under vacuum. Texture scores increased with increasing cooking time and temperature; however cooking temperature was the most effective parameter on the texture and it was found

to be statistically significant ($p < 0.05$) (Table 5-6). In addition, correlation coefficients determined between texture scores and WBSF values were -0.89. The negative correlation indicated that consumer acceptance decreased with increasing WBSF values. Similarly, overall acceptance scores increased with increasing cooking time and temperature and these two variables were found to be statistically significant ($p < 0.05$) (Table 6). For appearance, color, smell, texture and taste scores, only cooking temperature was found to be statistically significant ($p < 0.05$) and these scores increased with increasing cooking temperature (Tables 5-6).

Vacuum cooked beef at low cooking temperature caused hardening of the tissue, leading to undesirable color, texture and mouthfeel. These undesired

properties affected the quality characteristics of the beef and caused low scores given by the panelists.

Optimization

The optimum vacuum cooking process conditions in terms of cooking temperature and time were determined with targeting minimum shear force, maximum chewiness and maximum sensorial overall acceptance. The optimization procedure was performed with Design Expert version 7.0 software (Stat-Ease Inc., MN, USA). Second-order polynomial model was used for each response for determining the optimum point. Response

surface and counter plot of chewiness, sensory overall acceptance and WBSF of vacuum cooked beef are given in Figure 3. As seen in Figure 3, a decrease in cooking temperature and time resulted in higher chewiness. Besides, the cooking temperature was found to be the most effective parameter on chewiness. The sensory overall acceptance score of the cooked beef increased linearly with increasing cooking temperature and time. At the maximum point of cooking time and temperature, the overall acceptance value reached the highest level. Besides, increased cooking time and temperature caused to decrease in the WBSF values.

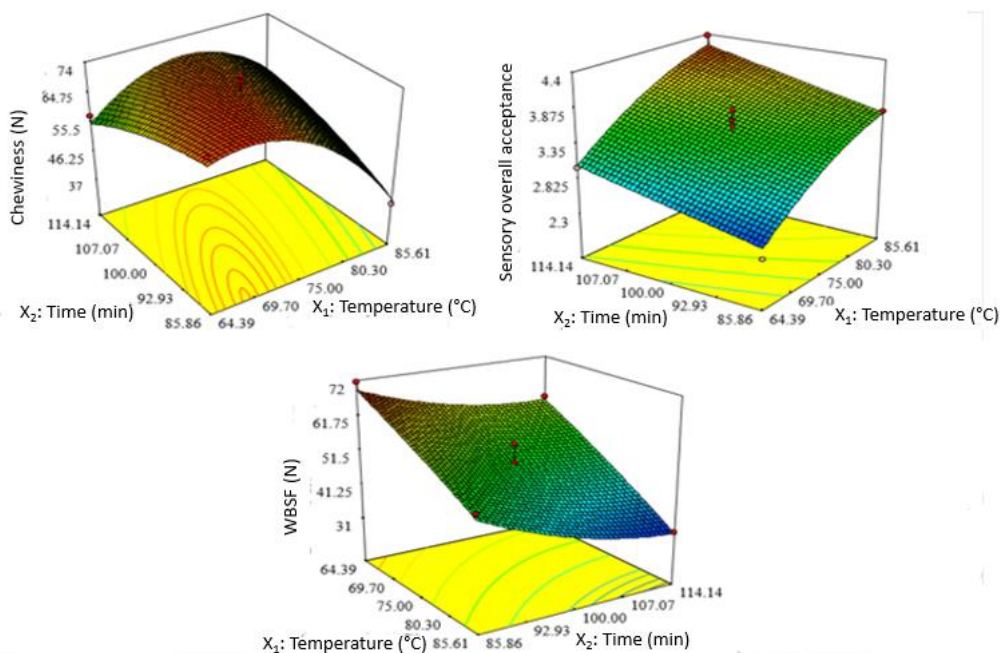


Figure 3. Response surface and contour plot of vacuum cooked beef

Table 7. Results of statistical analysis for verification of the optimization results

Responses	Predicted value	Experimental value ^a	SE ^b	Difference	% Error ^c	p value
WBSF	34.73	36.34	1.903	-1.61	0.044	0.446
Chewiness	53.98	52.95	0.043	0.07	0.018	0.179
Overall acceptance	4.06	3.99	1.390	1.03	0.020	0.499

^a Experimental values were given as mean ± standard deviation; ^b Mean standard error; ^c %Error - $(|y_{exp} - y_{pre}| / y_{exp}) * 100$

The desirability function approach was applied to obtain the optimum point solution given in Table 7. The optimum point of cooking temperature and cooking time was found to be 85.6°C and 106.6 min. The WBSF value, the chewiness and the sensorial overall acceptance at the optimum point were determined as 34.73 N, 53.98 N and 4.06, respectively. The results of the five validation experiments at optimum vacuum cooking process conditions were also given in Table 7, comparatively as average results and the estimated values. The WBSF, the chewiness and the sensorial overall acceptance of the obtained samples were found to be not significantly ($p > 0.05$) different from the predicted values determined by Design Expert.

According to the results of the validation test, it has been verified that the difference between all the

responses and the estimated values from the model was not statistically significant ($p > 0.05$). This result clearly showed that the optimization process was confirmed by verification trials.

CONCLUSION

In this study, the effects of vacuum cooking method on color, textural, microstructural and sensorial quality of beef were investigated. CCRD experimental design was used to determine the effects of vacuum cooking independent variables (temperature and time). Moreover, the optimum vacuum cooking process conditions were chosen with targeting maximum chewiness, minimum shear force and maximum sensory overall acceptance attributes. According to the results of the optimization study, cooking temperature of 85.6°C

and cooking time of 106.6 min. were found to be optimum point for vacuum cooking method of beef.

Vacuum cooked beef samples except the samples cooked at 85.6°C for 114.1 min and 90°C for 100 min were found to be tough according to Warner Bratzler Shear Force (WBSF) results. This has been related with the low fat content of the beef samples. In future studies, beef samples with higher fat content could be evaluated to determine the effect of vacuum cooking method on the textural quality of beef in a better way. Beef sample vacuum cooked at 85.6°C for 114.1 min has the highest overall sensory quality scores. This result is a clear understanding of higher cooking temperature and longer time leads to better textural quality and cooked color perception due to protein denaturation for vacuum cooking method. Even if the color properties and the Micro-CT results did not show a significant difference with cooking temperature and time, vacuum cooking method still could be an alternative to traditional cooking method in terms of better sensorial quality and healthier cooking conditions.

Acknowledgements

This research was financially supported by Ministry of Science, Industry and Technology, Republic of Turkey SAN-TEZ project (Project No: 0724.STZ.2014) and a white goods company of Arçelik A.Ş.

REFERENCES

- [1] Haskaraca, G., Kolsarıcı, N. (2013). Sous vide teknolojisi ve et teknolojisinde uygulama olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8(2), 39-49.
- [2] Chiavaro, E., Rinaldi, M., Vittadini, E., Barbanti, D. (2009). Cooking of pork Longissimus dorsi at different temperature and relative humidity values: Effects on selected physico-chemical properties. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 158-165.
- [3] Garcia-Segoiva, P., Andres-Bello, A., Martinez-Monzo, J. (2008). Textural properties of potatoes (*Solanum tuberosum* L., cv. Monalisa) as affected by different cooking processes. *Journal of Food Engineering*, 88, 28-35.
- [4] Modzelewska-Kapituła, M., Dąbrowska, E., Jankowska, B., Kwiatkowska, A., Cierach, M. (2012). The effect of muscle, cooking method and final internal temperature on quality parameters of beef roast. *Meat Science*, 91(2), 195-202.
- [5] Babür, T.E., Gürbüz, Ü. (2015). Geleneksel pişirme yöntemlerinin et kalitesine etkileri. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 3(4), 58-64.
- [6] Iborra-Bernad, C., Tarrega, A., Garcia-Segovia, P., Martinez-Monzo, J. (2014). Comparison of Vacuum Treatments and Traditional Cooking Using Instrumental and Sensory Analysis. *Food Analysis Methods*, 7(2), 400-408.
- [7] Martinez-Hernandez, G.B., Artés-Hernández, F., Gómez, P.A., Artés, F. (2013). Quality changes after vacuum-based and conventional industrial cooking of kailan-hybrid broccoli throughout retail cold storage. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2), 707-714.
- [8] Offer, G., Restall, D., Trinick, J. (1984). Water-holding in meat. London: The Royal Society of Chemistry.
- [9] Palka, K. Daun, H. (1999). Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine M. semitendinosus during heating. *Meat Science*, 51, 237-243.
- [10] Bejerholm, C., Torngren, M.A., Aaslyng, M.D. (2014). Cooking of meat. In M. Dikeman, & C. Devine (Eds.), *Encyclopaedia of meat sciences* (pp. 370–376) (2nd ed.). Oxford: Academic Press.
- [11] Becker, A., Boulaaba, A., Pingen, S., Röhner, A., Klein, G. (2015). Low temperature, long time treatment of porcine M. longissimus thoracis et lumborum in a combi steamer under commercial conditions. *Meat Science*, 110, 230-235.
- [12] Christensen, L., Ertbjerg, P., Loje, H., Risbo, J., Van den Berg, F.W., Christensen, M. (2013). Relationship between meat toughness and properties of connective tissue from cows and young bulls heat treated at low temperatures for prolonged times. *Meat Science*, 93(4), 787-795.
- [13] Roldan, M., Antequera, T., Martin, A., Mayoral, A.I., Ruiz, J. (2013). Effect of different temperature–time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93(3), 572-578.
- [14] Okut, D., Devseren, E., Koç, M., Özdestan Ocak, Ö., Karataş, H., Ertekin, F. (2018). Developing a vacuum cooking equipment prototype to produce strawberry jam and optimization of vacuum cooking conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 90-100.
- [15] Koç, M., Baysan, U., Devseren, E., Okut, D., Atak, Z., Karataş, H., Ertekin, F. (2017). Effects of different cooking methods on the chemical and physical properties of carrots and green peas. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 109-119.
- [16] Hunter, R.S. (1975). Scales for the measurements of color difference. The Measurement of Appearance. Virginia, pp 162-193.
- [17] CIE (1978). International commission on illumination, recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Supplement No. 15 to CIE publication (E-1.3.1) 1971/(TO-1.3) Paris, France: Bureau Central de la CIE.
- [18] İşleroğlu, H., Kemerli Kalbaran, T., Ertekin, F. (2015). Effect of Steam Assisted Hybrid Cooking on Textural Quality Characteristics Cooking Loss and Free Moisture Content of Beef. *International Journal of Food Properties*, 18, 403-414.
- [19] Alam, T., Takhar, P.S. (2016). Microstructural Characterization of Fried Potato Disks Using X-Ray Micro Computed Tomography. *Journal of Food Science*, 81(3), E651-E664.
- [20] Lawless, H.T., Heymann, H. (1998). Sensory Evaluation of Food: Practices and Principles. Food Science Texts Series. Chapman and Hall. New York.
- [21] Amerine, M.A., Pangborne, R.M., Roessler, E.B. (1965). Principles of Sensory Evaluation of Food; Academic Press: New York, NY, 602 p.

- [22] Derringer, G., Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214-219.
- [23] Hunt, M.C., Sorheim, O., Slinde, E. (1999). Color and heat denaturation of myoglobin forms in ground beef. *Journal of Food Science*, 64(5), 847-851.
- [24] Becker, A., Boulaaba, A., Pingen, S., Krischek, C., Klein, G. (2016). Low temperature cooking of pork meat-Physicochemical and sensory aspects. *Meat Science*, 118, 82-88.
- [25] King, N.J., Whyte, R. (2006). Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, 71(4), R31-R40.
- [26] Van Laack, R.L., Berry, B.W., Solomon, M.B. (1996). Effect of precooking conditions on color of cooked beef patties. *Journal of Food Protection*, 59(9), 976-983.
- [27] Berry, B.W., Stanfield, M.S. (1993). Variation in cooking time, internal endpoint temperature and internal cooked color of ground beef patties. *Journal of Animal Science*, 71(Suppl 1), 151.
- [28] Huff, E.J., Parrish, F.C. (1993). Bovine longissimus muscle tenderness as affected by postmortem aging time, animal age and sex. *Journal of Food Science*, 58(4), 713-716.
- [29] Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Murray, A.C., Jones, S. D.M. (1992). The effect of ractopamine on myofibre distribution and morphology and their relation to meat quality in swine. *Meat Science*, 31(4), 397-409.
- [30] Sanudo, C., Monson, F., Panea, B., Pardos, J.J., Olleta, J.L. (2003). Estudio textural de la carne de vacuno. I. Analisis instrumental. [A textural study of bovine meat. Instrumental analysis]. *Informacion Tecnica Economica Agraria*, 24, 28-30.
- [31] Huidobro, F.R., Miguel, E., Blazquez, B., Onega, E. (2005). A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Science*, 69, 527-536.
- [32] Belew, J.B., Brooks, J.C., McKenna, D.R., Savell, J.W. (2003). Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Science*, 64(4), 507-512.
- [33] Shackelford, S.D., Morgan, J.B., Cross, H.R., Savell, J.W. (1991). Identification of threshold levels for warner-bratzler shear force in beef top loin steaks. *Journal of Muscle Foods*, 2(4), 289-296.
- [34] Fabre, R., Dalzotto, G., Perlo, F., Bonato, P., Teira, G., Tisocco, O. (2018). Cooking method effect on Warner-Bratzler shear force of different beef muscles. *Meat Science*, 138, 10-14.
- [35] Chang, H., Wang, Q., Xu, X., Li, C., Huang, M., Zhou, G., Dai, Y. (2011). Effect of heat-induced changes of connective tissue and collagen on meat texture properties of beef semitendinosus muscle. *International Journal of Food Properties*, 14 (2), 381-396.
- [36] Datta, A.K. (2016). Toward computer-aided food engineering: Mechanistic frameworks for evolution of product, quality and safety during processing. *Journal of Food Engineering*, 176, 9-27.
- [37] Derossi, A., Nicolai, B., Verboven, P., Severini, C. (2017). Characterizing apple microstructure via directional statistical correlation functions. *Computers and Electronics in Agriculture*, 138, 157-166.
- [38] Christensen, L., Bertram, H.C., Aaslyng, M.D., Christensen, M. (2011). Protein denaturation and water-protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine Longissimus dorsi. *Meat Science*, 88, 718-722.
- [39] Roldan, M., Antequera, T., Martin, A., Mayoral, A.I., Ruiz, J. (2013). Effect of different temperature-time combinations on physicochemical, microbiological, textural and structural features of sous-vide cooked lamb loins. *Meat Science*, 93(3), 572-578.

Nickel and Copper Removal from Aqueous Media using Polyaniline/Sugar Beet Pulp (PANI/SBP) Composite

Kevser Isık Yigit , Songul Sen Gursoy  

Department of Chemistry, Faculty of Arts & Science, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, TR-15030 Burdur, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 21.05.2020, Accepted (Kabul Tarihi): 12.11.2020✉ *Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): ssen@mehmetakif.edu.tr (S. Sen Gursoy)*

☎ +90 248 213 30 30 📠 +90 248 213 30 99

ABSTRACT

In this study, polyaniline/sugar beet pulp (PANI/SBP) composites were synthesized, and the potential use of composites was determined for the removal of copper [Cu (II)] and nickel [Ni (II)] from wastewater. The structural and morphological properties of composites were determined by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Scanning Electron Microscope (SEM), respectively. The metal removal of composites from aqueous solutions was monitored by Ultraviolet Visible Absorption Spectrometer (UV-Vis). At this stage, some parameters, such as adsorbent dosage, stirring speed and contact time, the initial concentration of metal solutions and pH, were changed, and the most suitable condition was selected for metal removal. Metal removal from wastewater was determined by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) at optimum conditions. FTIR and SEM results supported the formation of PANI/SBP composites. Under optimum conditions, ICP-OES results for wastewater treated with PANI/SBP composite showed that this composite can be used for the removal of copper and nickel from wastewater.

Keywords: Polyaniline, Sugar beet pulp, Copper, Nickel, Adsorption

Polianilin/Şeker Pancarı Posası (PANI/SBP) Kompoziti Kullanılarak Sulu Ortamdan Nikel ve Bakırın Uzaklaştırılması

ÖZ

Bu çalışmada polianilin/şeker pancarı posası (PANI/SBP) kompozitleri sentezlenmiş ve atık sudan bakır ve nikelin uzaklaştırılmasında kompozitlerin potansiyel kullanımı araştırılmıştır. Kompozitlerin yapısal ve morfolojik özellikleri sırasıyla Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Sulu çözeltilerden metal uzaklaştırma çalışmaları Ultraviyole Görünür Absorpsiyon Spektrometresi (UV-Vis) ile izlenmiştir. Bu aşamada adsorban dozajı, karıştırma hızı ve karıştırma süresi, metal çözeltilerin başlangıç konsantrasyonu ve pH gibi bazı parametreler değiştirilerek metal uzaklaştırma için optimum koşullar belirlenmiştir. Atık sudan metal uzaklaştırma çalışmaları, Endüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile optimum koşullarda gerçekleştirilmiştir. FTIR ve SEM sonuçları, PANI/SBP kompozitlerinin oluşumunu desteklemektedir. Optimum koşullarda, PANI/SBP kompoziti ile muamele edilmiş atık su için elde edilen ICP-OES sonuçları, kompozitin atık sudan bakır ve nikelin uzaklaştırılmasında kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Polianilin, Şeker pancarı posası, Bakır, Nikel, Adsorpsiyon

INTRODUCTION

Some cellulosic agricultural waste materials such as sugarcane bagasse, rice husk, sawdust, coconut husk, etc., have been used as cost-effective sorbents for the removal of heavy metals from industrial waste water due to their several advantages [1-4]. They have some functional groups to bind metal ions (i.e. carboxylic and hydroxy). Modification of these materials can be made easily with various chemicals and materials to increase the adsorption capacity. Sugar beet pulp (SBP) is one of these cellulosic waste materials. SBP is the remaining waste material after taking as many crystals as possible from sugar beet syrup prepared in factories under technological and economic conditions. This waste material is used substantially for animal feeding. SBP consist of functional groups associated with heavy metals binding. Especially carboxyl groups have a great biosorption and heavy metal removal potential capacity [5]. So that, the sugar beet pulp has been widely used in many studies for heavy metal removal [6-8].

Water pollution by heavy metal ions is increasingly becoming a major environmental problem because of the high toxicity of some of these elements and their tendency to accumulate through the food chain due to their high solubility in the aqueous phases, affecting all living organisms in a given ecological system. In the recent years, a great number of adsorptive materials have been used as effective materials for heavy metal removal. Among these materials there has been an increase research interest in the use of conductive polymers such as polyaniline (PANI) in the removal of heavy metals [9, 10]. The advantages of PANI are different structures, special doping mechanism and excellent environmental stability of PAN. Additionally, aniline is cheap and polyaniline can be easily prepared and coated chemically on cellulosic substrates [11-13]. These distinctive properties of PANI make it a good candidate for metal adsorption on it.

The aim of this study was to determine the potential use of PANI/SBP composite for the removal of Ni (II) and Cu (II) from aqueous solution. The adsorption process was specifically designed with respect to the effect of factors such as pH, adsorbent dosage, contact time and initial concentration on metal removal. PANI/SBP composite was characterized structurally and morphologically by FTIR and SEM analysis, respectively. In addition, PANI/SBP was used for the removal of the Ni (II) and Cu (II) from industrial wastewater.

EXPERIMENTAL

Instrumentation

PANI, SBP and PANI/SBP composite were characterized by scanning electron microscope (SEM) and Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy in

detail. The morphological structures of samples were determined by Philips XL 30S FEG model SEM (FEI-Phillips, Hillsboro, Oregon, USA). The structural analysis of samples was performed by Perkin-Elmer Spectrum BX model FTIR spectrometer (HP91Q) (PerkinElmer, Waltham, Massachusetts, USA). Adsorption studies were monitored by PG Instruments Limited T60UV model UV-Vis spectrometer (PG Instruments Limited, UK). Metal treatment of PANI/SBP composite was achieved by Bandelin Sonorex RK 52 model ultrasonic bath (Bandelin Electronic Co., Berlin, Germany). pH measurements were performed by Hanna Instruments 2211 pH/ORP model pH meter (Hanna Instruments, Smithfield, RI, USA). The real water sample was analyzed by Optima 8000 model Inductively Coupled Plasma Optic Emission Spectrometer (ICP-OES) (Perkin Elmer, CT, USA) to confirm the UV-vis analysis of sample.

Reagents and Solutions

Aniline (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was purified by distillation at reduced pressure before it was used. Nickel(II) chloride hexahydrate ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Merck, Darmstadt, Germany) and Copper(II) chloride dihydrate ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck, Darmstadt, Germany) were used without further purification. Ammonium peroxydisulfate ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$), was purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Double-distilled water was used for preparation of solutions. Methanol was purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

Synthesis of Polyaniline

The ratio of monomer to oxidizing agent was 2. Aniline (2 mmol) was dissolved in 125 mL 1 M H_2SO_4 . The solution was maintained in an inert N_2 atmosphere during 15 minutes. Polymerization was initiated by the drop wise addition of (1 mmol) ammonium peroxydisulfate ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) as the oxidizing agent in 125 mL 1 M H_2SO_4 under constant stirring at 0-5°C. The reaction mixture was kept under constant stirring for 4 h. After polymerization period methanol was added to the mixture to precipitate the composite. The precipitated polymer was filtered and washed in goach crucible with distilled water prior to filtration. Finally, the composite was dried at 50°C for 24 h under vacuum environment.

Synthesis of Polyaniline/Sugar Beet Pulp Composite (PANI/SBP)

Sugar beet pulp was dried and ground until getting shape like flour (Figure 1). Then, 2.5 g ground sugar beet pulp was added into 125 mL 1 M H_2SO_4 solution containing 2 mmol aniline. After that stage, polymerization process was same with polyaniline. Synthesized composite was stored at room temperature for use in adsorption studies.

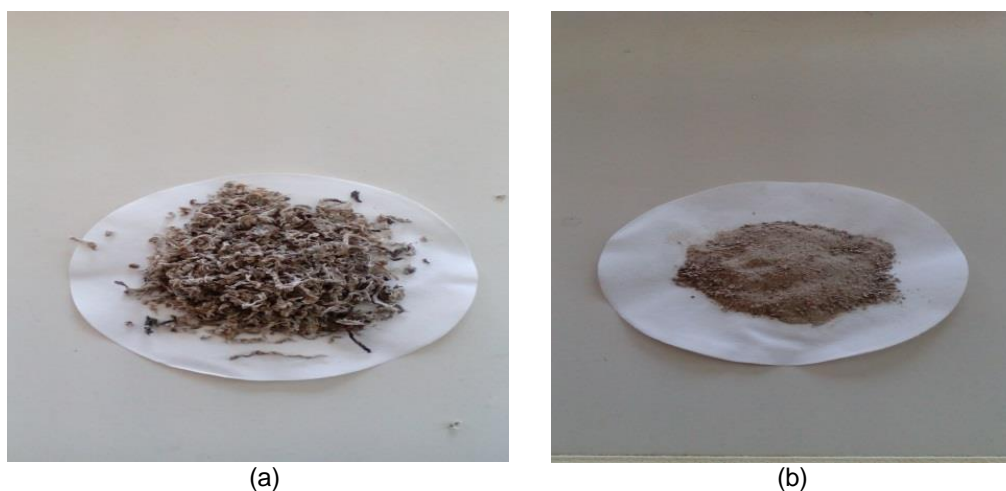


Figure 1. (a) Dried and (b) ground sugar beet pulp

Batch Experiments for the Removal of Nickel and Copper from Aqueous Media

To conduct adsorption studies, Ni(II) (50 mg/L) and Cu(II) (50 mg/L) solutions were prepared in distilled water. To examine the influence of pH on the adsorption properties of PANI/SBP, 25 mL of Cu (II) and Ni (II) aqueous solutions at different pH were taken and 0.20 g PANI/SBP was added on it and mixed for 45 minutes at room temperature. Then, the mixture was filtered and heavy metal ion concentrations in the filtered solution were determined by UV-Vis technique. After determining the appropriate pH value, a calibration graph was prepared and experiments were repeated by changing

contact time, stirring speed, adsorbent dosage and initial concentrations. All experiments were duplicated. The removal efficiencies of the Ni (II) and Cu(II) ions were determined using the following expression (1):

$$\text{Removal efficiency} = [(C_0 - C_e) / C_0] \times 100 \quad (1)$$

where C_0 (mg/L) and C_e (mg/L) are the initial and final concentrations (at any time) of Ni(II) and Cu(II) ions before and after adsorption, respectively. The pH of the metal solutions was adjusted using saturated HCl or NaOH solutions. The working ranges for optimized parameters were shown at Table 1.

Table 1. Working ranges for studied parameters

Parameters	Ni(II)	Cu(II)
pH	6-8	4-7.5
Adsorbent dosage (g)	0.03-0.10	0.05-0.20
Contact time (min)	30-60	15-60
Mixing speed (rpm)	200-400	200-400
Initial concentration (mg/L)	25-75	25-75

Ni (II) and Cu(II) Removal from Wastewater

The adsorption capacity of PANI/SBP composite was tested at optimum conditions for real wastewater and the results monitored with the ICP-OES instrument. The Ni(II) and Cu(II) contaminated wastewater was received from the Organized Industrial Region, Burdur, Turkey. Experiments were performed to purify 25 mL wastewater by applying the optimum conditions.

RESULTS and DISCUSSION

Characterization

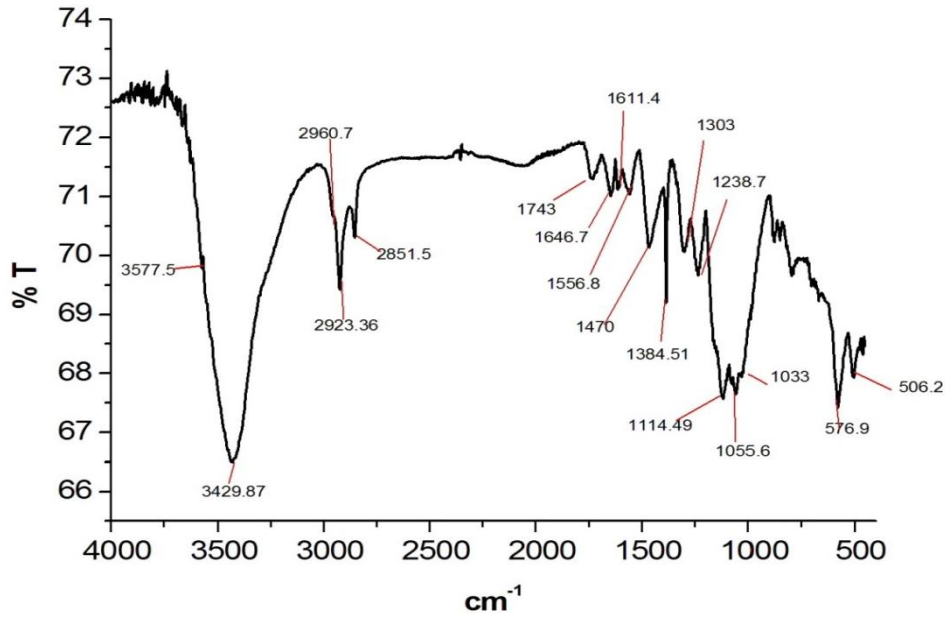
FTIR Results

Structural characterizations of PANI and PANI/SBP composites were obtained by FTIR analysis (Figure 2a-c). FTIR spectra show that both quinoidal and benzoid stretching clearly exist which indicating the polymer is in the form of emeraldine base (EB) [14]. Base form of

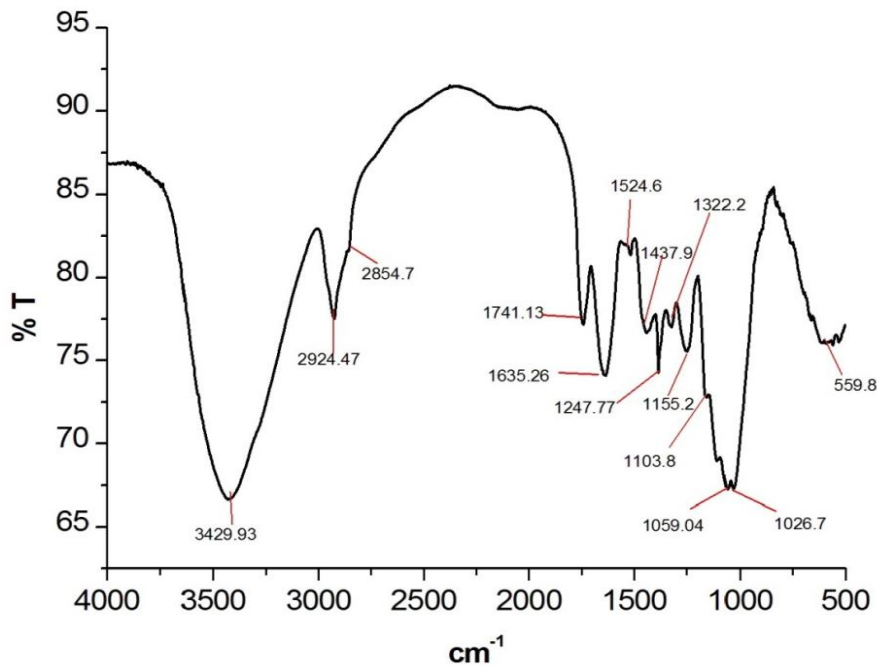
PANI has five important regions in FTIR; the first region is attributed to N-H stretch in benzenoid-N-H-benzenoid units (B-NH-B) in the range of 3500-3100 cm^{-1} . The main absorbance peaks are located at 3429 cm^{-1} and 3430 cm^{-1} in this range for PANI and PANI/SBP, respectively. The second region is in the range of 3100-2800 cm^{-1} which shows the C-H stretch. The absorbance of PANI is even weaker in this region (Figure 2b). The third region is from 1600 to 1450 cm^{-1} ; aromatic ring stretch, N-H deformation and C=N stretch are vibrations that give absorption in this region. The bands at 1556 cm^{-1} and 1632 cm^{-1} which are seen in PANI/SBP composite spectrum are belong to benzenoid ring stretch and quinoid ring stretch (Figure 2c). The fourth region is belongs to C-N stretch (from 1400 to 1240 cm^{-1}) for aromatic amines. Self-conducting PANI shows three characteristic peaks in this region which are at 1303 cm^{-1} , 1384 and 1238 cm^{-1} . These bands are seen in the PANI/SBP composite at 1309, 1384 and 1238 cm^{-1} , respectively. The last region is from 1200 to 500 cm^{-1} , that is the C-H in-plane and out-of-plane

bending vibrations in aromatic rings. For intrinsic conducting PANI, the main absorbance bands are located at 1150 and 800 cm^{-1} and some other bands can also be seen [15, 16]. The band at 1114 cm^{-1} for PANI is described as the 'electronic-like band' by the MacDiarmid group and is considered as a measure of the degree of delocalization of electrons on the PANI [17]. It can be evaluated as the characteristic band of PANI conductivity [18]. This band is around 1155 cm^{-1} in composite. The bands at about 800 cm^{-1} and 500 cm^{-1} are due to the C-H out-of-plane bending and the aromatic ring deformation, respectively. The band at

1741 cm^{-1} in the spectrum of SBP was attributed to ester groups of hemicelluloses and the ester linkage of carboxylic groups in lignin [19]. The band referred to benzenoid ring stretch and quinoid ring stretch at 1646 cm^{-1} for PANI shifted to 1632 cm^{-1} for PANI/SBP composite. Similarly, the band at 1055 cm^{-1} that belongs to C-H in-plane and out-of-plane bending vibrations in aromatic ring for PANI shifted to 1051 cm^{-1} for composite. As a result, it is supported by FTIR results that PANI forms PANI/SBP composites by being properly coated on sugar beet pulp by a chemical polymerization method.



(a)



(b)

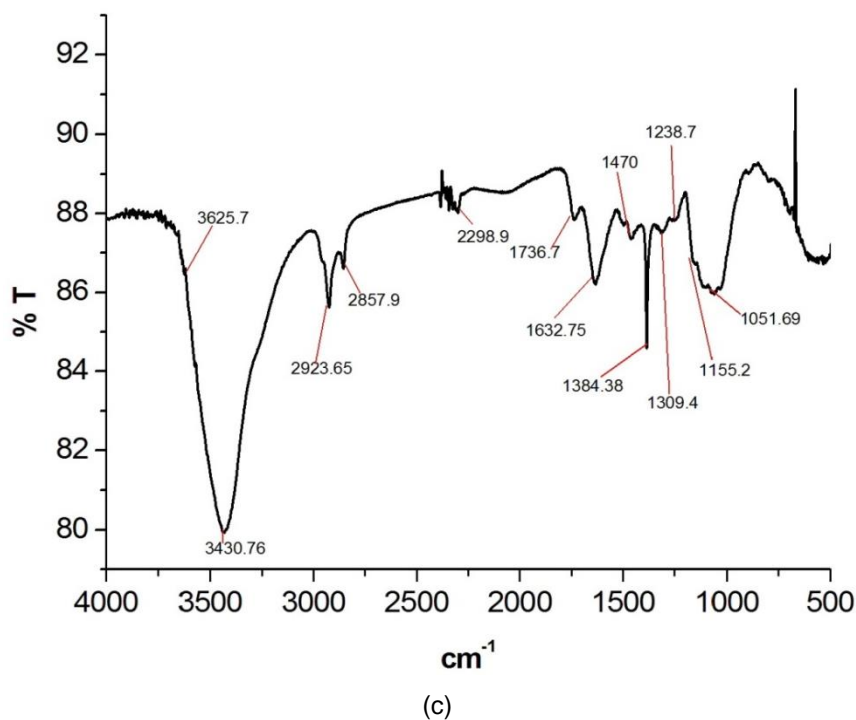


Figure 2. FTIR spectra of (a) Polyaniline (PANI), (b) Sugar beet pulp (SBP) and (c) PANI/SBP

SEM Results

SEM micrographs of PANI, SBP and PANI/SBP are shown in Figure 3(a-e). The SEM image of the PANI is shown in Figure 3(a), indicating that the material is made of capsule, granular and porous surface particles [20]. The micrograph of sugar beet pulp exhibits a homogeneous sponge-like native structure results from the destructuring undergone by the beet during the industrial sugar extraction process. The typical rectilinear cellulose fibrous structure was not observed (Figure 3b) [21]. When the surface morphology of PANI/SBP was examined, it can be seen that the PANI particles were homogeneously distributed in SBP morphology (Figure 3c). This structure supported the formation of composite. Besides, surface topography of PANI/SBP, before and after treated with metals was observed that the morphology was affected. After treating with Ni (II), minor changes in morphology were observed (Figure 3d). However, marked differences were observed between PANI/SBP and Cu(II) treated PANI/SBP (Figure 3e) such as a very rigid and solid surface structure.

Adsorption Studies

Effect of pH

The pH of the working solution is one of the most important parameters in the metal adsorption processes. Aqueous solution pH affect the chemical speciation of the metal ions and the surface charge characteristics of functional groups onto the adsorbent surface [22, 23]. The effect of pH on the adsorption of metal ions was studied and indicated in Figure 4a, b. The experiments

were performed with different solution pH values ranged between 6-8 and 4-7.5 for Ni(II) and Cu(II), respectively.

It was observed that an increase in pH supports the removal of nickel metal until pH 7.5, and adsorption decreases above pH 7.5. Optimum pH value was determined as 7.5 for Ni(II). This optimum pH value is in harmony with the literature [24]. It was that pH increase negatively affects the removal of copper metal from aqueous solutions, and the highest removal is at pH 4. In the adsorption experiment, when the pH value was greater than 7, there was a significant decrease in the adsorption percentage. The reason for this is that if the pH value is greater than 7, the OH⁻ ion dominates and creates competition for OH⁻ and Cu (II) ions between the adsorbent surface and the solution. As a result, the adsorption of Cu (II) ions on the surface decreases. This result is in good agreement with some previous studies [25]. It is seen that the adsorption of Cu (II) ions at pH 4 is 55.01% and at pH 5 it is 52.45%. Since there is not much difference between the adsorption values of pH 4 and pH 5, the optimum pH was determined as 5.

Effect of PANI/SBP Dosage

Adsorbent dosage is one of the most important variables, which specifies the capacity of an adsorbent for metal solutions at optimum condition. After determining the optimum pH values, the effect of adsorbent dosage on the removal of metal ions was investigated (Figure 5). The effect of different adsorbent dosages on the removal of Ni (II) and Cu (II) from copper and nickel solutions at the initial concentration were investigated. Maximum adsorption values were determined by using different adsorbent dosages at optimum pH. Adsorbent dosage was tested in the range

of 0.05-0.2g in removing copper ions [25]. The optimum adsorbent dosage was determined as 0.15g. Adsorbent dosage was in the range of 0.03-0.1g for the removal of nickel ions [24]. Since 94.88% of nickel ions are removed at 0.05g, the optimum adsorbent dosage was determined as 0.05g. The removal of Ni (II) ions decreases after 0.05 g PANI/SBP. This may be due to

the fact that the adsorption capacity is not fully utilized at higher adsorbent dosages in comparison to lower adsorbent dosages. These results may be due to the overlapping of the adsorption sites as a result of overcrowding of adsorbent particles [26].

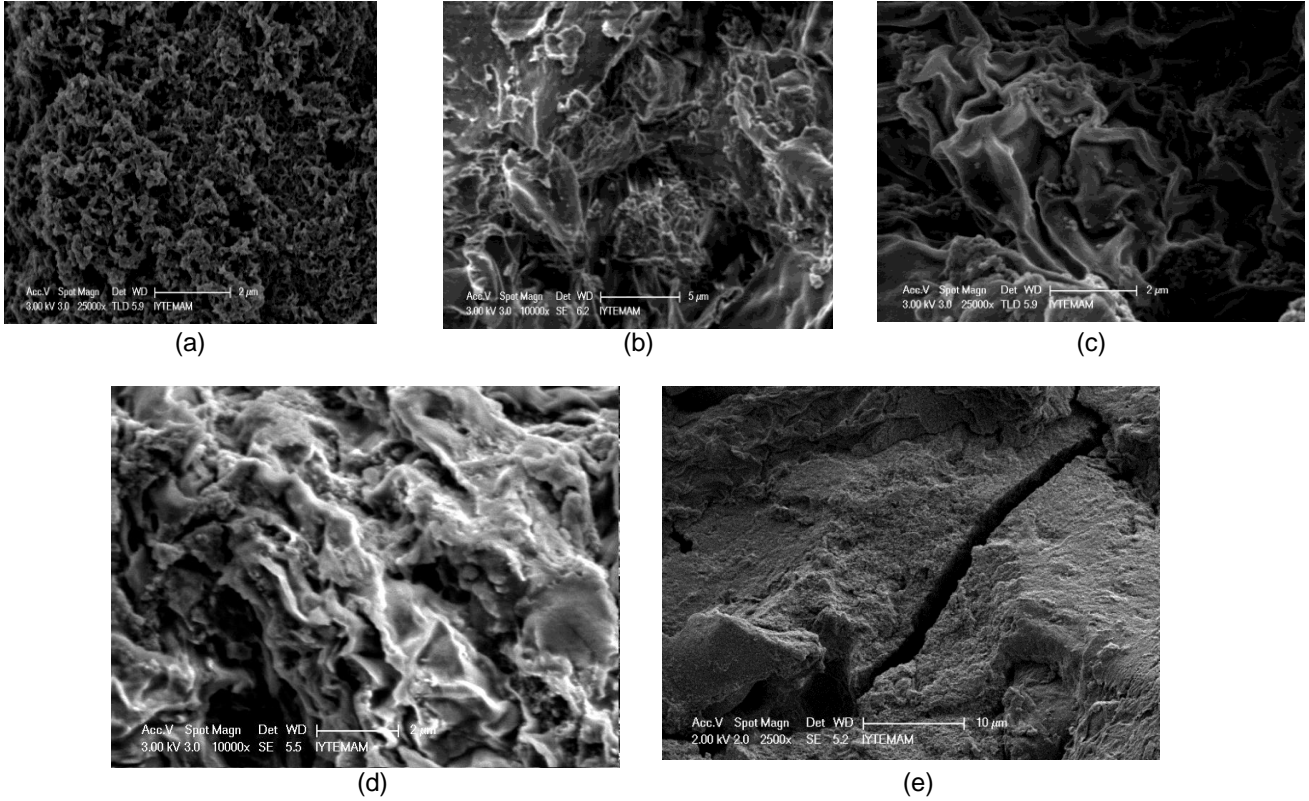


Figure 3. SEM images of (a) PANI, (b) SBP, (c) SBP/PANI, (d) SBP/PANI treated with Ni(II) and (e) SBP/PANI treated with Cu(II)

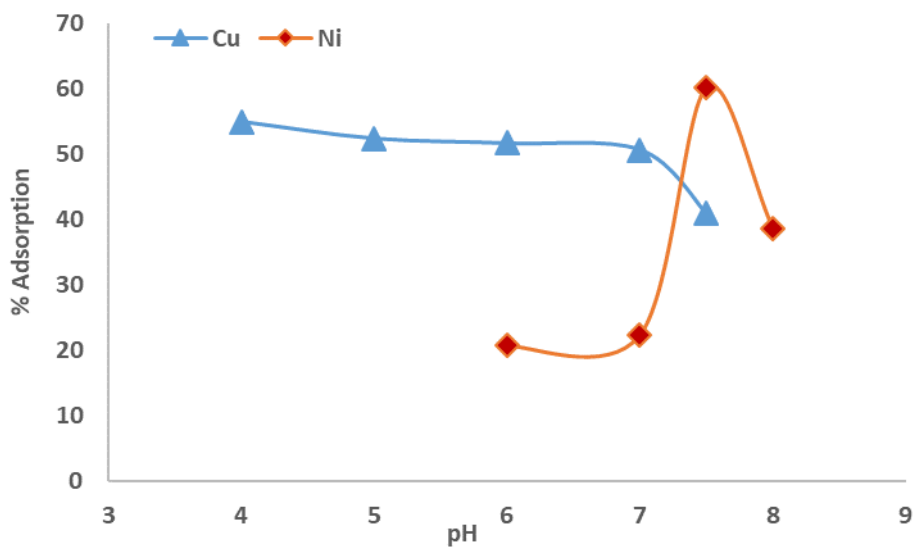


Figure 4. Effect of pH on the removal of Ni(II) and Cu(II) ions

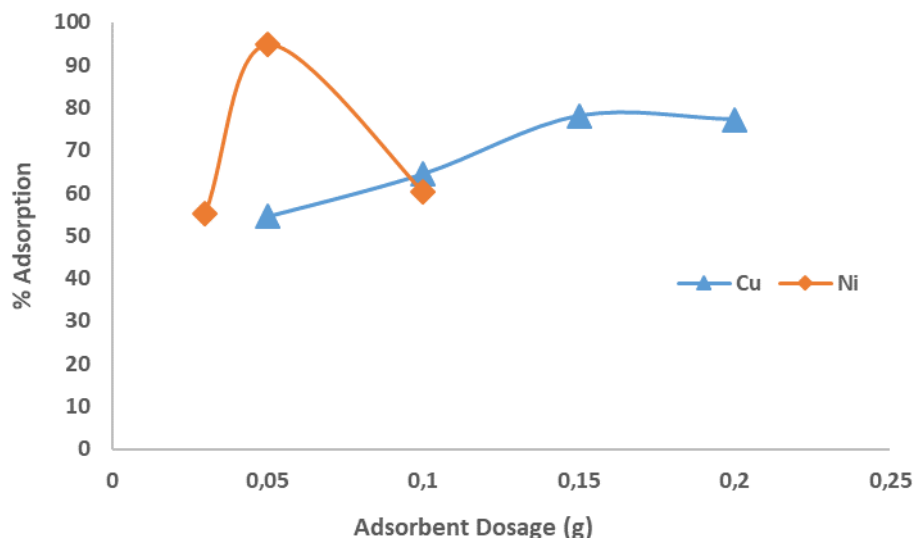


Figure 5. Effect of polyaniline/sugar beet pulp (PANI/SBP) dosage on the removal of Ni (II) and Cu (II)

Effect of Stirring Speed

The effect of mixing speed on adsorption was investigated by keeping the optimum pH and optimum adsorbent dosages constant for nickel and copper solutions. Optimization was completed by changing the mixing speeds in the range of 200-400 rpm (Figure 6). Adsorption values increased at 300 rpm according to 200 rpm for metal ions. The adsorption reduction that

occurs at higher mixing speed than 300 rpm may be due to excessive agitation of the ions in the mixed solution. Higher stirring speed may reduce the adsorption by increasing the repulsion forces on the adsorption surface. The attraction between PANI/SBP and metal ions may be reduced by these forces [27]. Thus, the optimum stirring speed for the removal of both metal ions was determined as 300 rpm.

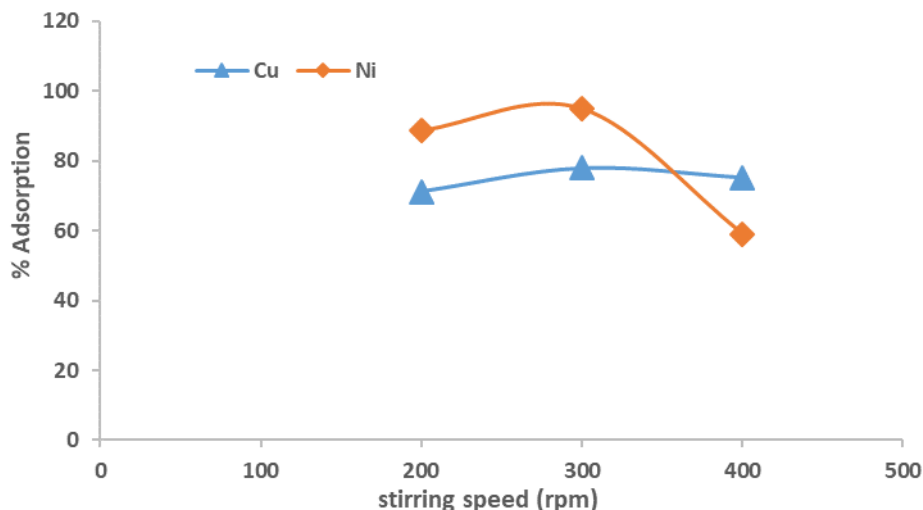


Figure 6. Effect of stirring speed on the removal of Ni (II) and Cu(II)

Effect of Contact Time

In order to investigate the effect of mixing time on the removal of metal ions, the effect of different mixing times on adsorption at initial concentrations, optimum pH, adsorbent dosage and mixing speed was investigated. Figure 7 indicates the effect of the contact time on the removal efficiency of Ni(II) and Cu(II). The mixing time was changed in the range of 15-60 minutes to remove copper ions. While there was an increase in metal

removal up to 30 minutes, a decrease was observed over 30 minutes and the optimum time was determined as 30 minutes. It worked well within 30-60 minutes for the removal of nickel ions. It was observed that metal removal decreased between 30 and 45 minutes, and metal removal increased between 45 and 60 minutes. Since 94.88% metal was removed in 60 minutes, there was no need to increase time further and the optimum time was determined as 60 minutes.

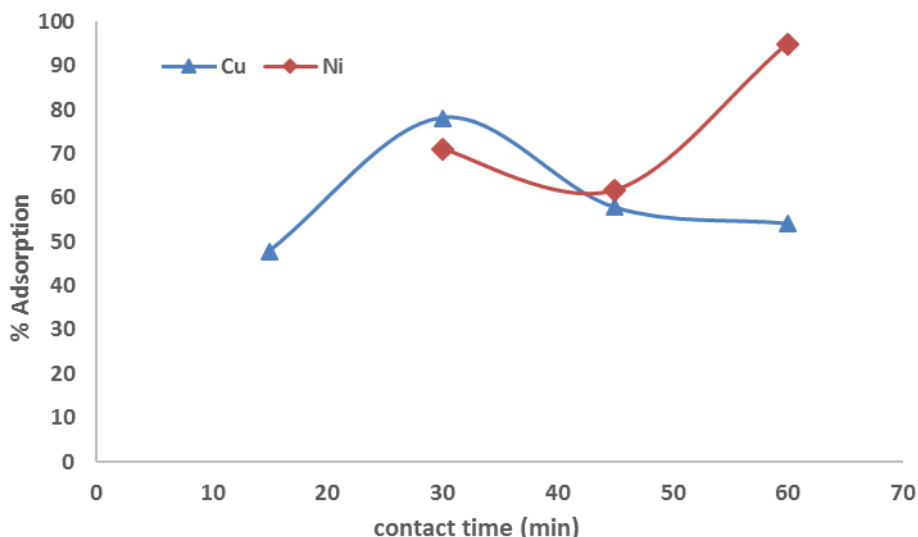


Figure 7. Effect of contact time on the removal of Ni (II) and Cu (II)

Effect of Initial Concentration

Figure 8 shows that the metal ion adsorptivity depended on the initial Ni (II) and Cu (II) ions concentrations. The initial metal ion concentration appears to be an important factor driving ionic mass transfer between the aqueous phase and the adsorbent [28]. After

determining the optimum pH, adsorbent dosage, mixing speed and contact time, the effect of initial concentration on the removal of metal ions was examined. Metal removal studies were carried out by changing the solution concentrations 25 to 75 mg/L. The optimum initial concentration was determined as 50 mg/L for both metals.

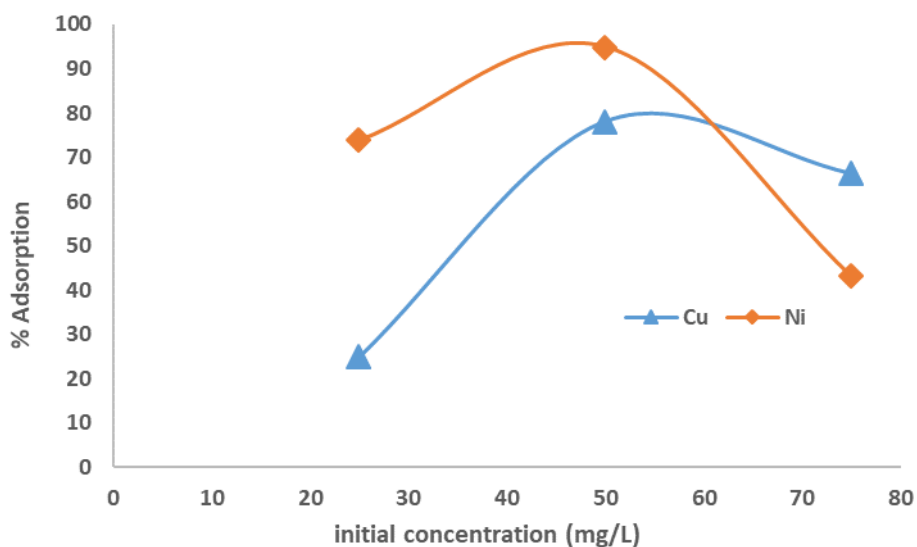


Figure 8. Effect of initial concentration on the removal of Ni (II) and Cu (II)

Waste Water Studies

The adsorption performance of PANI/SBP was tested for the industrial wastewater sample supplied from organized industrial region in our city (Burdur, Turkey), contaminated by metal cations from industrial activities using ICP-OES. The real water samples were only filtered through a filter paper prior to analysis. Experiments were performed to treat 25 mL wastewater by applying the optimum conditions given in Table 3.

In addition, metal adsorption percentages were compared by treating the real water sample with both SBP and PANI/SBP under optimum conditions, and it was determined that the composite retained Ni (II) and Cu (II) metal ions better. SBP adsorbed 75% and 65% of Ni (II) and Cu (II), respectively, while the composite adsorbed 95% and 78%. Table 4 shows the ICP-OES parameters for Ni (II) and Cu (II) standard solutions calculated from the calibration curves of metal ions and maximum adsorption values of metals (%Ads) with PANI/SBP in wastewater.

Table 3. The optimum conditions to remove Ni(II) and Cu(II) from aqueous solutions and the maximum adsorption percent of adsorbents

Parameters	Ni(II)	Cu(II)
pH	7.5	5.0
Dosage (g/50 mL)	0.05	0.15
Stirring speed (rpm)	300	300
Contact time (min)	60	30
Initial concentration (mg/L)	50	50

Table 4. ICP-OES parameters of Ni (II) and Cu (II) standart solutions

Element	Dalga Boyu (nm)	LOD (µg/L)	R ²	Max adsorption (Ads%) with PANI/SBP
Ni(II)	231.604	5.0	0.999	45
Cu(II)	327.393	2.5	0.999	72

According to the ICP-OES results, Ni(II) and Cu(II) removal from wastewater in terms of percent removal were calculated almost 45% and 72%, respectively. The removal percent of Ni(II) was lower than Cu(II) using PANI/SBP composite. It was suggested that PANI/SBP composite had a higher selectivity of Cu(II) ions than that of Ni(II) ions [29, 30]. As a result, PANI/SBP is an efficient and cost-effective adsorbent for the removal of Ni (II) and Cu(II) from industrial wastewaters.

CONCLUSION

PANI/SBP composite was synthesized successfully in aqueous media by the chemical polymerization and the adsorption ability of produced adsorbent was studied in the aqueous media for the Ni(II) and Cu (II) ions. The composite formation was investigated with FTIR and SEM techniques. FTIR results supported that PANI formed PANI/SBP composites by coating sugar beet pulp properly. SEM images supported that the granular and porous PANI was coated on sugar beet pulp, whose micrograms were crystalline, and a composite with a new morphology was formed. After the optimization of some important parameters (pH, adsorbent dosage, contact time, mixing speed, initial concentration of metal solutions), removal efficiencies were found to be 95% and 78% for Ni (II) and Cu (II), respectively. In conclusion, the effectiveness of PANI/SBP composite was good for the removal of Ni (II) and Cu (II) from wastewater.

ACKNOWLEDGEMENT





This research was financially supported by the Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Scientific Research Projects Commission for Scientific Research (Burdur, Turkey) (Project Number: 252YL14) and Scientific and Technological Research Council of Turkey (Project number: 1649B021413182).

REFERENCES

- [1] Jamshaid, A., Hamid, A., Muhammad, N., Naseer, A., Ghauri, M., Iqbal, J., Rafiq, S., Shah, N.S. (2017). Cellulose-based materials for the removal of heavy metals from wastewater: An overview. *ChemBioEng Reviews*, 4(4), 1-18.
- [2] Parvin, S., Rahman, M.W., Saha, I., Alam, M.J., Khan, M.M.R. (2019). Coconut tree bark as a potential low-cost adsorbent for the removal of methylene blue from wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 146, 385-392.
- [3] Mohsen, G., Hossein, E. (2013). Removal of COD, color, anions and heavy metals from cotton textile wastewater by using polyaniline and polypyrrole nanocomposites coated on rice husk ash. *Composites: Part B*, 45, 1-7.
- [4] Alhumaimess, M.S., Alsohaimi, I.H., Alqadami, A.A., Kamel, M.M., Naushad, M., Ahamad, T., Alshammari, H. (2019). Synthesis of phosphorylated raw sawdust for the removal of toxic metal ions from aqueous medium: Adsorption mechanism for clean approach. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 89, 602-615.
- [5] Volesky, B. (2003). Sorption and Biosorption, BV-Sorbex, Inc., St. Lambert, Quebec.
- [6] Altundogan, H.S., Arslan, NE., & Tumen, F. (2007). Copper removal from aqueous solutions by sugar beet pulp treated by NaOH and citric acid. *Journal of Hazardous Materials*, 149(2), 432-439.
- [7] Mata, Y.N., Blázquez, M.L., Ballester, A., González, F., & Muñoz, J.A. (2009). Sugar-beet pulp pectin gels as biosorbent for heavy metals: Preparation and determination of biosorption and desorption characteristics. *Chemical Engineering Journal*, 150(2-3), 289-301.
- [8] Ozer, A., Tumen, F. (2005). Cu(II) adsorption from aqueous solutions on sugar beet pulp carbon. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection*, 5(1) 26-34.
- [9] Hsini, A., Naciri, Y., Laabd, M., El Ouardi, M., Ajmal, Z., Lakhmiri, R., Boukherroub, R., Albourine A. (2020). Synthesis and characterization of arginine-doped polyaniline/walnut shell hybrid composite with superior clean-up ability for chromium (VI) from aqueous media: Equilibrium, reusability and process optimization. *Journal of Molecular Liquids*, 316, 113832-113845.
- [10] Chen, J., Wang, N., Liu, Y., Zhu, J., Feng, J., Yan, W. (2018). Synergetic effect in a self-doping polyaniline/TiO₂ composite for selective adsorption of heavy metal ions. *Synthetic Metals*, 245, 32-41.
- [11] Ghorbani, M., Lashkenari, M.S., Eisazadeh, H. (2011). Application of polyaniline nanocomposite

- coated on rice husk ash for removal of Hg(II) from aqueous media. *Synthetic Metals*, 161, 1430-1433.
- [12] Qomi, M.H., Eisazadeh, H., Hosseini, M., Namaghi, H.A. (2014). Manganese removal from aqueous media using polyanilinenanocomposite coated on wood sawdust. *Synthetic Metals*, 194, 153-159.
- [13] Mansour, M.S., Ossman, M.E., Farag, H.A. (2011). Removal of Cd (II) ion from waste water by adsorption onto polyaniline coated on sawdust. *Desalination*, 272, 301-305.
- [14] Trchova, M., Sedenkova, I., Tobolkova, E., Stejskal, J. (2004). FTIR spectroscopic and conductivity study of the thermal degradation of polyaniline films. *Polymer Degradation and Stability*, 86, 179-185.
- [15] Chuapradit, C., Wannatong, L.R., Chotpattananont, D., Hiamtup, P., Sirivat, A., Schwank, J. (2005). Polyaniline/zeolite LTA composites and electrical conductivity response towards CO. *Polymer*, 46, 947-953.
- [16] Densakulprasert, N., Wannatong, L., Chotpattananont, D., Hiamtup, P., Sirivat, A., Schwank, J. (2005). Electrical conductivity of polyaniline/zeolite composites and synergetic interaction with CO. *Materials Science and Engineering B*, 117, 276-282.
- [17] Salaneck, W. R., Liedberg, B., Inganäs, O., Erlandsson, R., Lundström, I., Macdiarmid, A. G., Halpern, M., Somasiri, N.L.D. (1985). Physical characterization of some polyaniline, (øN)^x. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 121, 191-194.
- [18] Quillard, S., Louarn, G., Lefrant, S., Macdiarmid, A.G. (1994). Vibrational analysis of polyaniline-A comparative study of leucoemeraldine, emeraldine, and pernigraniline bases. *Physical Review B*, 50(17), 12496-508.
- [19] Sun, X.F., Xu, F., Sun, R.C., Fowler, P., Baird, M.S. (2005). Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw. *Carbohydrate Research*, 340, 97-106.
- [20] Moazezi, N., Moosavian, M.A. (2016). Removal of rubidium ions by polyaniline nanocomposites modified with cobalt-Prussian blue analogues. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4, 2440-2449.
- [21] Abbès, B., Lacoste, C., Bliard, C., Maalouf, C., Simescu-Lazar, F., Bogard, F., Polidori, G., (2020). Novel extruded starch-beet pulp composites for packaging foams. *Materials*, 13, 1571-1585.
- [22] Eisazadeha, A., Eisazadeh, H., Kassim, K.A. (2013). Removal of Pb(II) using polyaniline composites and iron oxide coated natural sand and clay from aqueous solution. *Synthetic Metals*, 171, 56-61.
- [23] Hasani, T., Eisazadeh, H. (2013). Removal of Cd (II) by using polypyrrole and its nanocomposites. *Synthetic Metals*, 175, 15-20.
- [24] Javadian, H., Vahedian, P., Toosi, M. (2013). Adsorption characteristics of Ni(II) from aqueous solution and industrial wastewater onto Polyaniline/HMS nanocomposite powder. *Applied Surface Science*, 284, 13-22.
- [25] Igberase, E., Osifo, P., Ofomaja, A. (2014). The adsorption of copper (II) ions by polyaniline graft chitosan beads from aqueous solution: Equilibrium, kinetic and desorption studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 362-369.
- [26] Garg, V.K., Gupta, R., Yadav, A.B. and Kumar, R. (2003). Dye removal from aqueous solution by adsorption on treated sawdust. *Bioresource Technology*, 89, 121-124.
- [27] Blinova, N.V., Stejskal, J., Trchova, M., Prokes, J., Omastova, M. (2007). Polyaniline and polypyrrole: A comparative study of the preparation. *European Polymer Journal*, 43, 2331-2341.
- [28] Javadian, H., Sorkhrodi, F.Z., Koutenaie, B.B. (2014). Experimental investigation on enhancing aqueous cadmium removal via nanostructure composite of modified hexagonal type mesoporous silica with polyaniline/polypyrrole nanoparticles. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20, 3678-3688.
- [29] Kong, A., Ji, Y., Ma, H., Song, Y., He, B., Li, J. (2018). A novel route for the removal of Cu(II) and Ni(II) ions via homogeneous adsorption by chitosan solution, *Journal of Cleaner Production*, 192, 801-808.
- [30] Guan, J., Wang, J., Wang, Z., Zhuang, J., Dong, D., Luo, M., Lu, N., Yuan, X. (2019). Comparison of Pb(II), Cu(II), Cd(II), and Ni(II) adsorption onto surficial sediment components from aquatic environments in the Phaeozem zone of Northeast China. *Journal of Geochemical Exploration*, 197, 220-227.

Effect of Ethylene Scavenging-Active Packaging on Quality and Shelf Life of Button Mushrooms (*Agaricus bisporus*)

Elif Kütahneci¹ , Amal Al Obaidi² , Zehra Ayhan²  

¹Culinary Arts Department, Cappadocia Vocational Collage, Cappadocia University, Ürgüp, Nevşehir, Turkey

²Food Engineering Department, Engineering Faculty, Sakarya University, Serdivan, Sakarya, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 10.02.2020, Accepted (Kabul Tarihi): 19.12.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): zehraayhan@sakarya.edu.tr (Z. Ayhan)

☎ +90 264 295 5838 📠 +90 264 295 5601

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of an ethylene absorber (zeolites) in a packaging material on the shelf life of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). Mushrooms were packaged under passive modified atmosphere in low-density polyethylene (LDPE) bags with or without zeolites. Alongside the unpackaged control, three treatment groups were stored at 4°C and 50% RH for 16 days. Headspace gas composition, physical (weight loss, color and texture), chemical (pH, total soluble solids) and sensory analyses were carried out every 4 days of cold storage. Mushrooms packaged in LDPE bags without zeolites and LDPE with zeolites showed almost no significant change in weight during the storage time whereas the unpackaged mushrooms reached almost 20% weight loss by the end of the storage. Sensory attributes for mushrooms packaged in LDPE bags without zeolites and LDPE with zeolites were also still acceptable after the 8th day while unpackaged mushrooms lost their acceptability by day 4. Although no mentionable difference in shelf life was observed between samples packaged in LDPE bags without zeolites and LDPE with zeolites when physical, chemical and sensory properties considered, the active material was better than control material in terms of color, with less browning index and higher whiteness index.

Keywords: Active packaging, Zeolites, Shelf life, Button mushrooms, *Agaricus bisporus*

Etilen Tutucu İçeren Aktif Ambalajlamanın Mantarın (*Agaricus bisporus*) Kalitesi ve Raf Ömrüne Etkisi

ÖZ

Bu çalışmanın amacı etilen tutucu olarak zeolite içeren ambalaj materyalinin mantarın (*Agaricus bisporus*) raf ömrüne etkisini belirlemektir. Mantar pasif modifiye atmosfer altında zeolit içeren ve içermeyen düşük yoğunluklu polietilen (LDPE) torba ambalajlarda ambalajlanmıştır. Ambalajsız grupla birlikte toplam üç uygulamaya ait ürünler 4°C'de %50 bağıl nemde 16 gün depolanmıştır. Depolamanın her dört gününde bir tepe boşluğu gaz analizi, fiziksel (ağırlık kaybı, renk ve tekstür), kimyasal (pH, toplam çözünebilir kuru madde) ve duyu analizler gerçekleştirilmiştir. Zeolit içeren ve içermeyen LDPE ambalajlarda ağırlık kaybı açısından depolamanın sonunda önemli bir değişim ortaya çıkmamıştır, ancak ambalajsız mantarlarda %20'ye yakın bir kayıp ortaya çıkmıştır. Ambalajsız mantarların duyu analizi olarak kabul edilebilirliği 4 günle sınırlıyken, bu süre zeolit içeren ve içermeyen ambalajlarda 8 gün olarak tespit edilmiştir. Fiziksel, kimyasal ve duyu özellikler açısından değerlendirildiğinde zeolit içeren ve içermeyen ambalajlar arasında raf ömrü açısından çok büyük bir fark ortaya çıkmamasına rağmen, aktif ambalajlanmış mantarda beyazlık indeksi daha yüksek, esmerleşme indeksi daha düşük bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Aktif ambalajlama, Zeolit, Raf ömrü, Mantar, *Agaricus bisporus*

INTRODUCTION

Agaricus bisporus (also known as button mushroom) is the most widely cultivated mushroom globally, contributing to as much as 30% of the total mushroom production worldwide [1]. This unrivaled popularity is due to its high nutritional value, sensory properties, medicinal attributes, ease of harvesting, and its low price compared to other mushrooms [2]. Unfortunately, mushrooms have a great disadvantage: it is highly perishable. Mushrooms have a short shelf-life compared to other fresh food commodities, which was reported to be 1 to 3 days when stored at room temperature (20-25°C), 5 to 7 days when stored at 0 to 2°C, or about 8 days when stored under refrigerated conditions [3-5].

Many internal factors (i.e., water activity, respiration rate and microbial activity) and external factors (related to storage conditions) play a role in the perishable nature of button mushrooms [5]. One significant factor directly contributing to the browning of mushroom caps is ethylene. Although mushrooms produce a little amount of ethylene, they are highly sensitive to ethylene, which makes storing or shipping mushrooms challenging, since mushrooms can be affected by the ethylene produced by other fresh fruits and vegetables if shipped together [1]. As stated by Zhang, many researchers have developed methods that succeeded in reducing postharvest deterioration and achieved shelf-life extension of mushrooms [5]. However, the studies that concentrated on eliminating ethylene as the deteriorating factor are limited.

The removal of ethylene from product environment using an ethylene scavenger slows the ripening process, thus prolongs the shelf-life of the produce. Ethylene scavenging is done either by adding a sachet containing the active material to the package or incorporation of it in the package structure itself. The most widely used ethylene scavenger in sachets is potassium permanganate (KMnO₄). However, it cannot come in direct contact with food due to its high toxicity [6-8]. Another system for scavenging ethylene depends on metals and metal oxides, which is activated by UV light or visible light or both. However, the fact that UV exposure can affect food quality should be taken into consideration [8]. Considering the previously mentioned reasons, zeolite-based materials are a good choice as ethylene scavengers since they have no adverse effects on the safety or quality of food products. However, the literature is unsatisfactory for using zeolite-based materials as ethylene scavengers for fresh produce.

Zeolite based films were successfully used for the packaging of broccoli [9], Mango [10], and kiwifruit [11]. However, literature lacks the application of such packaging on mushrooms.

The aim of this study was to investigate the effects of zeolite-added LDPE packaging on the overall quality parameters (physical, chemical and sensory) as well as the extension of the shelf-life of button mushrooms.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Freshly harvested mushrooms (*A. bisporus*) were purchased from the producer 1 day before the study and were kept under refrigerated conditions (4°C). After damaged, dirty and mushrooms with broken stems were excluded, mushrooms with similar size and color were chosen to get uniform samples.

The packaging materials used are low density polyethylene (LDPE) bags without zeolite and LDPE bags with zeolites. The dimensions of both types are 35 cm × 27 cm. The oxygen transmission rates (OTR) and the water vapor transmission rates (WVTR) are 3303 cc/m²/24hr and 5.24 g/m²/24hr for LDPE without zeolites and 5664 cc/m²/24hr and 17.5 g/m²/24hr for LDPE with zeolites, respectively. The amount of zeolite is about 10%.

Packaging of Mushrooms

Mushrooms were divided randomly into 3 treatment groups: (M1) LDPE bags without zeolite, (M2) LDPE bags with zeolites and (C) unpackaged mushrooms. 500 grams of mushrooms were weighed in LDPE bags and thermally sealed under passive modified atmosphere with a product to headspace ratio of 1:1. Two parallels were prepared for each treatment. The samples were stored at 4°C for 16 days, and physiological (headspace gas composition), physical (weight loss, texture and color), chemical (pH, total soluble solids) and sensory analyses were carried out every 4 days.

Headspace Gas Composition

The concentrations of O₂ and CO₂ were detected using a PBI Dansensor (CheckPoint O₂/CO₂, Ringsted, Denmark). Two samples from each group were analyzed by inserting a thin needle into the packages and a pump draws a small sample of headspace gas into the analyzer equipment. The headspace gas comes into contact with a sensor that can measure the concentration of residual oxygen or carbon dioxide in the headspace gas sample. Two readings were made from each parallel package for each treatment [1].

Weight Loss

The mushrooms were weighed using an electronic weighing scale (GE 2101, Sartorius, Germany) with ± 0.1 g accuracy every 4 days. The results were then expressed as a percentage of weight loss with the respect to the initial weight [1].

Color

The caps of 10 mushrooms from two parallel bags of each treatment group were analyzed using a colorimeter device (Hunter Laboratories, Reston, VA, USA) and L*a*b* values were obtained (L*: light/dark, a*: red/green, and b*: yellow/blue).

Using the formulas bellow, the whiteness index (WI) and the browning index (BI) were calculated [2].

$$WI = L - 3b + 3a$$

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.17}$$

$$\text{Where: } x = \frac{a+1.75L}{5.645L+a-3.012b}$$

Texture

Ten mushrooms were taken from two parallel bags of each treatment group. After removing the stems, firmness of mushroom caps was measured using a TA-XT Plus texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, England) equipped with a 2mm diameter cylindrical probe. Samples were penetrated with a speed of 5 mm s⁻¹, and results were expressed as Newton (N) values [12].

pH and Total Soluble Solids (TSS)

The pH values were determined by taking 3 mushrooms from each treatment. After being homogenized and squeezed with the aid of a hand press, 10 g of the resulting juice were taken and diluted by 10 folds. Using a pH-meter (WTW-315i, Weilheim, Germany), four pH readings for each treatment were taken. Using a digital refractometer (Atago N-50E, Tokyo, Japan), the brix value of the resulting juice was determined [2].

Cap Opening

Cap opening (%) is a quality criterion based on the development of umbrella-like shape of the cap, followed by detachment of the veil [12]. Cap opening was determined based on a 5 points scale (1=Caps completely closed, 2=caps slightly open, 3=caps half-open, 4=caps mostly open, 5=caps completely open). The result for each value was expressed as percentage. The percent open caps was determined from known number of mushrooms as: %Open caps=Noc/Nt x 100

Where: Nt=total number of mushrooms; Noc=number of open capped mushrooms.

Sensory Analysis

On each day of analysis, 6 experienced panelists evaluated the mushrooms using 5 point scale in terms of color (1:the cap and the stem are brown, 3: acceptable, 5:the surface is white), overall appearance (1:creased surface, formation of a sticky layer, 3: acceptable, 5:smooth surface) and overall acceptance (1:bad, 3: acceptable, 5:excellent), the acceptability level is 3 out of 5 points at room temperature. The samples were coded with three-digit random numbers and served in different orders to each panelist to eliminate the order effect.

Statistical Analysis

Data were expressed as the mean ± SD (standard deviation). Two-way analysis of variance (ANOVA) was performed by SPSS (IBM SPSS version 20) and the difference was considered to be statistically significant if p<0.05.

RESULTS and DISCUSSION

Headspace Gas Composition

Mushrooms respiration rate is high in comparison with other fresh commodities, which contributes directly to its postharvest quality degradation [13, 14]. Both respiration and the gas permeability of the packaging material play a role in the change of the headspace gas composition [14]. Change in O₂ and CO₂ concentrations is shown in Fig. 1 (A and B, respectively.). O₂ concentration started with the ambient concentration (around 21% in both packaging materials) and decreased rapidly during the first 4 days of storage in M1 (0.2-0.1%) and continued decreasing in M2 until it was undetectable by the 16th day of storage. It is worth mentioning though that it is possible for O₂ to be trapped in the caps of the mushrooms. In contrast, the CO₂ concentration increased sharply during the first four days of storage in both packages, corresponding to the sharp decrease in O₂ concentration. The increase of CO₂ was followed with a sharp depletion between the 4th and 8th days of storage until it reached equilibrium in both packages, with a noticeably higher concentration in M1 compared to M2, which can be attributed to the lower barrier properties of M1. This pattern of change in headspace composition is in an agreement with other reports in literature [2, 13, 14].

Weight Loss (%)

Weight loss is an important indicator when it comes to the quality of mushrooms, leading to the reduction of consumer's acceptability [15]. This weight loss is mainly due to the continuous loss of moisture in mushrooms [5], which is caused by both the thin epidermal structure of mushrooms and their high transpiration rate [14,16]. Fig. 2 shows the weight loss in mushrooms packaged in LDPE bags without zeolites (M1), LDPE bags with zeolites (M2) as well as the unpackaged mushrooms (C). As mentioned by Gantner, weight loss greater than 3% reduces the consumer's acceptability [15]. The weight loss for unpackaged mushrooms reach almost 20% at the end of the storage, but it already reached unacceptable quality after 4th day of storage. On the other hand, M1 and M2 showed a gradual but barely mentionable weight loss (less than 1%), thus M1 and M2 can be considered economically efficient. These results may be due to the low WVTR of PE films controlling the moisture loss [2, 14].

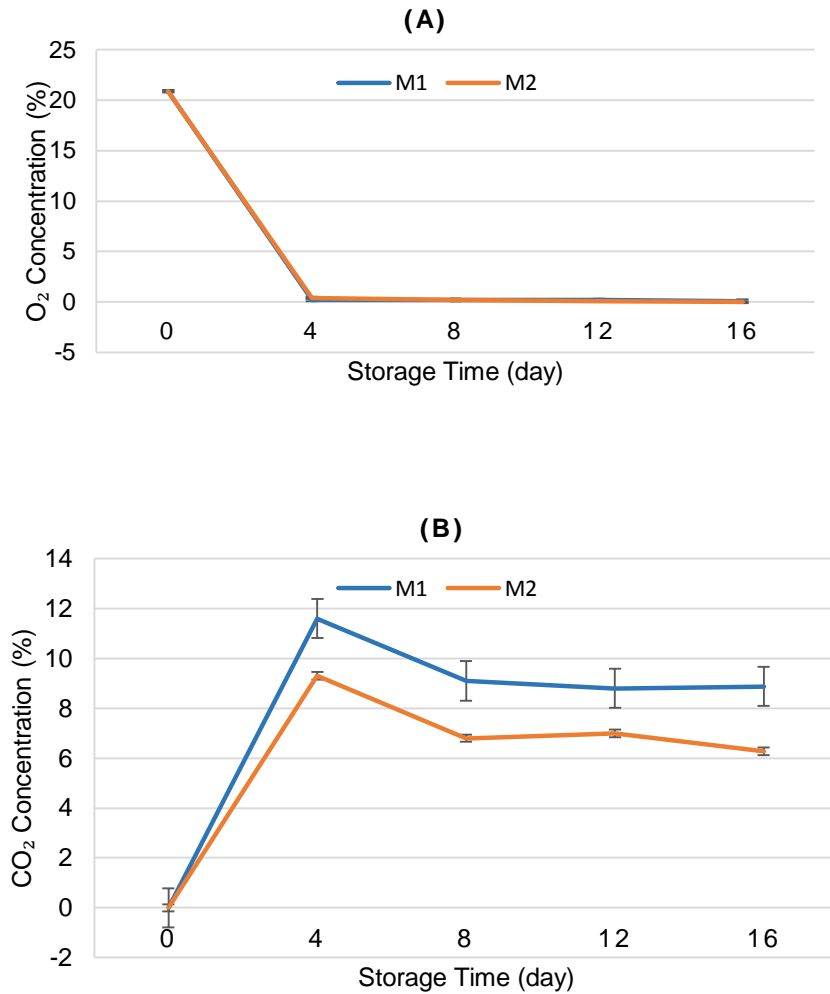


Figure 1. (A) Change in concentration of O₂ (%) during storage and (B) Change in CO₂ (%) concentration during cold storage (4°C, 50% RH). (M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites).

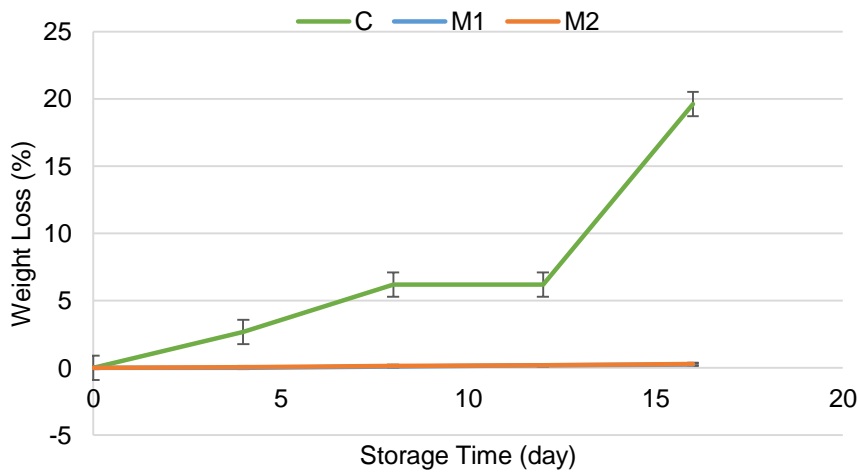


Figure 2. Effect of packaging on weight loss (%) during cold storage (4°C, 50% RH). (C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites)

Color

Color is considered the most important quality attribute in mushrooms since it directly contributes to the consumer's acceptance. Browning occurs in mushrooms due to either enzymatic activities or/and microbial contamination [2, 5, 12, 14, 17]. Hence, whiteness index (WI) and browning index (BI) are important to evaluate color changes in mushrooms. Table 1 shows the change in whiteness index while (B) shows the change in browning index. As the whiteness index decreases with storage time the browning index increases. These trends occur regardless of the packaging material used and comes in agreement with other researchers' previous works [13, 14, 16]. M2 showed best results with

the lowest decrease in WI and lowest increase in BI. M1 did not show a significant difference in terms of WI in comparison with the control ($p > 0.05$). This could be attributed to the higher CO₂ concentration in this package (M1), leading to the damaging of mushroom cap surface tissue, and such results were reported in the literature [2, 18].

As for the browning index, M2 maintained the lowest browning index during storage compared to other two groups (M1 and control group) (Table 2). There is no significant difference observed between LDPE with no zeolite and unpackaged groups during storage in terms of browning index.

Table 1. The effect of different packaging materials on the whiteness index (WI) of mushrooms during cold storage (4°C, 50% RH)

Treatment	Whiteness index (WI)				
	Storage day				
	0	4	8	12	16
C	60.11±4.44 ^{Aa}	42.89±7.78 ^{ABb}	36.02±6.10 ^{Ac}	25.07±8.72 ^{Bd}	28.17±4.56 ^{Bd}
M1	60.11±4.44 ^{Aa}	40.06±7.18 ^{Bb}	35.69±5.41 ^{Ac}	25.71±7.04 ^{Bd}	27.68±6.25 ^{Bd}
M2	60.11±4.44 ^{Aa}	47.98±9.78 ^{Ab}	38.78±5.57 ^{Ac}	33.78±6.07 ^{Ad}	37.09±4.54 ^{Accd}

*Uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between different treatment groups, lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within the same treatment group. C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

Table 2. The effect of different packaging materials on the browning index (BI) of mushrooms during cold storage (4°C, 50% RH)

Treatment	Browning index (BI)				
	Storage day				
	0	4	8	12	16
C	16.79±2.89 ^{Ae}	27.90±5.97 ^{ABd}	36.14±7.46 ^{Ac}	47.66±8.32 ^{Aa}	41.01±4.98 ^{Ab}
M1	16.79±2.89 ^{Ac}	29.15±5.29 ^{Ab}	32.52±4.82 ^{Abb}	44.81±7.09 ^{Aa}	42.66±6.65 ^{Aa}
M2	16.79±2.89 ^{Ac}	24.03±8.08 ^{Bb}	32.17±5.22 ^{Ba}	34.53±4.46 ^{Ba}	32.33±3.64 ^{Ba}

*Uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between different treatment groups, lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within the same treatment group. C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

Texture (Firmness)

Enzymatic activity and water loss cause texture changes in mushrooms, thus leading to quality deterioration and less consumer acceptability [2, 17]. Table 3 shows the change in the penetration force (N) during storage time. All treatments experienced a loss in firmness during the storage time. The unpackaged mushrooms changed texture quickly, requiring higher penetration force on the 4th and 8th days, probably due to the massive loss of

moisture and drying out, causing the caps to become more elastic and thus requiring more force. In comparison, the other packaged products in both packages (M1 and M2) lost firmness slightly and showed no significant difference ($p > 0.05$) since the 4th day to the end of the storage time, which may be a sign that the change in the texture in these treatments is purely due to internal enzymatic reactions that causes the mushrooms to soften, not due to the loss of moisture.

Table 3. The effect of different packaging materials on firmness (penetration force, N) of mushroom during cold storage (4°C, 50%RH)

Treatment	Penetration force (N)				
	Storage day				
	0	4	8	12	16
C	3.94±1.28 ^{Abc}	4.49±0.80 ^{Aab}	4.79±1.17 ^{Aa}	3.57±1.12 ^{Ac}	2.62±0.82 ^{Ad}
M1	3.94±1.28 ^{Aa}	2.58±0.43 ^{Bb}	2.64±0.43 ^{Bb}	2.68±1.06 ^{Bb}	2.71±0.82 ^{Ab}
M2	3.94±1.28 ^{Aa}	2.50±0.31 ^{Bc}	2.22±0.30 ^{Bc}	3.10±1.13 ^{ABb}	2.54±0.56 ^{Ac}

*Uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between different treatment groups, lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within the same treatment group. C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

pH and TSS

Table 4 shows the change in pH values in the different packages during the storage time. pH values dropped slightly but not significantly in all treatment groups. Table 5 shows the change in total soluble solids content over storage. As expected, the brix value in the unpackaged

mushrooms increased significantly at first corresponding to the massive loss of moisture. In comparison, no significant difference ($p < 0.05$) was found between M1 and M2 in terms of brix values during the storage time, which further proves the efficiency of LDPE bags in retaining the moisture of the mushrooms.

Table 4. The effect of different packaging materials on pH of mushroom during cold storage (4°C, 50%RH)

Treatment	pH				
	Storage day				
	0	4	8	12	16
C	6.86±0.03 ^{Aa}	6.72±0.05 ^{Cb}	6.80±0.18 ^{Aab}	6.40±0.01 ^{Bc}	6.39±0.03 ^{Cc}
M1	6.86±0.03 ^{Ab}	6.88±0.03 ^{Bb}	6.95±0.04 ^{Aa}	6.54±0.01 ^{Ad}	6.64±0.02 ^{Ac}
M2	6.86±0.03 ^{Ab}	7.03±0.06 ^{Aa}	6.82±0.02 ^{Ab}	6.54±0.05 ^{Ac}	6.56±0.04 ^{Bc}

*Uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between different treatment groups, lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within the same treatment group. C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

Table 5. The effect of packaging materials on brix of mushroom during cold storage (4°C, 50%RH)

Treatment	Brix (%)				
	Storage day				
	0	4	8	12	16
C	4.55±0.06 ^{Ab}	5.50±0.58 ^{Aab}	7.63±3.03 ^{Aa}	6.50±0.80 ^{Aab}	6.13±1.37 ^{Aab}
M1	4.55±0.06 ^{Aa}	4.33±0.74 ^{Ba}	4.43±0.32 ^{Ba}	4.33±0.10 ^{Ba}	4.03±0.10 ^{Ba}
M2	4.55±0.06 ^{Aa}	4.43±0.21 ^{Bab}	4.08±0.03 ^{Bb}	4.23±0.21 ^{Bab}	4.55±0.37 ^{Bab}

*Uppercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between different treatment groups, lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) within the same treatment group. C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

Cap Opening

Mushrooms lose their internal moisture during storage, leading to the drying of the caps and veil. Thus, mushrooms cap opening percentage is considered as one of the important quality parameters indicating the freshness of mushrooms [2]. As can be seen in Table 6, the percentage of completely closed caps decreased with the storage time regardless of the packaging material. Such results were also obtained by other researchers [2, 12]. As expected, the control witnessed the highest drop in closed caps percentage with storage time, which comes in correlation with weight loss results explained earlier. M2 showed a superior performance with 79% completely closed caps compared to 69% in M1 at the end of the storage.

Sensory Evaluation

Sensory evaluation is crucial in assessing the postharvest quality of mushrooms [18]. As Table 7 shows, sensory scores declined in all packages with extended storage time. These results come in agreement with other researchers [1, 12, 18]. In terms of color, both M1 and M2 are still acceptable on the 8th day while the unpackaged mushrooms lose their acceptability on the 4th day. For overall appearance, packaged mushrooms were acceptable on the storage

day of 8, but it is limited to 4 days for unpackaged control product. There was same trend observed for the overall product acceptability. Although there was significant color difference between active packages and control packages in terms of whitening and browning index in the favor of active package, it was not reflected by the color evaluation by the sensory panelists.

CONCLUSIONS

In conclusion, weight loss was the most affected by the packaging. The weight loss reached around 20% in the unpackaged samples by the end of the study while there was not any significant weight loss in M1 and M2. Although no significant difference in performance was achieved in weight loss and extending the shelf-life between M1 and M2, M2 showed superiority regarding color with higher whiteness and lower browning, retained closed caps for longer storage time (16 days). Regarding shelf-life, the estimated shelf-life of the unpackaged mushroom is 4 days, since it lost acceptance in all sensory attributes after the 4th day. Although no mentionable difference in sensory attributes was observed between samples packaged in LDPE bags without zeolites and LDPE with zeolites, the active material was better than control material in terms color with less browning and higher whiteness index.

Table 6. The effect of different packaging materials on the cap opening of mushrooms during cold storage (4°C, 50% RH)

Treatment	Score	Cap opening (%)				
		Day 0	Day 4	Day 8	Day 12	Day 16
C	1	100.00	76.47	72.50	66.15	61.63
	2	0.00	19.61	22.50	22.94	22.97
	3	0.00	3.92	3.34	1.78	9.71
	4	0.00	0.00	1.67	5.35	3.70
	5	0.00	0.00	0.00	3.79	2.00
M1	1	100.00	85.25	82.51	87.96	69.05
	2	0.00	11.48	10.47	3.94	18.12
	3	0.00	3.28	5.30	3.94	5.49
	4	0.00	0.00	1.73	2.09	7.34
	5	0.00	0.00	0.00	2.09	0.00
M2	1	100.00	76.27	76.70	75.86	79.00
	2	0.00	20.34	15.31	12.07	19.28
	3	0.00	3.39	3.03	5.17	0.00
	4	0.00	0.00	3.24	6.90	1.73
	5	0.00	0.00	1.73	0.00	0.00

1: Completely open, 2: Partially open, 3: Half open, 4: Mostly open, 5: Completely open
C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites.

Table 7. Effect of different packaging on sensory attributes of mushrooms during cold storage (4°C, 50% RH).

Attribute	Time (d)	Sensory evaluation		
		Treatment		
		C	M1	M2
Color	0	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
	4	3.33±0.52	3.00±0.63	3.67±0.52
	8	1.83±0.41	3.83±0.41	3.00±0.00
	12	3.00±0.00	1.83±0.41	2.1 ±0.41
	16	1.00±0.00	1.00±0.00	2.33±0.52
Overall appearance	0	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
	4	4.17±0.41	3.50±0.84	3.83±0.75
	8	1.83±0.41	3.50±0.55	3.17±0.41
	12	2.17±0.41	2.00±0.00	2.17±0.41
	16	1.00±0.00	1.00±0.00	2.33±0.52
Overall acceptance	0	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00
	4	4.00±0.00	3.50±0.89	4.00±0.63
	8	1.83±0.41	3.50±0.55	3.00±0.00
	12	2.67±0.52	2.00±0.00	2.00±0.00
	16	1.00±0.00	1.00±0.00	2.00±0.00

C: Unpackaged mushrooms M1: LDPE bags without zeolites, M2: LDPE bags with zeolites

ACKNOWLEDGEMENTS






The authors are grateful for Meliha Öztürk and Tuncay Tiribolulu for their help at the laboratory analysis.

REFERENCES

- [1] Sun, B., Chen, X., Xin, G., Qin, S., Chen, M., Jiang, F. (2020). Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on quality of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) packaged in different packaging materials. *Postharvest Biology and Technology*, 159, 1-8.
- [2] Gholami, R., Ahmadi, E., Farris, S. (2017). Shelf life extension of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) by low temperatures conditioning, modified atmosphere, and nanocomposite packaging material. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 88-95.
- [3] Jiang, T. (2013). Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under a high oxygen modified atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 91-97.
- [4] Xu, Y., Tian, Y., Ma, R., Liu, Q., Zhang, J. (2016). Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Food Chemistry*, 197, 436-444.
- [5] Zhang, K., Pu, Y. Y., Sun, D. W. (2018). Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 72-82.

- [6] Ayhan, Z. (2011). Effect of packaging on the quality and shelf-life of minimally processed/ ready to eat foods. *Academic Food Journal*, 9(4), 36-41.
- [7] Martínez-Romero D., Bail'en G., Serrano M., Guill'en F., Valverde J.M., Zapata P., Castillo S., Valero D. (2007). Tools to maintain postharvest fruit and vegetable quality through the inhibition of ethylene action: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(6), 543-60.
- [8] Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M.K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Coma, V. (2018). Active packaging applications for food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 165–199.
- [9] Esturk, O., Ayhan, Z., Gokkurt, T. (2014). Production and application of active packaging film with ethylene adsorber to increase the shelf life of broccoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*). *Packaging Technology and Science Journal*, 27(3), 179-91.
- [10] Boonruang K., Chonhenchob V., Singh S.P., Chinsirikul W., Fuongfuchat A. (2012). Comparison of various packaging films for mango export. *Packaging Technology and Science*, 25(2), 107-18.
- [11] Ayhan, Z. (2016). Use of zeolite based ethylene absorbers as active packaging for horticultural products. *Book of abstracts of International Congress-Food Technology, Quality and Safety; Novi Sad, Serbia, 25–27 October 2016*. Novi Sad, Serbia: University Novi Sad.
- [12] Gao, M., Feng, L., Jiang, T. (2014). Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment. *Food Chemistry*, 149, 107-113.
- [13] Ban, Z., Li, L., Guan, J., Feng, J., Wu, M., Xu, X., Li, J. (2014). Modified atmosphere packaging (MAP) and coating for improving preservation of whole and sliced *Agaricus bisporus*. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 3894-3901.
- [14] Liu, J., Liu, S., Zhang, X., Kan, J., Jin, C. (2019). Effect of gallic acid grafted chitosan film packaging on the postharvest quality of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology*, 147, 39-47.
- [15] Gantner, M., Guzek, D., Pogorzelska, E., Brodowska, M., Wojtasik-Kalinowska, I., Godziszewska, J. (2017). The effect of film type and modified atmosphere packaging with different initial gas composition on the shelf life of white mushrooms (*Agaricus bisporus L.*). *Journal of Food Processing and Preservation* 41(1), 1-9.
- [16] Aday, M.S. (2016). Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 44-51.
- [17] Khan, Z.U., Aisikaer, G., Khan, R. U., Bu, J., Jiang, Z., Ni, Z., Ying, T. (2014). Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 95, 36-41.
- [18] Lin, Q., Lu, Y., Zhang, J., Liu, W., Guan, W., Wang, Z. (2017). Effects of high CO₂ in-package treatment on flavor, quality and antioxidant activity of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 123, 112-118.
-
-

Physicochemical and Rheological Properties of Commercial Kefir Drinks

Oguz Gursoy¹  ✉, Kübra Kocatürk² , Hande Özge Güler Dal¹ , Hasne Nazlı Yakalı² ,
Yusuf Yılmaz¹ 

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Istiklal Campus, TR-15030, Burdur, Turkey

²Division of Food Engineering, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Istiklal Campus, TR-15030, Burdur, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 25.12.2019, Accepted (Kabul Tarihi): 23.12.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): ogursoy@yahoo.com (O. Gursoy)

☎ +90 248 213 27 23 📠 +90 248 213 27 04

ABSTRACT

Kefir is one of the most preferred fermented beverages, and its production constitutes a significant portion of the dairy industry. In this study, the physicochemical and rheological properties of commercial plain kefir drinks were compared. Kefir drinks of dominant brands in the Turkish kefir market (n=6) were obtained from national markets, and samples with different production dates for each brand were used as replications. The ranges for the dry matter, protein and fat contents (%) of kefir drinks were 9.49-11.97, 2.30-3.44 and 2.50-3.00%, respectively. Moreover, the pH values of samples were in a range between 3.86 and 4.06 while their total titratable acidity (% lactic acid) values ranged from 0.71 to 0.93%. Significant differences were found among the physicochemical properties of commercial kefir drinks (p<0.05). Rheological analyses were conducted at three different temperatures (4.0, 10.0 and 25.0±0.3°C), and the power law model was used to interpret the rheological characteristics of kefir drinks, which resulted in high coefficient of determination (R²) values. Besides, the apparent viscosity values of samples (at a shear rate of 111.6 s⁻¹) were inversely related to temperature and varied between 0.48 and 1.76 mPa.s (p<0.05). Activation energy values of samples were between 21.51 and 36.18 kJ/mol. Significant differences in physicochemical and rheological properties were found among the commercial kefir samples of different brands, indicating the compositional variations of raw materials and kefir cultures used in their production.

Keywords: Kefir, Fermented milk, Consistency, Rheological behavior, Viscosity

Ticari Kefirlerin Fizikokimyasal ve Reolojik Özellikleri

ÖZ

Kefir, fermente içecekler içerisinde en çok tercih edilenlerden biri olup üretimi süt endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada, ticari sade kefirlerin fizikokimyasal ve reolojik özellikleri karşılaştırılmıştır. Türkiye ticari kefir pazarında etkili olan markalara ait kefirler (n=6) Türkiye'deki ulusal marketlerden temin edilmiş ve her bir marka için farklı son kullanma tarihlerine sahip örnekler tekerrür olarak kullanılmıştır. Ticari kefir örneklerinin kuru madde, protein ve yağ içeriklerine ait aralıklar, sırasıyla %9.49-11.97, %2.30-3.44 ve %2.50-3.00 olarak bulunmuştur. Örneklerin pH değerleri 3.86-4.06 aralığında, toplam titre edilebilir asitlik (% laktik asit) değerleri %0.71-0.93 arasında saptanmıştır. Farklı markalara ait ticari kefir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinde önemli değişiklikler saptanmıştır (p<0.05). Farklı sıcaklıklarda (4.0, 10.0 ve 25.0±0.3°C) yapılan reolojik analizlerde, kefir içeceklerinin reolojik özelliklerinin yorumlanmasında yüksek R² değerlerinin elde edildiği Üssel Kural (Power Law) modeli kullanılmıştır. Örneklerin (111.6 s⁻¹ kayma oranındaki) görünür viskozite değerlerinin sıcaklıkla ters orantılı olduğu ve 0.48 ile 1.76 mPa.s arasında değiştiği saptanmıştır (p<0.05). Örneklerin aktivasyon enerjisi değerleri 21.51 ve 36.18 kJ/mol arasında değişmiştir. Farklı markalara ait ticari kefir örneklerinin fizikokimyasal ve reolojik özellikleri arasında önemli

farklılıklar belirlenmiş olup, bu farklılığın da üretimde kullanılan farklı hammadde ile kefir kültürlerinden kaynaklanabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Kefir, Fermente süt, Kıvam, Reolojik özellik, Viskozite

INTRODUCTION

Commercial production of probiotic foods has greatly increased over the last decades in parallel to an increase in consumer consciousness towards healthy food choices. Fermented milk beverages are particularly effective in preserving the diversity of microorganisms and balance in the intestinal flora by their probiotic content. Kefir is a traditional fermented milk drink with an increasing popularity, and it can regulate the intestinal microflora by supplementing a number of probiotic bacteria that are useful for maintaining the body health [1, 2].

Traditionally produced kefir is highly preferred by consumers, and commercial producers of kefir drinks have a target to obtain taste and aroma similar to those of traditional kefir drinks. In kefir production, thermophilic, mesophilic, probiotic bacteria and yeasts are mostly used together or separately as a kefir culture, which gives unique flavor to the product by their symbiotic metabolic activities. The type and ratio of starter used in kefir production are effective on the sensory and chemical qualities of the final product [3-5]. In commercial production, kefir is produced by microorganisms in the form of kefir grains that resemble cauliflower florets or by isolated microorganisms as a starter culture. Kefir has an important functional property with its characteristic microbial flora, flavor and slightly acidic sour taste, in addition to its appetizing and refreshing characteristics. While ethyl alcohol, acetaldehyde, diacetyl and amino acids, which contribute to the sensory properties of kefir, are formed during fermentation, the primary products of this process are ethanol, lactic acid and carbon dioxide that characterize sour, acidity and low alcoholic taste, also viscous and foamy texture of kefir drinks [1, 6]. The health benefits of kefir intake may include an improvement in lactose tolerance and immune system, an increase in anticarcinogenic and antimutagenic properties, sensorial and nutritional attributes of milk beverage [4, 7, 8].

Rheological characteristics of kefir influence its consumer acceptability and choice directly. Various factors have been reported to be effective on the formation of the main characteristics and composition of kefir depending on the raw material used such as type of milk and diversity of microorganisms, also process and final product variations as fermentation time, temperature, and storage time or flavor addition [9-11].

To the best of our knowledge, studies examining the rheological properties of kefir samples at different serving temperatures are quite limited. In one of these studies, the viscosity values of commercial kefir samples (n=6) were reported at 50 and 100 rpm without any temperature information [12]. In another study, the

rheological properties of a commercial kefir sample were determined at 10, 20 and 30°C, which included temperatures beyond the regular consumption temperatures of kefir drinks [13]. In this present study, the rheological properties of six different commercial kefir samples were determined at 4, 10 and 25°C and the effects of different serving temperatures on the rheological behavior of commercial kefir samples were evaluated.

MATERIALS and METHODS

Materials

Commercial kefir drinks of the dominant brands in Turkey were purchased from various markets, and samples with different production dates were used as a replicate. Then, they were coded as A, B, C, D, E and F and kept at 4°C prior to analyses.

Physicochemical Analyses

The dry matter contents of kefir samples were determined by a rapid moisture analyzer (Kern DBS 60-3, Balingen, Germany) at 110°C, and pH values were determined by a pH meter (Jenco 6173, Jenco, San Diego, CA, USA). Color parameters (L^* , a^* and b^* values) were measured in the CIELAB system by a colorimeter (CR-400 Chroma Meter, Konica Minolta, Japan). During measurements, illuminant D65 and a pulsed xenon lamp as a source of light were used in the device. Before the analyses, the device was calibrated with its white calibration plate then CIE L^* , a^* , and b^* color parameters were obtained. The titratable acidity values of kefir samples were determined according to the method of Oysun [14]. Total nitrogen analyses were conducted by the Dumas method with the Dumatherm analyzer (Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, Germany), and the protein content of kefir samples was determined by using the conversion factor of 6.38. The fat content of kefir samples was determined by the Gerber method [14].

Rheological Analyses

The rheological properties of kefir samples were determined by a Brookfield viscometer (Model DV-II Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, MA, USA) with a spindle of RV-2. For this purpose, a portion of the sample (~500 mL) was placed into a 600 mL beaker, which was carefully isolated by a Styrofoam to minimize heat loss during measurements, and measurements were carried out at a constant temperature. Each measurement was repeated 5 times at the shear rates of 40-120 rpm ($37.2-111.6 \text{ s}^{-1}$) for each temperature (4, 10 and 25°C). Shear rate (s^{-1}), shear stress (dyn/cm^2), torque (%) and viscosity (cp) values were measured at intervals of 10 s. The apparent

viscosity values of commercial kefir samples were determined at 120 rpm (111.6 s⁻¹). Apparent viscosity and torque values were recorded for each shear rate, and the flow behavior index values (n) and consistency coefficients (K, Pa.sⁿ) of kefir samples were determined according to the power law model (Equation 1), where δ and γ demonstrate the shear stress (Pa) and the shear rate (s⁻¹), respectively [15]. The Arrhenius equation (Equation 2) was used to determine the temperature dependency of apparent viscosity and to calculate the activation energy values according to the method of Marcotte et al. [16]. In Equation 2, η is apparent viscosity (Pa.s), A is the frequency factor. E_a, R, T are activation energy, gas constant and temperature (K), respectively.

$$\delta = K(\gamma)^n \quad (1)$$

$$\eta = A e^{(-E_a/RT)} \quad (2)$$

Statistical Analyses

Statistical analyses were conducted using the variance analysis (ANOVA) of Statistical Analysis Software (SAS®) Package Version v9.3 (SAS® Institute, 2010). Mean values of the analyses were compared for significant differences by the Duncan's multiple-range test with the significance level of 0.05. All analyses were conducted in duplicates, and results were expressed as a mean ± standard deviation. PROC CORR procedure was used to obtain the Pearson's correlation of physicochemical and rheological properties of samples in 95% confidence interval.

RESULTS and DISCUSSION

Physicochemical Properties

The chemical analysis results of commercial kefir drinks are presented in Table 1.

Table 1. Chemical analysis results of commercial kefir drinks (mean ± standard deviation)

Sample code	Dry matter (%)	Protein (%)	Fat content (% on dry matter basis)	Fat (%)	pH	Total titratable acidity (% Lactic Acid)
A	11.71±0.22 ^{B*}	2.63±0.09 ^C	26.04±0.00 ^{BA}	3.00±0.00 ^A	4.06±0.04 ^A	0.81±0.02 ^B
B	9.96±0.19 ^E	2.61±0.09 ^C	28.49±1.39 ^A	2.85±0.07 ^{BAC}	3.90±0.05 ^C	0.80±0.02 ^B
C	9.49±0.10 ^F	2.30±0.16 ^C	26.13±0.04 ^{BA}	2.50±0.00 ^C	3.88±0.03 ^C	0.91±0.02 ^A
D	10.51±0.07 ^D	3.06±0.29 ^B	27.49±2.68 ^A	2.90±0.28 ^{BA}	3.88±0.04 ^C	0.93±0.02 ^A
E	11.01±0.07 ^C	3.44±0.11 ^A	22.76±0.22 ^{BC}	2.50±0.00 ^C	3.97±0.02 ^B	0.71±0.04 ^C
F	11.97±0.07 ^A	3.24±0.37 ^{BA}	21.34±1.99 ^C	2.55±0.21 ^{BC}	3.86±0.02 ^C	0.89±0.01 ^A

*Values with different letters in a column indicate statistical significances among means (p<0.05)

The dry matter, protein and fat contents (%) of commercial kefir samples were in the intervals of 9.49±0.10-11.97±0.07%, 2.30±0.16-3.44±0.11%, and 2.50±0.00-3.00±0.00%, respectively. Moreover, pH and total titratable acidity (% lactic acid) values of the samples were determined in the intervals of 3.86-4.06 and 0.71-0.93%, respectively. The pH values of the brands A and E were higher than the pH values of other brands (p<0.05), and insignificant differences were determined in pH values of other four brands. Variations in other physicochemical properties were obtained among different sample groups (p<0.05). For the protein contents of kefir drinks, brands A, B and C were similar (p>0.05) while the protein content of brand E was significantly higher compared to other brands with an exception of brand F (p<0.05). Also, significant differences determined in dry matter values of all six brands that the dry matter content of brand F was significantly higher than others (p<0.05), while the lowest dry matter content value was obtained for brand C (p<0.05). Moreover, an insignificant difference in fat contents (%) was found among A, B and D brands (p>0.05) and also among C, E and F brands (p>0.05). Similar results were reported by Barukčić et al. [17] who compared chemical, sensory and rheological properties of kefir produced by different combination of kefir starters and grains. In their study, pH and titratable acidity values were reported between 4.58-4.65 and 0.686-0.803%, respectively while the average total dry matter was between 10.8 and 11.7%. For kefir drink

prepared by different percentages of kefir grains and storage days, Irigoyen et al. [18] reported that the average ranges for the pH, fat and dry matter contents of kefir drinks were 4.4-4.7, 3.23-3.60% and 11.3-11.7%, respectively. Ünal et al. [12] reported that the ranges for the dry matter, pH and acidity values of commercial kefir samples were 8.71-10.68%, 4.26-4.37, and 0.67-0.88%, respectively. Moreover, the fat content of commercial kefir drinks was reported between 0.55 and 2.90%.

Eryılmaz [5] determined the chemical and mineral composition, and antioxidant properties of kefir drink produced with different milk samples and kefir cultures. In this study, the dry matter content (11.1-12.0%), pH (4.64-5.88) and titratable acidity (0.42-0.86%) values of kefir samples were found similar for different milk samples (p>0.05). Studying the influences of fermentation process variations on kefir quality, Kök-Taş et al. [11] reported the pH and lactic acid (%) values in the ranges of 4.29-4.53 and 0.81-0.95%, respectively. Also, the protein and total solids contents (%) of kefir drinks were in the ranges of 3.09-3.48% and 7.81-8.21% during different days of cold storage. Results for the chemical properties of commercial kefir drinks in this present study were in good agreement with those reported in the literature.

Color parameters (L*, a* and b*) of various commercial kefir drinks are presented in Table 2.

Table 2. Color parameters of commercial kefir drinks (mean \pm standard deviation)

Sample code	L*	a*	b*
A	86.68 \pm 0.02 ^{A*}	-2.58 \pm 0.02 ^B	6.03 \pm 0.04 ^A
B	86.07 \pm 0.09 ^B	-2.40 \pm 0.01 ^A	5.19 \pm 0.25 ^C
C	85.78 \pm 0.12 ^B	-2.67 \pm 0.08 ^C	4.80 \pm 0.10 ^D
D	85.99 \pm 0.13 ^B	-2.69 \pm 0.01 ^C	5.63 \pm 0.19 ^B
E	86.48 \pm 0.07 ^B	-2.54 \pm 0.00 ^B	5.07 \pm 0.15 ^D
F	84.21 \pm 0.53 ^C	-2.87 \pm 0.11 ^D	6.03 \pm 0.39 ^A

*Values with different letters in a column indicate statistical significances among means ($p < 0.05$).

The L*, a* and b* color values of commercial kefir samples were in the intervals of 84.21 and 86.68, -2.87 and -2.40, 4.80 and 6.03, respectively. The highest L* color value was obtained for brand A ($p < 0.05$), while the lowest L* color value was obtained for brand F ($p < 0.05$). Doğan [19] determined the Hunter L color values of kefir with honey as between 63.10-73.18. Also, Hunter a and b color values were determined between -1.50 to -0.92 and 3.77 to 9.35, respectively. Atalar and Dervisoğlu [20] determined the Hunter L, a and b color values of kefir powders as between 84.04 and 90.6, -2.94 and -1.09, 8.62 and 14.64, respectively. Goncu et al. [21]

reported that the Hunter L, a and b color values of kefir samples enriched with apple and lemon fiber changed between 67.23 and 78.87, -1.55 and 1.46, and 9.17 and 11.62, respectively.

Rheological Properties

The apparent viscosity, consistency coefficient and flow behavior index values of commercial kefir samples are presented in Table 3 for different brands at three temperatures.

Table 3. Rheological properties of commercial kefir samples at three different temperatures

Sample code	Temperature (°C)	Apparent viscosity at 111.6 s ⁻¹ (mPa.s)	Flow behavior index (n)	Consistency coefficient (K, mPa.s)	Coefficient of determination (R ²)
A	4	1.24 \pm 0.08 ^{DE*}	0.44 \pm 0.04 ^A	12.12 \pm 2.07 ^H	0.996
	10	1.16 \pm 0.11 ^E	0.37 \pm 0.01 ^B	16.15 \pm 1.69 ^{GH}	0.995
	25	0.48 \pm 0.09 ^G	0.18 \pm 0.05 ^F	28.44 \pm 9.85 ^{A-D}	0.963
B	4	1.76 \pm 0.03 ^A	0.34 \pm 0.02 ^{BC}	31.23 \pm 3.06 ^{AB}	0.996
	10	1.43 \pm 0.12 ^{BC}	0.30 \pm 0.02 ^{CD}	32.84 \pm 4.16 ^A	0.994
	25	0.91 \pm 0.11 ^F	0.30 \pm 0.04 ^{CD}	20.22 \pm 3.41 ^{FG}	0.995
C	4	1.46 \pm 0.05 ^{BC}	0.32 \pm 0.03 ^{BC}	28.58 \pm 4.33 ^{A-D}	0.986
	10	1.43 \pm 0.09 ^{BC}	0.31 \pm 0.04 ^{CD}	30.37 \pm 7.37 ^{AB}	0.994
	25	0.52 \pm 0.14 ^G	0.23 \pm 0.07 ^{EF}	20.80 \pm 6.54 ^{E-G}	0.973
D	4	1.29 \pm 0.06 ^{C-E}	0.34 \pm 0.02 ^{BC}	21.83 \pm 2.24 ^{D-G}	0.997
	10	1.18 \pm 0.08 ^E	0.32 \pm 0.01 ^{BC}	22.86 \pm 2.62 ^{C-G}	0.993
	25	0.52 \pm 0.03 ^G	0.31 \pm 0.06 ^{CD}	11.68 \pm 4.26 ^H	0.979
E	4	1.59 \pm 0.09 ^{AB}	0.34 \pm 0.03 ^{BC}	27.37 \pm 4.92 ^{A-E}	0.996
	10	1.21 \pm 0.35 ^{DE}	0.32 \pm 0.06 ^{BC}	23.19 \pm 4.72 ^{C-G}	0.993
	25	0.58 \pm 0.11 ^G	0.22 \pm 0.05 ^{EF}	24.80 \pm 5.51 ^{B-F}	0.983
F	4	1.59 \pm 0.06 ^{AB}	0.34 \pm 0.02 ^{BC}	27.65 \pm 2.66 ^{A-E}	0.997
	10	1.35 \pm 0.08 ^{CD}	0.31 \pm 0.03 ^{CD}	29.66 \pm 8.28 ^{A-C}	0.996
	25	0.57 \pm 0.06 ^G	0.26 \pm 0.03 ^{DE}	16.54 \pm 1.97 ^{GH}	0.981

*Different letters in a column indicate statistical significances between means ($p < 0.05$)

Table 3 demonstrated that the Power Law model was appropriate to interpret the rheological characteristics of kefir drinks with high R² values ranging from 0.963 to 0.997 (Table 3). This model was previously used to determine the rheological flow properties of fermented milk products as plain yoghurt [22], concentrated milk [9], acidified milk drinks [23], yoghurt drink [24] and kefir [11, 18, 25]. Apparent viscosity values of commercial kefir samples ranged from 0.48 to 1.76 mPa.s. Apparent viscosity values of commercial kefir samples were higher at 4°C than those at either 10 or 25°C. Results showed that the kefir samples of brand B, E and F were more viscous at 4°C. Also, brand B had a higher

apparent viscosity value, in general, at 4 and 25°C than the others ($p > 0.05$). Flow behavior index values (n) changed from 0.18 to 0.44, indicating a typical pseudoplastic behavior. The significantly highest n value was observed for brand A at 4°C ($p < 0.05$). The flow behavior type of commercial kefir samples was non-Newtonian pseudoplastic with respect to Power Law indices ($n < 1$) for all samples ($p < 0.05$).

Similar rheological analysis results were obtained for kefir drinks in the literature studies. Goncu et al. [21] reported the viscosity of kefir samples enriched with apple and lemon fiber in the range of 0.67 and 9.73

mPa.s. Studying the rheological properties of kefir samples produced by mare's milk and its mixtures with goat and sheep milk, Cais-Sokolińska et al. [26] determined the viscosity values of samples between 3.09-4.45 mPa.s. In addition, Garrote et al. [27] reported the apparent viscosity of different kefir samples prepared by different kefir grains between 7.5 and 15.4 mPa.s.

In a study [17], power law model was found appropriate for defining the rheological behavior of kefir drinks with flower and pine honey. In this study, kefir beverages exhibited a non-Newtonian behavior, where the flow behavior indexes (n) changed from 0.37 to 0.47. Similar results for yoghurt drinks were reported in a study by Gursoy et al. [24] where the influence of ultrasound

power on the rheological properties of yoghurt drinks was investigated. According to our results, power law model was suitable to explain the rheological characteristics of kefir samples, which showed a non-Newtonian type flow behavior. Studying the rheological characteristics of a kefir drink at various temperature levels, İçier et al. [13] reported a non-Newtonian pseudoplastic flow behavior with the flow behavior index values of 0.410, 0.426 and 0.351 at 10, 20 and 30°C, respectively. Ünal et al. [12] reported the flow behavior index values of commercial kefir samples ranging between 0.26 and 0.45.

The activation energies of commercial kefir samples were determined by plotting $\ln(\eta)$ versus $(1/T)$ as shown in Figure 1.

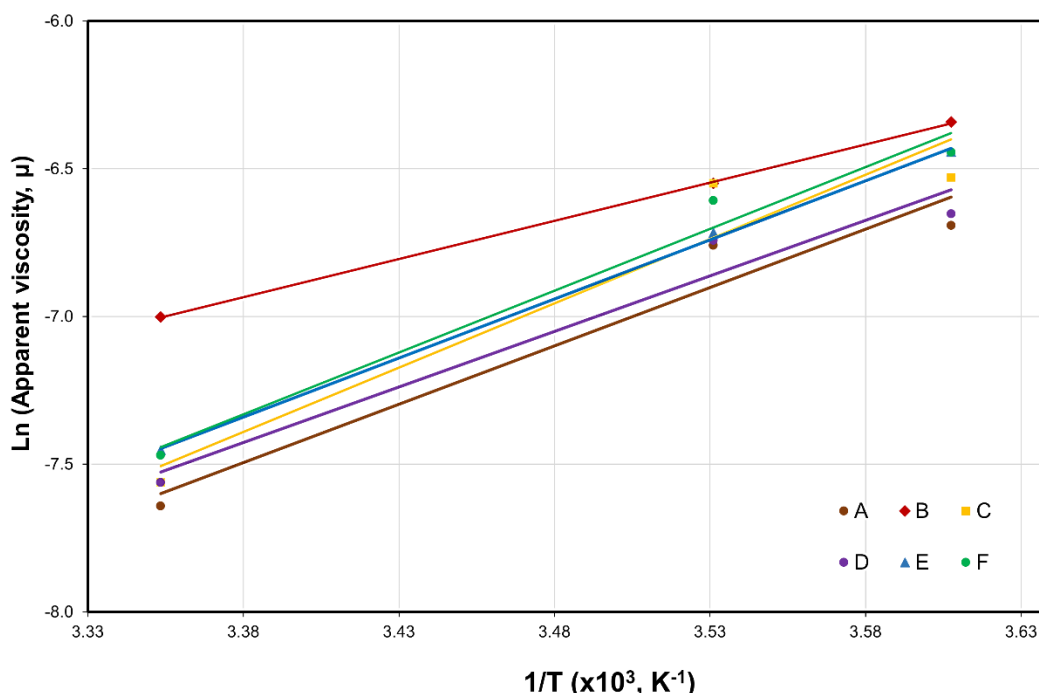


Figure 1. Arrhenius plot of apparent viscosity values of commercial kefir drinks

Activation energy values of kefir samples were determined by the Equation 2 using Figure 1 and changed between 21.51 and 36.18 (Table 4). Results indicated that the viscosity of brand C is relatively more sensitive to temperature changes in comparison to kefir drinks of other brands. Studying the effect of heating from 22 to 70°C on the rheological properties of Cheddar, Colby, whole milk Mozzarella, low-moisture part-skim Mozzarella, Parmesan, soft goat, and Queso

Fresco cheeses, Tunick [28] found the activation energy values of cheeses between 30.4 and 182.5 kJ/mol. In a study determining the temperature dependency of apparent viscosity of oat milk, activation energy values were reported between 07.43 and 303.64 kJ/mol [29]. Abu-Jdayil et al. [30] determined the activation energy of concentrated yogurt (Labneh) between 20.92 and 21.88 kJ/mol.

Sample code	Activation Energy (kJ/mol)
A	32.87
B	21.51
C	36.18
D	31.25
E	33.25
F	34.77

Correlation among Physicochemical and Rheological Properties

The Pearson correlation coefficients for the physicochemical properties of commercial kefir samples by their rheological properties are shown in Table 5.

According to Table 5, the correlation of physicochemical properties of kefir samples with apparent viscosity values were statistically insignificant ($p>0.05$); however, correlations of fat (%), pH and b^* (yellowness) color value with K and n values of commercial kefir samples were found statistically significant ($p<0.05$). Accordingly, as fat (%) and pH values of kefir samples increased, their K values decreased while their n values increased ($p<0.05$).

Table 5. Correlation of physicochemical properties of commercial kefir drinks with their rheological properties (Upper values state Pearson's correlation coefficients (R) and values in parentheses indicate statistical significances)

	Dry matter	Protein	Fat content (Dry matter basis)	Fat (%)	pH	Total titratable acidity	L*	a*	b*
Apparent viscosity	-0.2154 (0.5014)	0.1601 (0.6191)	-0.1185 (0.7138)	-0.3643 (0.2444)	-0.4023 (0.1948)	-0.3530 (0.2604)	-0.3189 (0.3123)	0.2895 (0.3614)	-0.3983 (0.1998)
K	-0.4868 (0.1085)	0.0990 (0.7596)	-0.1198 (0.7107)	-0.5962 (0.0408)**	-0.7170 (0.0087)	-0.0025 (0.9938)	-0.4103 (0.1853)	0.0815 (0.8011)	-0.6225 (0.0306)
n	0.5510 (0.0634)	-0.1210 (0.7081)	0.1079 (0.7385)	0.62554 (0.0296)	0.8574 (0.0004)	-0.2608 (0.4129)	0.4389 (0.1534)	0.1225 (0.7045)	0.6194 (0.0317)

** Bold values show statistically significant correlations ($p<0.05$)

CONCLUSION

Kefir is a popular dairy product with its functional properties and probiotic content. In the present study, physicochemical and rheological properties of the kefir drinks containing the most popular and dominant brands of the Turkish kefir market were determined. Results showed that significant differences in physicochemical and rheological properties were present among the commercial kefir samples of different brands, indicating the compositional variations of raw materials and kefir cultures used in their production. Additionally, rheological properties were influenced by temperature, and Power Law model could be used to define their flow behavior, which was of a pseudoplastic type over the temperature range studied. Fat (%), pH and CIE b^* color values of commercial kefir samples were found to be inversely correlated with consistency coefficient values (K), and these values were positively correlated with the flow behavior index values of commercial kefir drinks (n). This study may promote an important understanding of the physicochemical properties and rheological behavior of the commercial kefir beverages marketed in Turkey.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank to Cahit Burak KÜCÜKİGCİ for his technical support on the total nitrogen analyses of the present study.

REFERENCES

- [1] Farnworth, E.R. (1999). Kefir: From folklore to regulatory approval. *Journal of Nutraceuticals, Functional and Medical Foods*, 1(4), 57-68.
- [2] Gürsoy, O., Kınık, Ö. (2006). Türkiye'de fonksiyonel süt ürünleri pazarı: Gerçekler, beklentiler, öneriler. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, 2006, 123-124p.
- [3] Karagözlü, N., Karagözlü, C., Ergönül, B. (2007). Survival characteristics of *E. coli* O157: H7, *S. typhimurium* and *S. aureus* during kefir fermentation. *Czech Journal of Food Sciences*, 25(4), 202.
- [4] Güzel-Seydim, Z.B., Kök-Taş, T., Greene, A.K., Seydim, A.C. (2011). Functional properties of kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 261-268.
- [5] Eryılmaz, H. (2018). Farklı Kefir Kültürleri ve Sütlerle Elde Edilen Kefirlerin Mineral İçeriklerinin ve Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tunceli.
- [6] Kosikowski, F. (1982). Cheese and Fermented Milk Food. F.V. Kosikowski and Associates Brooktondale, New York.
- [7] Marshall, V.M. (1993). Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 46(2), 49-56.
- [8] Kaur, I.P., Chopra, K., Saini, A. (2002). Probiotics: potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 1-9.
- [9] Vélez-Ruiz, J.F., Barbosa-Cánovas, G.V. (1998). Rheological properties of concentrated milk as a function of concentration, temperature and storage time. *Journal of Food Engineering*, 35(2), 177-190.
- [10] Farnworth, E.R. (2008). Handbook of fermented functional foods. CRC press, 602.
- [11] Kök-Taş, T., Seydim, A.C., Özer, B., Güzel-Seydim, Z.B. (2013). Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 780-789.
- [12] Ünal, F.N., Kalyas, A., Gürbüz-Kaçan, Z., Şengül, M., Ürkek, B. (2020). Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi. *Gıda*, 45(3), 555-563.

- [13] İçier, F., Bozkurt, H., Gürbüz, S. (2008). Characterisation of rheological behaviour of kefir and smooth yoghurt. *Akademik Gıda*, 6(5), 6-11.
- [14] Oysun, G. (2001). *Analyses Methods in Milk and Dairy Products*, Ege University Agricultural Faculty Press, Izmir.
- [15] Steffe, J.F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*, Freeman press. East Lansing, USA.
- [16] Marcotte, M., Hoshahili, A.R.T., Ramaswamy, H.S. (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International*, 34(8), 695-703.
- [17] Barukčić, I., Gracin, L., Režek Jambrak, A., Božanić, R. (2017). Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. *Mljekarstvo*, 67(3), 169-176.
- [18] Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4), 613-620.
- [19] Doğan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6(3), 327-332.
- [20] Atalar, I., Dervisoglu, M. (2015). Optimization of spray drying process parameters for kefir powder using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 60(2), 751-757.
- [21] Goncu, B., Celikel, A., Guler-Akin, M.B., Serdar Akin, M. (2017). Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. *Mljekarstvo*, 67(3), 208-216.
- [22] Shaker, R.R., Jumah, R.Y., Abu-Jdayil, B. (2000). Rheological properties of plain yogurt during coagulation process: impact of fat content and preheat treatment of milk. *Journal of Food Engineering*, 44(3), 175-180.
- [23] Janhøj, T., Frøst, M.B., Ipsen, R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 798-806.
- [24] Gursoy, O., Yilmaz, Y., Gokce, O., Ertan, K., (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(4), 235-241.
- [25] Ertekin, B., Guzel-Seydim, Z.B. (2010). Effect of fat replacers on kefir quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 543-548.
- [26] Cais-Sokolińska, D., Wójtowski, J., Pikul, J. (2016). Rheological, texture and sensory properties of kefir from mare's milk and its mixtures with goat and sheep milk. *Mljekarstvo*, 66(4), 272-281.
- [27] Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L. (2001). Chemical and microbiological characterization of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, 68, 639-652.
- [28] Tunick, M. H. (2010). Activation energy measurements in rheological analysis of cheese. *International Dairy Journal*, 20(10), 680-685.
- [29] Deswal, A., Deora, N.S., Mishra, H.N. (2014). Effect of concentration and temperature on the rheological properties of oat milk. *Food and Bioprocess Technology*, 7(8), 2451-2459.
- [30] Abu-Jdayil, B., Shaker, R.R., Jumah, R.Y. (2000). Rheological behavior of concentrated yogurt (Labneh). *International Journal of Food Properties*, 3(2), 207-216.

İlımlı Elektrik Alan ve Ultrases Ön İşlemlerinin Mikrodalga ve Derin Yağda Kızartma Teknikleriyle Üretilen Havuç Cipslerinin Renk ve Nem İçeriği Üzerine Etkisi

Ahsen Rayman Ergün¹ , Bengünur Kutlu² , Fahriye Ayriç² , Taner Baysal¹ 

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 35100 Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 17.03.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 12.10.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ahsenrayman@hotmail.com (A. Rayman Ergün)

☎ 0 232 311 30 42 📠 0 232 311 48 31

ÖZ

Bu araştırmada farklı ön işlemler (ılımlı elektrik alan ve ultrases uygulaması) sonrası mikrodalga ve derin yağda kızartılan havuç cipslerinin renk değerleri ve nem içerikleri kıyaslanarak ön işlemlerin ve kızartma tekniklerinin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Farklı mikrodalga güçleri (400 ve 600W) ve kızartma sürelerinde (4 ve 6 dakika) çalışılmıştır. Sonuçta aynı sıcaklık derecelerinde ($180\pm 3^{\circ}\text{C}$) ve sürelerde derin yağda kızartmaya kıyasla mikrodalga kızartma işlemi örneklerin nem içeriklerinde daha fazla azalmaya neden olmuştur. En düşük nem içeriğinin %11.19 olarak elektrik alan+ultrases+mikrodalga uygulamalarının birlikte uygulandığı grupta olduğu saptanmıştır. Mikrodalga uygulamasında uygulama süresi ve güç değeri arttıkça nem içeriğindeki azalma artış göstermiştir. Ultrases destekli haşlama işleminin geleneksel haşlamaya kıyasla nem içeriği ve renk değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli seviyede etkili olduğu, ayrıca elektrik alan uygulaması ile hücrelerde parçalanmaya bağlı olarak daha fazla suyun kızartma prosesinde uzaklaştığı tespit edilmiştir. Ultrasesin diğer yöntemlerle kombine kullanıldığında parlaklık ve sarılık değerlerinde daha etkili olduğu ve mikrodalga kızartma teknolojisi uygulanan örneklerde parlaklık değerinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. En yüksek aydınlık değerinin ($L^*=68.76$), ılımlı elektrik alan, ultrases ve mikrodalga uygulamasının birlikte uygulandığı (600 W, 4 dakika) grupta olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ultrases, Mikrodalga kızartma, Havuç cipsi, Renk, Nem

Effect of Moderate Electric Field and Ultrasound Applications on Color and Moisture Contents of Carrot Chips Produced by Microwave and Deep-Frying Methods

ABSTRACT

In this study, color values and moisture contents of microwave-fried and deep-fried carrot chips after different pre-treatments (moderate electric field and ultrasound blanching) were determined, and frying techniques were compared at the same temperature ($180\pm 3^{\circ}\text{C}$). Microwave frying was carried out at two microwave powers (400 and 600W) for 4 or 6 minutes. As a result, microwave frying process provided a significant reduction in the moisture contents of samples at the same temperature and time in comparison to deep frying. The least moisture content was found in the group that treated by both moderate electric field, ultrasound and microwave, as 11.19%. As time and power increased, the moisture contents of samples decreased. Ultrasound blanching was found statistically effective on the color values and moisture contents compared with conventional blanching. Additionally, more water evaporated in the frying process depending on the disintegration of plant cells by the application of electric field. Ultrasound was more effective on the color properties when used in combination with other methods, and the lightness value was found to

be higher in microwave-fried samples. The highest lightness value was found in the group of moderate electric field, ultrasound blanching and microwave frying (600 W, 4 min) as 68.76.

Keywords: Ultrasound, Microwave frying, Carrot chips, Color, Moisture

GİRİŞ

Derin yağda kızartma tekniği, suyun kaynama noktası üzerindeki sıcaklıkta ve yenilebilir yağın içerisinde ürünün kısmen veya tamamen kurutulması olarak tanımlanmıştır [1]. Kızartma teknolojisinde yağ emiliminin fazla olması ve akrilamid oluşumu gibi faktörler nedeniyle yeni tekniklerin kullanımına yönelik çalışmalar dikkat çekmektedir [2-5]. Mikrodalga tekniği ile kızartma bu yeni yöntemler arasında yer almaktadır. Mikrodalga enerjisinin geleneksel yöntemlere kıyasla enerji ve zaman tasarrufu sağlaması bu konudaki uygulamaların önemini daha da artırmaktadır. Ayrıca ultrases ve elektriksel işlemlerin mikrodalga ile kombine kullanılması kızartma işleminde olumlu sonuçlar doğurmaktadır [6, 7]. Örneğin patatesle yapılan bir çalışmada, mikrodalga destekli vakum kızartma ile vakum kızartmaya kıyasla daha az yağ içeriğine sahip, renk özellikleri daha iyi ve daha gevrek yapıda cips elde edildiği saptanmıştır [8]. Benzer bir başka çalışmada ultrases ve mikrodalga destekli vakum kızartma tekniği kullanılarak patates cipsi üretilmesi amaçlanmıştır. İki kızartma sıcaklığı (90 ve 100°C) kullanılarak, USMVF (Ultrases mikrodalga destekli vakumlu kızartma tekniği) ve MVF (mikrodalga destekli vakumlu kızartma) karşılaştırıldığında, özellikle düşük kızartma sıcaklığında, kuruma süresinin %20-28 oranında azaldığı tespit edilmiştir. USMVF'deki enerji tüketiminin MVF'ye kıyasla azaldığı bulunmuştur [7]. Bir başka çalışmada, mikrodalga ile kızartılmış patateslerin yağ içeriğinin geleneksel olarak kızartılmış örneklerden daha düşük olduğu bulgulanmıştır [5]. Ayrıca, Parikh ve ark. [9] tarafından patatesin mikrodalga kızartması sırasında yağ alımının azaldığı belirlenmiştir. Bir başka çalışmada ise ultrases destekli kızartma işlemi sırasında kabak cipslerinin hücresel yapısının da iyi korunduğu saptanmıştır [10]. Vakum kızartma işleminde uygulanan mikrodalga ve ultrases işlemlerinin balkabağı cipsleri için kalite parametrelerinin geliştirilmesinde sinerjistik bir etki gösterdiği vurgulanmıştır [10]. Janositz ve ark. [11] vurgulu elektrik alan uygulamasının patates cipsinde belirgin şekilde yağ emilini azalttığını belirtmiştir.

Elektriksel alan uygulamasıyla dokuların parçalanması amaçlanmaktadır. Yüksek gradientli (1800-2000 V/cm) ve düşük gradientli (11-180 V/cm) elektriksel alan uygulamaları olanaklıdır [12]. Elektrik etkisi ile protein moleküllerinin elektron-kinetik potansiyelinin değişmesi sonrasında ürün ve su moleküllerinin dipol bağları parçalanmaktadır [12]. Bu nedenle üründe elektroplazmolizden sonra bir kısım su serbest kalarak, ürünün termofizik karakteristiği yani ısı iletkenlik, viskozite ve özgül termal kapasite değişmektedir. Bu değişimlerin nedeni ürünün dehidratasyon olayıdır ve üründe sonradan yapılacak ısı işlemlerin kolaylaştırılmasında kullanılabilir [12]. Kurutma ve kızartma işlemlerinde de bu özelliği ile işlem süresini kısalttığı düşünülmektedir. Bir diğer işlem olan ultrasesin

enzimler üzerine etkisi olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu mekanizma genelde ultrasesin makromolekülleri depolimerize etmesi şeklindedir. Ultrasesin diğer işlemlerle (ısı ve/veya basınç) birlikte kullanıldığında daha etkili olduğu saptanmıştır. Ultrases işleminin süt ve meyve ürünlerinde bulunan lipoksigenaz (LOX), polifenoloksidaz (PPO), peroksidaz (POD) gibi enzimlerin ve ısıya karşı dirençli olan lipaz ve proteaz enzimlerinin inaktivasyonunda etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir [13]. Bu özelliği ile geleneksel haşlama işlemine alternatif olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır.

Yapılan bu çalışmada havuç örneklerine ön işlem olarak ılımlı elektrik alan uygulaması (40 V, 60 s) ve ultrases haşlama yöntemi (35 kHz, 80°C, 2 dakika) uygulanmıştır. Bu yöntemlerin kombine edilmesiyle yapılan ön işlemlerin mikrodalga kızartma (farklı güç ve sürelerde) ve geleneksel kızartma (180°C) işlemlerine etkisi araştırılmıştır. Uygulanan kızartma işlemlerinin üründe nem ve renk düzeyine etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada havuç (*Daucus carota L.*) yerel bir marketten temin edilmiş, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Meyve ve Sebze İşleme Pilot Tesisinde +4°C depoda (BZP-L3303 WCP, Vestel, Türkiye) işlemler yapılabildiği kadar muhafaza edilmiştir. Havuçlar (0.01m×0.01m×0.05m) boyutlarında dilimleme makinesi (Berkel, Almanya) ile dilimlenmiştir. Ayçiçek yağı kullanılarak kızartma işlemi yapılmıştır. Kullanılan tüm kimyasallar (hidrojen peroksit, guaiacol ve sodyum fosfat tampionu (Merck, Almanya)) analitik saflıktadır.

Metot

İşleme Yöntemleri

Havuç örnekleri ılımlı elektrik alan uygulanmış ve uygulanmamış (kontrol) olarak ikiye ayrılmıştır. Her iki gruptaki örnekler ultrases ve geleneksel haşlama yöntemleri ile haşlanmış sonrasında iki farklı kızartma metodu ile kızartılmıştır. Kontrol grubu; ultrases haşlanmış mikrodalga kızartılmış (US+MD), ultrases sonrası derin yağda kızartılmış (US+DK), geleneksel haşlanmış mikrodalga kızartma işlemi uygulanmış (GH+MD) ve geleneksel haşlama işlemi uygulanmış sonrasında derin yağda kızartma işlemi uygulanmış (GH+DK) olarak 4 gruba ayrılmıştır. Elektrik alan işlemi uygulanmış örnekler de iki farklı haşlama yöntemine göre haşlanmış sonrasında mikrodalga kızartılmış (EA+US+MD ve EA+GH+MD) ve derin yağda kızartılmış örnek grupları (EA+US+DK ve EA+GH+DK) şeklinde ayrılmıştır. Havuç cipsi akım şeması ve örnek grupları Şekil 1'de belirtilmiştir.

Mikrodalga işlemi iki farklı güçte (400 ve 600 W) uygulanmış, merkezine de (4-6 mm derinliğinde) iki sıcaklık sensörü kızırtma için ise iki farklı süre (4 ve 6 dakika) denenmiştir.

İlimli Elektrik Alan Uygulaması

İğneli vals tipi elektrolizmatör (2011/ 10506 Y faydalı model, Türkiye) ile havuçlar bütün halde iken havuç için daha önce belirlenmiş en uygun koşullarda (40 V, 60 s) ilimli elektrik alan uygulanmıştır [14].

Haşlama İşlemi

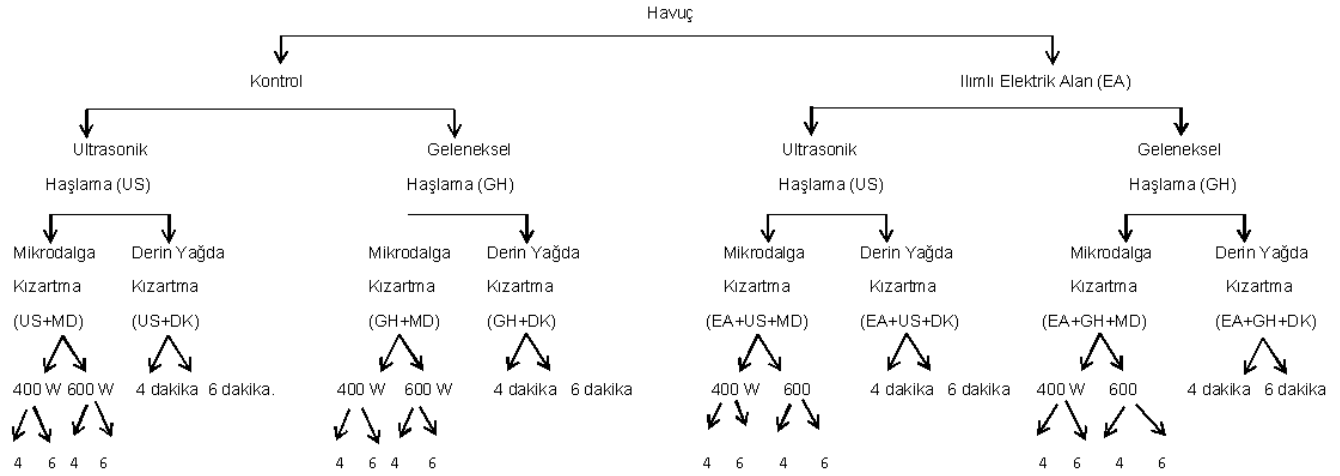
Geleneksel haşlama işleminde örnekler 2 dakika boyunca 95°C'de suda (Nuve ST30, Türkiye) haşlanmıştır [15]. Ultrases ile haşlama yönteminde ise havuç örnekleri 30 dakika boyunca (42°C, 92.5 W) ultrasonik su banyosunda (35 kHz, Everest Ultrasonic, Türkiye) haşlanmıştır [16]. Bu parametreler seçilirken enzim (peroksidaz) inaktivasyonu göz önünde bulundurulmuştur. Tüm örnekler haşlama sonrasında akan suyun altında 1-2 dakika soğutulmuş ve örneklerin fazla suyu filtre kağıdı yardımıyla uzaklaştırılmıştır.

Kızırtma

Geleneksel kızırtma işleminde 25 g havuç örneği (başlangıç nem: %91.04) 250 mL ayçiçeği yağı ile dolu olan 3 litre kapasiteli fritöz ile (Sinbo, SDF 3827, Fransa) gerçekleştirilmiştir [17]. İki farklı havuç örneğinin

merkezine de (4-6 mm derinliğinde) iki sıcaklık sensörü yerleştirilmiş ayrıca kızırtma yağı sıcaklığı da 180°C olarak belirlenmiştir. Numunelerin yüzeyindeki fazla yağ filtre kağıdı ile 20 saniye boyunca giderilmiştir.

Mikrodalga kızırtma ise 25 g havuç örneği (başlangıç nem: %91.04) 250 mL ayçiçeği yağı ile dolu olan pyrex kabına yerleştirilerek (GW72N Samsung Electronics, Kore, 100-900 W) farklı güç (315-400-600 W) ve farklı sürelerde (0, 2, 4, 6 ve 8 dakika) uygulanmıştır. Yapılan ön denemeler sonucunda havuç cipsi üretimi için 400 ve 600 W gücünde 4 ve 6 dakika mikrodalga işlemi uygulanmasına karar verilmiştir. Mikrodalga uygulamasında 315 W gücünde ve 2 dakika süresince istenilen sıcaklığa ulaşılamadığı, 8 dakika sonunda ise örneklerin fazla kızarması sonucu kararmalar saptanmıştır. Geleneksel kızırtmayla kıyaslayabilmek için mikrodalga kızırtmada da yağ sıcaklığı 180°C olarak seçilmiştir. İki farklı güçte sıcaklık 180°C'ye ulaşıncaya 4 ve 6 dakika örnekler kızırtılmıştır. Sıcaklık geleneksel kızırtma ile kıyaslamak amacıyla mikrodalgada kesikli (60 saniye on 60 saniye off şeklinde) çalışılarak 180±3°C olacak şekilde sabit tutulmuştur. Kızırtma yağı sıcaklığı iki ayrı sensörle ölçülmüştür. Geleneksel kızırtma işlemindeki gibi iki farklı havuç örneğinin merkezine de (4-6 mm derinliğinde) iki sıcaklık sensörü yerleştirilmiştir. Numunelerin yüzeyindeki fazla yağ, filtre kağıdı ile 20 saniye boyunca giderilmiştir.



Şekil 1. Havuç cipsi üretim grupları

Peroksidaz Enzim Tayini

Peroksidaz aktivitesi, substrat olarak guaiacol ve hidrojen donörü olarak H₂O₂ kullanılarak spektrofotometrik (UV 1601 PC-Shimadzu Corporation, Japonya) yöntemle 470 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Substrat karışımı 10 mL %1 guaiacol, 10 mL %0.3 hidrojen peroksit ve pH 6.5 değerinde 100 mL 0.05M sodyum fosfat tamponu içermektedir [18].

Nem Tayini

Örneklerde nem tayini infrared nem cihazı (MOC63u, Shimadzu Inc. Japonya) ile 2.5 g örnek kullanılarak % olarak belirlenmiştir [19].

Renk Ölçümü

Kızırtılmış havuç cipslerinin renk ölçümleri Minolta renk ölçüm cihazı (MINOLTA, CM-3600d, Japonya) ile örnekler bütün halde cihazla temas edilerek yapılmıştır [20]. Her ölçümde bir havuç dilimi (2.5±0.5 g) kullanılmış ve 3 paralel ölçüm alınmıştır. Cihaz standart beyaz çizgiye (Y=93.9, x= 0.313, y=0.321), L* (aydınlık), a*

(kırmızı-yeşil), ve b^* (mavi-sarı) değerlerine göre kalibre edilmiş, geleneksel haşlanmış derin yağda kızartılmış (GH+DK) örnek grubu referans olacak şekilde toplam renk farkı ve hue açısı hesaplanmıştır (Denklem 1, 2).

$$\Delta E = \sqrt{[(L^* - L^*_{ref})^2 + (a^* - a^*_{ref})^2 + (b^* - b^*_{ref})^2]} \quad (1)$$

$$\text{Hue angle } (^{\circ}H) = \tan^{-1}(b^*/a^*) \quad (2)$$

İstatistiksel Analiz

Denemeler 2 tekrar ve tüm analizler 3 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasındaki istatistiksel analiz SPSS paket programı kullanılarak (SPSS 15.0 for Windows Version; SPSS Inc., Şikago, ABD) %95 güven aralığında gerçekleştirilmiştir. Varyans analizinden (ANOVA) yararlanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Mikrodalga ve geleneksel yöntemle kızartılan havuç örnekleri için nem ve renk değerleri Tablo 1 'de verilmiştir. Aynı sıcaklıkta kızartılan örneklerin nem içerikleri kıyaslanmıştır. En yüksek nem içeriği kontrol örneğinde 6 dakika kızartılan havuç cipslerinde %20.04 olarak bulunmuştur. Nem içeriği karşılaştırıldığında aynı sürede kızartılan ürünler için geleneksel kızartma işlemine göre mikrodalga kızartma işleminin daha hızlı nem kaybına neden olduğu görülmektedir. Elektriksel alan ve ultrases işlemlerinin birlikte uygulandığı örneklerde nem içeriği diğer örneklerle kıyasla daha düşük (%12) bulunmuştur. En düşük nem içeriğinin %11.19 olarak EA+US+MD grubunda olduğu saptanmıştır. Bu iki uygulamanın hücre parçalanmasına yardımcı olarak kütle transferini hızlandırdığı ve kızartma işlemi sırasında suyun daha hızla uzaklaştığı sonucuna varılmıştır. Literatürde benzer sonuçlar bulunmaktadır. Örneğin Janositz ve ark. [11] patates cipsine vurgulu elektrik alan uygulamasının kütle transferini hızlandırarak örneklerin daha düşük nem içeriğine sahip olduğunu vurgulamıştır. Elektriksel işlem bitkisel ürünlerde hücre duvarının zarar görmesine neen olarak dehidrasyonun daha kısa sürede oluşmasını sağlamakta böylelikle kurutma ve kızartma işlemlerinde nem içeriği azalmaktadır. Su ve ark. [21] patates cipsi üretiminde vakum altında kızartmada mikrodalgadan yararlanmış ve evaporasyon hızının arttığını saptamıştır. Aynı yazarlar 2018 yılındaki yayınlarında ultrasesin mikrodalga ile kombinasyonunda kütle transferinin hızlanması ile mikrodalganın kızartma süresini kısalttığını belirtmişlerdir [7]. Sürenin kısalması ile renk ve tekstür gibi özelliklerin daha iyi korunduğu ve bu yönde kalitenin arttığı vurgulanmıştır. Ancak mikrodalga gücünün kızartma süresine belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür [7].

Çalışmada geleneksel haşlama sonrasında mikrodalga kızartma işleminde iki farklı güç ve sürede kızartılan örneklerin nem içerikleri karşılaştırıldığında ise 400 W ile 600 W güçte kızartılan kontrol örnekleri arasında nem içerikleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$). Ultrases haşlanmış havuç dilimleri 600 W gücünde mikrodalga ile kızartıldığında geleneksel haşlanmış örneklerle kıyasla

daha az nem içeriğine sahip bulunmuştur. Benzer şekilde, Öztöp ve ark. [5] mikrodalgada 400, 550 ve 700 W güçlerde ve 2, 2.5 ve 3 dakika süresince patatese kızartma işlemi uygulamış, güç ve süre arttıkça nem oranının düştüğü saptanmıştır. Nem içerikleri mikrodalga (550 W, 2.5 dakika) ve derin yağda kızartma (2.5 dakika) için sırasıyla %42.04 ve 67.44 olarak bulunmuştur. Huang ve ark. [10] ultrases destekli mikrodalga vakum kızartmada kabak dilimlerinin kalitesini incelemişlerdir. Ultrasesin rengi etkilemediği ancak nem içeriği belirgin bir şekilde azalttığı vurgulanmıştır. Ayrıca mikrodalga ve ultrasesin birlikte kullanımı ile nem içeriğinin düşürülebileceği ve kızartma süresinin kısaltılabileceği belirtilmiştir. Yüksek mikrodalga güçleri uygulandığı zaman (600, 800, ve 1000 W), son nem içeriklerinin (8.54, 8.09 ve 7.85 g/100 g kb) azaldığı; azalan nem içeriğinin de kızartma işlem süresini kısalttığını vurgulamışlardır. Ultrases destekli mikrodalga vakum kızartma örneklerinde mikrodalga vakum kızartmaya kıyasla daha az nem içeriği saptanmıştır [10]. Devi ve ark. [2] nem içeriğinin artan mikrodalga gücü ile azalış gösterdiğini ve en fazla nem kaybının 1000 W gücünde belirlendiğini aynı sürede UMFV örneklerinden uzaklaşan suyun VF ve MVF örneklerinden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bunu da yağda kızartma esnasında ultrasesin mantarlarda dokuyu zayıflatarak nem çıkışını hızlandırması olarak açıklamışlardır [2]. Aydınkaptan ve Mazi [22] farklı güçlerde mikrodalga fırında patates kızartması üretmişler ve geleneksel derin yağda kızartılmış örnekler ile nem içeriği ve renk değerlerini kıyaslamışlardır. Sırasıyla 360 W (MF360), 600 W (MF600), 900 W (MF900) ve derin yağda kızartma (DF) için nem içerikleri kuru madde bazında %41.41±0.85, 37.20±0.51, 35.47±0.64 ve 52.95±0.9 olarak saptanmıştır. Mikrodalga kızartılmış patatesler konvansiyonel kızartmaya göre daha düşük neme sahiptir. Bu sonucu kızartma işleminde suyun gıdanın yüzeyinden hızla evaporasyon olurken gıdanın yüzeyi ve iç kısmı ile büyük bir nem gradyanı oluşturması ile açıklamışlardır. Gıdanın içeriğindeki nem buhar olarak dışarı çıkarken de basınç gradyanı oluşturmaktadır. Nem kaybı devam ederken nemin ayrıldığı kısımlar kuru ve hidrofilik bir yapı özelliği kazanır [22]. Başka bir çalışmada Su ve ark. [8] düşük sıcaklığın mikrodalga destekli vakum kızartmış patates cipslerine etkisini araştırmış ve genelde %2 değerinin altındaki nem içeriklerinde patates cipsinin tercih edildiğini saptamışlardır. Örneğin kızartmanın 120 sn süre sonrasında nem içerikleri 600 W, 800 W ve 1000 W güç değerlerinde sırasıyla %36.88, 31.32, ve 22.11 olarak bulunmuştur. En düşük nem içeriği ise en yüksek güçte (1000 W) ve en uzun süre kızartılan (6 dakika) örnekte bulunmuştur. Quan ve ark. [23] nem içeriğindeki azalmanın yavaşladığı kızartmanın 240. saniyesinde kurutmanın düşen hızda kuruma bölgesine benzeğini belirtmiştir. Parikh ve Takhar [9] 177 ve 193°C sıcaklıklarda, konvansiyonel ve mikrodalga kızartma işlemlerinde nem içerikleri açısından hiçbir farklılık göstermediğini ancak 185°C'de 60 ve 120 saniye kızartma işleminde geleneksel kızartmaya göre mikrodalga kızartmada daha düşük nem içeriği bulunduğunu açıklamışlardır.

Tablo 1. Örnek gruplarına ait nem içerikleri ve renk değerleri

Örnek	Nem (%)	L*	a*	b*	ΔE	Hue açısı
US+MD (400 W, 4 dakika)	20.04 ^a ±0.02	61.09 ^a ±0.01	18.18 ^a ±0.02	37.51 ^a ±0.02	9.05 ^a ±0.02	45.80 ^b ±0.02
US+MD (400 W, 6 dakika)	14.24 ^b ±0.01	59.49 ^b ±0.02	18.36 ^a ±0.02	35.67 ^b ±0.03	9.48 ^b ±0.02	43.97 ^b ±0.02
US+MD (600 W, 4 dakika)	15.19 ^d ±0.01	50.81 ^d ±0.02	18.40 ^a ±0.03	31.33 ^d ±0.03	9.56 ^c ±0.02	46.72 ^d ±0.02
US +MD (600 W, 6 dakika)	13.50 ^c ±0.01	57.47 ^c ±0.01	18.41 ^a ±0.01	39.75 ^c ±0.01	9.61 ^c ±0.02	47.56 ^c ±0.02
US+DK (4 dakika)	25.50 ^e ±0.01	46.89 ^e ±0.02	20.01 ^b ±0.02	27.80 ^e ±0.02	9.83 ^c ±0.02	47.05 ^c ±0.02
US+DK (6 dakika)	22.50 ^f ±0.01	45.86 ^f ±0.05	20.86 ^c ±0.05	25.25 ^f ±0.02	9.95 ^d ±0.02	47.86 ^c ±0.02
GH+MD (400 W, 4 dakika)	17.17 ^g ±0.02	59.38 ^g ±0.01	19.22 ^d ±0.02	31.53 ^d ±0.04	10.11 ^d ±0.03	44.81 ^c ±0.02
GH+MD (400 W, 6 dakika)	17.05 ^g ±0.01	55.02 ^h ±0.02	19.25 ^d ±0.02	31.69 ^d ±0.02	10.78 ^e ±0.02	44.83 ^c ±0.02
GH+MD (600 W, 4 dakika)	16.05 ^h ±0.01	54.58 ^h ±0.01	19.26 ^d ±0.02	35.26 ^e ±0.02	10.88 ^e ±0.01	44.87 ^c ±0.02
GH+MD (600 W, 6 dakika)	16.00 ^h ±0.01	54.51 ⁱ ±0.02	19.83 ^c ±0.04	35.82 ^f ±0.01	10.50 ^f ±0.02	44.88 ^c ±0.02
GH+DK (4 dakika)	30.00 ⁱ ±0.02	46.49 ⁱ ±0.02	19.78 ^c ±0.02	33.70 ^g ±0.00		50.33 ^d ±0.02
GH+DK (6 dakika)	31.04 ⁱ ±0.02	42.13 ^j ±0.05	19.94 ^c ±0.04	34.02 ^h ±0.02		50.89 ^d ±0.02
EA+US+MD (400 W, 4 dakika)	12.51 ⁱ ±0.02	62.97 ^k ±0.06	18.34 ^a ±0.01	34.40 ⁱ ±0.02	5.07 ^g ±0.02	41.20 ^b ±0.02
EA+US+MD (400 W, 6 dakika)	12.38 ^j ±0.01	65.66 ^j ±0.02	18.39 ^a ±0.02	31.83 ^j ±0.02	5.86 ^h ±0.02	41.18 ^b ±0.02
EA+US+MD (600 W, 4 dakika)	12.00 ^j ±0.03	68.76 ^m ±0.02	18.49 ^a ±0.02	30.05 ^j ±0.03	5.55 ^h ±0.01	42.29 ^e ±0.02
EA+US+MD (600 W, 6 dakika)	11.19 ^k ±0.01	62.89 ⁿ ±0.05	18.88 ^a ±0.02	34.40 ^k ±0.02	5.31 ^h ±0.02	42.28 ^e ±0.02
EA+US+DK (4 dakika)	13.80 ^j ±0.01	56.32 ^j ±0.04	19.13 ^b ±0.02	40.66 ^j ±0.02	6.62 ⁱ ±0.04	44.26 ^f ±0.02
EA+US+DK (6 dakika)	13.80 ^j ±0.01	59.70 ⁱ ±0.02	19.40 ^b ±0.01	41.04 ^m ±0.02	6.87 ^j ±0.02	44.46 ^f ±0.02
EA +GH+MD (400 W, 4 dakika)	16.50 ^m ±0.03	56.11 ⁱ ±0.01	20.17 ^h ±0.02	39.63 ^m ±0.01	5.09 ^h ±0.02	45.60 ^c ±0.02
EA +GH+MD (400 W, 6 dakika)	16.44 ^m ±0.01	50.81 ^o ±0.02	20.25 ^h ±0.02	31.33 ⁿ ±0.02	4.56 ^h ±0.03	43.72 ^d ±0.02
EA +GH+MD (600 W, 4 dakika)	17.39 ⁿ ±0.01	61.09 ^p ±0.03	20.20 ^h ±0.02	31.53 ⁿ ±0.02	6.11 ^k ±0.02	42.81 ^e ±0.02
EA +GH+MD (600 W, 6 dakika)	16.36 ⁿ ±0.03	54.72 ^q ±0.01	20.83 ⁱ ±0.06	35.82 ^j ±0.01	6.88 ^l ±0.02	44.43 ^f ±0.02
EA+GH+DK (4 dakika)	18.12 ^o ±0.02	45.69 ^q ±0.01	25.13 ^k ±0.01	35.96 ^j ±0.02	5.31 ^m ±0.01	47.76 ^g ±0.02
EA+GH+DK (6 dakika)	18.68 ^o ±0.05	61.29 ^b ±0.02	25.47 ^k ±0.02	37.07 ^k ±0.02	5.39 ⁿ ±0.02	47.82 ^g ±0.02

*Aynı sıradaki farklı harflerle (^{a-q}) ifade edilen değerler örnekler arasında $P \leq 0.05$ düzeyindeki istatistiksel farkı göstermektedir.
 *EA= Elektrik alan, US= Ultrases haşlama, GH= Geleneksel haşlama, MD= Mikrodalga kızartma ve DK=Derin yağda kızartma işlemi uygulanmış örnek gruplarını göstermektedir. Bu işlemlerin kombine uygulanması "+" ile gösterilmiştir

Örneklerin renk değerleri incelendiğinde en yüksek aydınlık değerinin ($L^*=68.76$) EA+US+MD (600 W, 4 dakika) grubunda olduğu saptanmıştır. Derin yağda kızartma işleminde mikrodalga kızartmaya kıyasla daha düşük L^* değerleri bulunmuş ayrıca ultrases uygulaması ile geleneksel haşlama işlemi kıyaslandığında ise ultrasesin parlaklığı daha iyi koruduğu, elektriksel alan uygulamasının örneklerde aydınlık değerini arttırdığı sonuçlarına ulaşılmıştır. Derin yağda kızartma işleminde sürenin parlaklık değerleri üzerine etkisi önemli olarak bulunmazken ($p>0.05$), mikrodalga kızartma gruplarında güç ve sürenin parlaklık değerinde anlamlı bir farklılığa neden olduğu saptanmıştır ($p\leq 0.05$). Kırmızılık değeri ise en fazla EA+GH+DK (6 dakika) grubunda 25.47 ± 0.02 değerinde; en az US+MD (400 W, 4 dakika) grubunda 18.18 ± 0.02 değerinde bulunmuştur. Elektriksel alan uygulaması sonrasında hücre parçalanmasında bağlı olarak kırmızılık değerlerinin değişmesi beklenen bir sonuçtur. Kırmızılığın artması esmerleşmenin arttığını göstermektedir. Sürenin ve gücün etkisi kırmızılık değerinin değişiminde önemli olarak bulunmamıştır ($p>0.05$). Sarılık değerini gösteren b^* değeri açısından ise işlemlerin etkisi ayrıca süre ve gücün de etkisi önemli olarak saptanmıştır ($p\leq 0.05$). Bu renk değerlerine bağlı olarak toplam renk farkı (ΔE) değerlerinin arasında da istatistiksel açıdan önemli farklar bulunmuştur ($p\leq 0.05$). Esmerleşme indeksini gösteren $^{\circ}$ Hue açısı en fazla GH+DK grubunda (50.89 ± 0.02) saptanmıştır.

Kızartma işlemi süresince renk değişimi Maillard reaksiyonu, karamelizasyon ve kimyasal oksidasyon sonucunda değişmektedir. Bu nedenle ultrases uygulamasının mikrodalga vakum kızartma işleminde bu reaksiyonları azalttığı ve doğal rengi daha iyi koruduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde Baardseth ve ark. [24] yaptıkları derin yağda kızartılmış havuç cipsi üretimi çalışmasının renk analizi sonucunda L^* (52.4), a^* (16.3), ve b^* (32.2) değerleri bulunmuştur. Huang ve ark. [10] kabak dilimlerinde mikrodalga ve ultrasesin kombine etkisinin kızartılmış ürünün kalitesinde etkili olduğunu vurgulamıştır [10]. Dueik ve ark. [20] vakum kızartma teknolojisi ile havuç cipsi üretiminde son ürün %2 olacak şekilde örneklerin 180°C 'de atmosferik koşullarda kızartılması sonucu a^* değerini 15.3 ve b^* değerini 25.3 olarak bulmuştur. Vakum altında kızartıldığında ise bu değerler 45.4 ve 65.1 olarak saptanmıştır. Bir başka çalışmada Liu ve ark. [25] vurgulu elektrik alan uygulamasının patateslerin kızartılmasında geleneksel kızartmaya göre daha düşük sıcaklıklarda aynı esmerleşme indeksine ulaştığı belirlenmiştir. Elektriksel alan uygulaması ile elektropasyon sonucu indirgen şekerlerin yüzeye çıkması ve ürünün esmerleşmeye daha yatkın hale geldiği belirtilmiştir [25]. Öztop ve ark. [5] mikrodalgada 400, 550 ve 700 W güçlerde; 2, 2.5 ve 3 dakika süresince kızartma işlemi uygulamış ve toplam renk değerinin de artan güç ve süreyle arttığını saptamıştır. Benzer bir çalışmada Faruq ve ark. [26] elma dilimlerinin mikrodalga vakum kızartma (MVF) ve ultrases destekli vakum mikrodalga kızartma (UMVF) işlemleri sonrasında renk değerlerindeki değişimi incelemiştir. İki farklı güçte (800 W and 1000 W) 90°C ve 18 dakika süren kızartma işleminde 1000 W güç için UMVF grubunda sırasıyla L, a, b ve ΔE

değerlerini 73.56, -2.75, 29.7, 8.71 değerlerinde ölçmüşlerdir. UMVF 800 W için ise bu değerler yine sırasıyla 66.78, -4.1, 25.59, 11.90 ve MVF-800 W için ise 63.67, -4.8, 24.01 ve 13.81 bulunmuştur. Bu çalışma da ultrasesin rengi koruduğunu destekler niteliktedir [26]. Bu çalışmaya paralel olarak Sansano ve ark. [17] mikrodalğanın 430 ve 600 W gücünde a ve b değerlerindeki artışa bağlı olarak renk farklılıklarında belirgin artışlar olduğunu saptamıştır. Ultrases destekli vakum mikrodalga çalışan Devi ve ark. [2] yaptıkları bir çalışmada VF, MVF ve UMVF gruplarına ait a^* değerini istatistiksel olarak önemli seviyede farklılık gösterdiğini ($p\leq 0.05$) ve en düşük a^* değerinin UMVF grubunda saptandığını belirtmişlerdir. Bu üç kızartma prosesinde a^* değerlerinin kıyaslanması sonucunda ultrasesin enzimatik esmerleşme göstergesi olan kırmızılık değerini azaltıcı etkisinin de olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan b^* değeri kızartma sıcaklığı arttıkça artış göstermiş ve en yüksek b^* değeri UMVF grubunda bulunmuştur ($p\leq 0.05$). Patates kızartılması konusunda yapılan bir başka çalışmada Ignat ve ark. [27] vurgulu elektrik alan (9000 vurgu, 0.75 kV/cm) ile L^* değerini 66.40 ± 2.60 ve kırmızılık değerini -3.74 ± 0.29 bulmuştur. Derin yağda kızartmaya kıyasla parlaklık değerinde azalma ve kırmızılık değerinde ise artış saptamışlardır. Bu sonucu elektriksel alanın hücreyi parçalayarak esmerleşmeye sebep olabilecek substrat niteliğindeki indirgen şekerlerin açığa çıkması ve renk özelliklerinin değişmesi ile açıklamışlardır [27]. Elektriksel işlem uygulanan bir diğer çalışmada ise mantar cipslerinde kurutma sonrasında parlaklığın ve kırmızılık değerinin artması yine bu sonuçları destekler niteliktedir [28].

Aydıncıktan ve Mazı [22] farklı güçlerde mikrodalga fırında patates kızartması üretmiş ve geleneksel derin yağda kızartılmış örnekler 360 W (MF360), 600 W (MF600), 900 W (MF900) ve derin yağda kızartma (DF) için toplam renk değişimleri ise (ΔE) 29.25 ± 1.90 , 30.28 ± 1.27 , 31.76 ± 1.65 , 25.96 ± 1.44 olarak bulunmuştur. Parlaklık değerlerinde mikrodalga ile desteklenmiş vakum kızartma işlemi sonrasında belirgin azalmalar saptanmıştır. Parlaklık değeri 100°C 'de kızartılan örneklerde 90°C ve 95°C 'de kızartılanlara kıyasla daha az bulunmuştur. Quan ve ark. [23] cipslerde parlaklık değerinin yüksek olması istendiğini vurgulamış ve mikrodalga gücünde ve süresinde artışa bağlı olarak b^* (sarılık) değerinde de artışa rastlanıldığı rapor edilmiştir. Ayrıca toplam renk değerleri aynı şekilde mikrodalga gücündeki ve uygulanan süredeki artışa paralel olarak artmıştır. Mikrodalga gücü arttıkça enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları da artmaktadır. Böylelikle patateslerin renginde koyulaşma görülmüştür. Ancak, mikrodalga gücünde artış kırmızılık değerinde artış sağlamamıştır. Bu sonuç da yine bu araştırmada ulaşılan sonuç ile benzerlik göstermektedir. Çalışmayı destekleyici nitelikte diğer bir araştırmada Parikh ve Takhar [9] hem derin yağda hem de mikrodalgada kızartma işleminde yüksek kızartma sıcaklıklarında ve uzun sürelerde b^* değerinde artışlar olduğunu belirtmiştir. Ayrıca çalışmada 185 ve 193°C sıcaklıklarda 120 saniye kızartma süresince mikrodalga ile yağı azaltılmış patates kızartması üretilmesinin mümkün olduğunu vurgulamışlardır. Ancak nem içeriklerinde bir farklılık bulunmamıştır. Mikrodalga

kızartılan örnekler yüksek sıcaklıklarda bile derin yağda kızartmaya kıyasla daha açık renkte ve daha sarı olarak değerlendirilmiştir [9]. Bir başka çalışmada ise Su ve ark. [7] cipserin renk değerleri için yüksek L*, düşük a* ve yüksek b* değerlerini ultrases destekli VF ile saptanmıştır. L* ve b* değeri ultrases ile MVF örnekleri için istatistiksel olarak önemli seviyede artmış, a* değeri ise azalmıştır. Toplam renk değeri ise ultrasesin etkisi ile önemli düzeyde azalmıştır. Ultraseste yüksek güçler ise düşük renk farklılığına yol açmıştır. USMVF örneklerinde renk özelliklerinin iyileştirilmesi, ultrases ve mikrodalga sinerjik etkisi ile hızlandırılmış nem kaybı oranı açıklanmıştır. Bu nedenle, ısınan yağa maruz bırakılma süresi ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları olasılığının azalabileceği savunulmuştur [29]. Ultrases ve mikrodalga kombinasyonunun renk parametreleri üzerindeki bu "sinerjik etkisi" Szadzińska ve ark. [29] tarafından açıklanmaya çalışılmıştır. MVF örneklerinin kırmızılığının (a* değeri) ve toplam renk değişiminin (ΔE değeri) ultrases kombinasyonu ile önemli ölçüde azaldığı (p<0.05) ve bunun sonucunda da "mikrodalga ısınma etkisiyle ultrasesin etkisinin iki katına çıkması" olarak yorumlanmıştır. Benzer sonuçlar ahududuların konvektif ve konvektif-mikrodalga kombine kurutmalarında yüksek güç ultrases uygulaması ile elde edildiği bir çalışmada daha vurgulanmıştır. Ayrıca, Aydınkaptan ve Mazi [22] patates kızartması konusunda yaptıkları çalışmada mikrodalga ısıtmanın konvansiyonel yöntemle kıyasla kalite parametrelerinde olumlu etki yaratarak daha fazla değişime sebep olduğunu vurgulamışlardır.

SONUÇ

Son yıllarda kızartma teknolojisi konusunda yapılan çalışmalar mikrodalga kızartma tekniğinin kullanımına yönelik olarak gelişme göstermektedir. Yapılan çalışmada havuç örneklerine ılımlı elektrik alan ve haşlama (geleneksel ve ultrases yöntemi ile) ön işlemleri uygulamasının ve bu yöntemlerin kombinasyonunun mikrodalga kızartma ve geleneksel kızartma işlemlerine, uygulanan kızartma işlemlerinin de ürünün nem ve rengine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Geleneksel gıda işleme yöntemlerine alternatif olarak meyve ve sebze işleme sanayinde kullanılan ılımlı elektrik alan ve mikrodalga kızartma işleminin ürünün renk özelliklerini daha iyi koruduğu saptanmıştır. İşlemlerin kombine uygulandığı grupta parlaklık değerinin en yüksek, geleneksel haşlanmış derin yağda kızartılan örnekte ise bu değer en düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca farklı kızartma sürelerinin ve mikrodalga güçlerinin nem içeriği ve renk değerlerine etkisi incelenmiştir. Artan güç ve süreye bağlı olarak nem içeriğinin azaldığı, kırmızılık ve sarılık değerlerinin ise etkilenmediği saptanmıştır. Ultrases ve elektrik alan işlemlerinin sinerjistik etkisiyle kızartma işleminde nemin daha kolay uzaklaştığı ortaya konulmuştur. Elektriksel alan, ultrases haşlama ve mikrodalga uygulamalarının birlikte kullanıldığı (600 W, 4 dakika) grupta renk değerlerinin en iyi koruduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların ileride yapılacak olan çalışmalara yol gösterici olması açısından Ayrıca duysal özelliklerin de değerlendirilmesinin literature yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Karacabey, E., Özçelik, Ş.G., Turan, M.S., Küçüköner, E. (2016). Kızartılmış kabak dilimi üretiminde mikrodalga destekli ön kurutma ve derin kızartma işlem koşullarının optimizasyonu. *Akademik Gıda*, 14(2), 141-150.
- [2] Devi, S., Zhang, M., Law, C.L. (2018). Effect of ultrasound and microwave assisted vacuum frying on mushroom (*Agaricus bisporus*) chips quality. *Food Bioscience*, 25, 111-117.
- [3] Devseren, E., Tomruk, D., Koç, M., Ertekin, K.F. (2016). Vakum altında kızartma işleminin gıda ve kızartma yağı kalitesi üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 14(1), 43-53.
- [4] Sahin, S., Sumnu, G., Oztop, M.H. (2007). Effect of osmotic pretreatment and microwave frying on acrylamide formation in potato strips. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(15), 2830-2836.
- [5] Oztop, M.H., Sahin, S., Sumnu, G. (2007). Optimization of microwave frying of potato slices by using Taguchi technique. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 83-91.
- [6] Fauster, T., Schlossnikl, D., Rath, F., Ostermeier, R., Teufel, F., Toepfl, S., Jaeger, H. (2018). Impact of pulsed electric field (PEF) pretreatment on process performance of industrial French fries production. *Journal of Food Engineering*, 235, 16-22.
- [7] Su, Y., Zhang, M., Zhang, W., Liu, C., Adhikari, B. (2018). Ultrasonic microwave-assisted vacuum frying technique as a novel frying method for potato chips at low frying temperature. *Food and Bioproducts Processing*, 108, 95-104.
- [8] Su, Y., Zhang, M., Zhang, W. (2016). Effect of low temperature on the microwave-assisted vacuum frying of potato chips. *Drying Technology*, 34(2), 227-234.
- [9] Parikh, A., Takhar, P.S. (2016). Comparison of microwave and conventional frying on quality attributes and fat content of potatoes. *Journal of Food Science*, 81(11), E2743-E2755.
- [10] Huang, M.S., Zhang, M., Bhandari, B. (2018). Synergistic effects of ultrasound and microwave on the pumpkin slices qualities during ultrasound-assisted microwave vacuum frying. *Journal of Food Process Engineering*, 41(6), E12835.
- [11] Janositz, A., Noack, A.K., Knorr, D. (2011). Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1939-1945.
- [12] Baysal, T., Demirdöven, A., Ergün, A.R. (2013). Kara havuç suyu üretiminde elektroplazmoliz ve mikrodalga uygulamalarının verim ve kalite özellikleri üzerine etkileri. *GIDA/The Journal of Food*, 38(5).
- [13] Sayın, L., Tamer, C.E. (2014). Yüksek hidrostatik basınç ve ultrasonun gıda koruma yöntemi olarak kullanımını. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(1), 83-93.
- [14] Rayman, A. (2010). Havuç suyu üretiminde elektroplazmoliz ve mikrodalga uygulamalarının verim ve kalite özellikleri üzerine etkileri. *Ege*

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye.

- [15] Shyu, S.L., Hau, L.B., Hwang, L.S. (1998). Effect of vacuum frying on the oxidative stability of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(10), 1393-1398.
- [16] Antunes-Rohling, A., Ciudad-Hidalgo, S., Mir-Bel, J., Raso, J., Cebrián, G., Álvarez, I. (2018). Ultrasound as a pretreatment to reduce acrylamide formation in fried potatoes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 49, 158-169.
- [17] Sansano, M., De los Reyes, R., Andrés, A., Heredia, A. (2018). Effect of microwave frying on acrylamide generation, mass transfer, color, and texture in French fries. *Food and Bioprocess Technology*, 11(10), 1934-1939.
- [18] Güneş, B., Bayindirli, A. (1993). Peroxidase and lipoxygenase inactivation during blanching of green beans, green peas and carrots. *LWT-Food Science and Technology*, 26(5), 406-410
- [19] AOAC, (1990). *Official Methods of Analysis*, 15th Edn. Ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- [20] Dueik, V., Robert, P., Bouchon, P. (2010). Vacuum frying reduces oil uptake and improves the quality parameters of carrot crisps. *Food Chemistry*, 119(3), 1143-1149.
- [21] Su, Y., Zhang, M., Fang, Z., Zhang, W. (2017). Analysis of dehydration kinetics, status of water and oil distribution of microwave-assisted vacuum frying potato chips combined with NMR and confocal laser scanning microscopy. *Food Research International*, 101, 188-197.
- [22] Aydıncaptan, E., Mazi, I.B. (2017). Monitoring the physicochemical features of sunflower oil and french fries during repeated microwave frying and deep-fat frying. *Grasas y Aceites*, 68(3), 202.
- [23] Quan, X., Zhang, M., Zhang, W., Adhikari, B. (2014). Effect of microwave-assisted vacuum frying on the quality of potato chips. *Drying technology*, 32(15), 1812-1819.
- [24] Baardesth, P., Rosenfeld, H.J., Sundt, T.W., Skrede, G., Lea, P., Slinde, E. (1995). Evaluation of carrot varieties for production of deep fried carrot chips-II. Sensory aspects. *Food Research International*, 28(6), 513-519.
- [25] Liu, T., Dodds, E., Leong, S.Y., Eyres, G.T., Burritt, D.J., Oey, I. (2017). Effect of pulsed electric fields on the structure and frying quality of "kumara" sweet potato tubers. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 197-208.
- [26] Faruq, A.A., Zhang, M., Fan, D. (2019). Modeling the dehydration and analysis of dielectric properties of ultrasound and microwave combined vacuum frying apple slices. *Drying Technology*, 37(3), 409-423.
- [27] Ignat, A., Manzocco, L., Brunton, N.P., Nicoli, M.C., Lyng, J.G. (2015). The effect of pulsed electric field pre-treatments prior to deep-fat frying on quality aspects of potato fries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 65-69.
- [28] Çakmak, Ş.R., Tekeloğlu, O., Bozkir, H., Ergün R., A., Baysal, T. (2016). Effects of electrical and sonication pretreatments on the drying rate and quality of mushrooms. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 197-202.
- [29] Szadzińska, J., Techtańska, J., Kowalski, S.J., Stasiak, M. (2017). The effect of high power airborne ultrasound and microwaves on convective drying effectiveness and quality of green pepper. *Ultrasonic Sonochemistry*, 34, 531-539.

Kombu Çayı Üretiminde Kapari Tomurcuklarının (*Capparis* spp.) Kullanımının Fenolikler, Antioksidant Kapasite ve Biyoerişilebilirliğe Etkisi

Nihan Girtlioğlu , Elif Yıldız , Ozan Gürbüz  ✉

Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bursa

Geliş Tarihi (Received): 24.05.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 10.09.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ozang@uludag.edu.tr (O. Gürbüz)

☎ 0 224 294 15 00 📠 0 224 294 14 02

Öz

Kombu çayı asetik asit bakterileri ve mayaların simbiyotik ilişkisiyle şeker ilave edilmiş çay ekstraktların fermentasyona uğratılması sonucu elde edilen fermente bir içecektir. Kombu çayının tüketimi ve konusundaki çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmada, Artvin bölgesinden temin edilen *Capparis ovata* Desf. türüne ait kapari tomurcukları Kombu çayı üretiminde kullanılmış, kapari tomurcuğu ve fermentasyon sonucunda elde edilen Kombu çayı örnekleri (KC₁: yeşil çay, KC₂: kapari tomurcuğu, KC₃: kapari tomurcuğu+yeşil çay) analiz edilmiştir. Kombu çayı üretiminde kullanılan kapari tomurcuğunun kurumadde, suda çözünen kurumadde, kül ve toplam asitlik ile pH ortalama değerleri sırasıyla; 25.99±1.12 g/100g; 14.47±0.21; 1.74±0.06 g/100 g; 0.57±0.06 g/100 g; 5.30±0.12 olarak belirlenmiştir. Üretilen Kombu çayı örneklerinde, fermentasyon sonunda toplam asitlik 0.74±0.02 ile 1.43±0.04 g/100g arasında değişirken, pH ise 3.18±0.01 ile 3.19±0.01 değerleri arasında belirlenmiştir. Kapari tomurcuğunda antosiyanin içeriğine rastlanmazken; KC₁ örneğinin antosiyanin miktarı 2.30 mg/L (siyanidin-3-glikozit eşdeğeri) olarak bulunmuş, KC₃ örneğinde bu değer kapari tomurcuğunun da etkisi ile %52 oranında artarak, 3.50 mg/L (siyanidin-3-glikozit eşdeğeri) olduğu belirlenmiştir. Kombu çayı örneklerinin sağlık üzerindeki potansiyelleri belirlemek amacı ile antioksidan kapasiteleri incelenmiş, yeşil çay ve kapari içeren KC₃ örneği; ekstrakte edilebilir (TEAC_{ABTS}: 7.06 µmol Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 7.12 µmol Trolox/mL), hidrolize edilebilir (TEAC_{ABTS}: 7.59 µmol Trolox/mL; TEAC_{CUPRAC}: 4.28 µmol Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 3.03 µmol Trolox/mL) ve biyoerişilebilir fenolikler (TEAC_{ABTS}: 5.70 µmol Trolox/mL; TEAC_{CUPRAC}: 4.47 µmol Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 2.36 µmol Trolox/mL) açısından en yüksek değerleri göstermiştir. Ayrıca, duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre, KC₃ örneği, 5.61 puan (genel beğeni) ile panelistlerce en beğenilen örnek olmuştur. Çalışmanın sonucunda, fenolik bileşenlerce zengin bir substrat olan kapari tomurcuğu kullanılarak, antioksidan kapasite ve toplam fenolik bileşen içeriği zenginleştirilmiş, yeni ve sağlıklı bir fermente içecek üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Capparis* spp., Kombu çayı, Antioksidan kapasite, Antosiyanin, Biyoerişilebilirlik

Effect of Caper Buds (*Capparis* spp.) on Phenolics, Antioxidant Capacity, and Bioaccessibility on Kombucha Tea Production

ABSTRACT

Kombucha is a fermented beverage obtained by the fermentation of tea extracts containing sugar by the symbiotic culture of acetic acid bacteria and yeasts. The consumption and studies about the Kombucha are increasing steadily. In this study, caper buds belonging to *Capparis ovata* Desf. obtained from the Artvin region in Turkey were utilized in

Kombucha production; caper buds and Kombucha tea samples (KC₁: Green-tea, KC₂: Caper bud, KC₃: Caper bud + Green-tea) were analyzed. The dry matter, water-soluble dry matter, ash and total acidity and pH of caper buds used in Kombucha tea production were determined as 25.99±1.12 g/100g, 14.47±0.21, 1.74±0.06 g/100g, 0.57±0.06 g/100g and 5.30±0.12, respectively. In Kombucha samples, at the end of fermentation, the total acidity ranged from 0.74±0.02 to 1.43±0.04 g/100g, while the pH was between 3.18±0.01 and 3.19±0.01. Although, caper buds did not contain any anthocyanin, KC₁ sample had 2.30 mg/L (cyanidin-3-glycoside equivalent) anthocyanin and it increased by 52% and determined as 3.50 mg/L (cyanidin-3-glycoside equivalent) in KC₃ sample by the inclusion of caper buds. In order to determine the potential of Kombucha tea samples on health, antioxidant capacity of samples were determined, and green tea and caper bud containing KC₃ sample had the highest values in extractable (TEAC_{ABTS}: 7.06 µmole Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 7.12 µmole Trolox/mL), hydrolyzable (TEAC_{ABTS}: 7.59 µmole Trolox/mL; TEAC_{CUPRAC}: 4.28 µmole Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 3.03 µmole Trolox/mL) and bioaccessible phenolics (TEAC_{ABTS}: 5.70 µmole Trolox/mL; TEAC_{CUPRAC}: 4.47 µmole Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 2.36 µmole Trolox/mL). In addition, according to sensory evaluation results, KC₃ with 5.61 points was the most preferred sample by panelists (overall acceptability). As a result of the study, antioxidant capacity and total phenolic component contents of tea samples were enriched by using a phenolic compound rich substrate capers buds, and a new healthy fermented beverage was produced.

Keywords: *Cappariss* spp., Kombucha, Antioxidant capacity, Anthocyanin, Bioaccessibility

GİRİŞ

Artan dünya nüfusu ve bununla beraber ortaya çıkan sağlık problemleri ile bireyler sağlıklı beslenmeye daha çok önem vermeye başlamış ve ilaç tedavisi yerine bitkisel içerikli tedavilere olan ilgi artmıştır. Bu amaçla; son yıllarda besin içeriği zengin, biyoerişilebilirliği yüksek, fonksiyonel gıda arayışı ile sağlıklı reçeteler oluşturulmakta ve sağlık üzerindeki etkileri incelenmektedir.

Kapari bitkisi *Capparaceae* familyasına ait, ülkemizde *Capparis spinosa* ve *Capparis ovata* olmak üzere iki türünün ve bu türlere ait 6 çeşidinin Güneydoğu Anadolu, Orta Doğu, Karadeniz, Marmara ve Akdeniz bölgelerinin bazı yörelerinde yetişen, bubu, devedikeni, geber otu, gebere otu, gebere, gebre, gevil, kapara, kapari, kapari, kebere, keberegebre out, kedi tırnağı, kemer, keper, kepere, menginik, şeballah ve yumuk gibi isimlerle de anılan çok yıllık bir bitkidir [1, 2].

Kapari gıda genellikle sektöründe lezzeti geliştirmek amacıyla baharat olarak kullanılmayanın yansıra, "Karpuzcuk" adı verilen kapari tomurcukları hazır yemek ürünlerine, peynire, et ve su ürünlerine, fırıncılık ürünlerine ilave edilerek kullanılabilen ve konservesi geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Reçelinin de yapılmasının yanı sıra, salamurada muhafaza etmek suretiyle turşu olarak da kullanımı yaygındır [3-5]. Kapari bitkisinin içeriğinde 100 g tomurcuğu (kurumaddede) baz alındığında; 24.03 g protein, 12.52 g selüloz, 2.19 g lipit, 9.41 mg kül, 64 mg fosfor, 66 mg kalsiyum, 8.7 mg demir ve az miktarda nişasta tespit edilmiştir [6]. *Capparis*'in farklı türlerinde, bitkinin farklı kısımları (kök kabuğu, yaprak, çiçek tomurcuğu, meyve, tohum) alkaloid, flavonoid, glukozinolat, lipid, polifenol gibi birçok kimyasal bileşik içermektedir [7-8]. Kapari bitkisinin aroma bileşenlerini ise izobütül izotiyosiyanat, kükürt ve sildo-oktasiklosülfür oluşturmaktadır [9]. Kaparinin metanolik ekstraktlarında tespit edilen başlıca flavonoidler kaparirutin, kuersetin 3-O-glukosid, kuersetin 3-O-glukosid-7-O-rhamnosid olmakla birlikte, kaparirutin ve kuersetin kaparinin antioksidan özelliği üzerinde etkili flavonoidlerdir [7]. Yemiş'in [10] yaptığı çalışmada kapari tomurcuklarındaki glukosinatlar ve

flavonoidler incelenmiş, içerdiği glukosinatların yüksek oranda glukokapparinden (%92.1), flavonoidlerin ise rutin (1.45g/100g KA) ve kamferol-3-rutinozid (0.88g/100g KA)'den oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca diğer çalışmalarla da, yüksek miktarda α, γ ve δ tokoferol içeriğine sahip olduğu ifade edilmiştir [7, 8]. Kapari gıda sektörünün yansıra sağlık sektöründe de kullanım alanı bulmaktadır. Huseini ve ark. [11] tip-2 diyabetik hastalarla yaptığı çalışmada meyvelerin antidiyabetik ve kolesterol düşürücü etkisini, Eddouks ve ark. [12] streptozotosin-indüklenmiş diyabetik sıçanlarla yaptığı çalışmada anti-obesite etkisini, Kazemian ve ark. [13] ise diyabetik sıçanlarla yaptığı çalışmada anti-hepatoksik etkisini belirlemiştir. İçerdiği fenolik bileşenler sayesinde de antioksidan, idrar söktürücü, anti-hipertansiyon, balgam söktürücü etkileri bulunduğu ve eklem, kas, kemik, diş ağrılarında ağrı kesici etki gösterdiği; dalak büyümesi, kalça rahatsızlığı, hemofili, gut, skorbit hastalıklarında tedavi edici rollere sahip olduğu belirlenmiştir [14-16].

Turşu, sirke, boza, kefir, Kombu çayı, sucuk gibi fermente gıdalar, vücuttaki oluşan zararlı metabolitlerden korunmaya yardımcı olan antioksidatif ve fenolik bileşenlerce zengin içeriği ile dikkat çekmektedir. Fermentasyon ile ürünlerin raf ömrü uzatılarak daha uzun süre faydalanmamız sağlanırken aynı zamanda, içeriği zenginleştirilmiş, fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş yeni ürünler de elde edilmektedir. Fermente ürünlerin, immun sistemi destekleyici olduğu, kanserin önlenmesinde ve hastalıkların tedavisinde yardımcı rol oynadığı, osteoporoz belirtilerini azalttığı, antioksidan, antimikrobiyal, antikolesterol ve probiyotik özelliklerinin bulunduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmiş, sağlık üzerine etkileri de ortaya koyulmuştur [17].

Fermente ürünlerden "Kombucha", maya ve asetik asit bakterilerinin simbiyotik birleşiminin şekerli çayın fermentasyonu ile elde edilen bir içecek olup ve kelime olarak Japonca *Laminaria japonica* adındaki geniş yapraklı bir deniz yosununu tanımlayan 'Kombu' ile çay anlamına gelen 'Cha' kelimelerinin birleşiminden oluşmaktadır [18, 19]. Kombu çayı, hafif tatlı ve asidik yapıya sahip olup dünya çapında tüketilen ve popülerliği giderek artan bir içecektir [20]. Mikroorganizmaların

aktivitesiyle oluşan bu fermente içecek genellikle çeşitli çay türlerinden (siyah, yeşil, beyaz vb.) veya kahveden meydana gelen sıvı faz ile sıvı fazın üzerinde oluşan selülozik yapıdaki biyofilm tabakasından meydana gelmektedir [19, 21]. Bu selülozik biyofilm tabakası 'tea fungus' olarak bilinmekte ve 'SCOBY' olarak adlandırılmaktadır. SCOBY, İngilizce 'Bakteri ve mayaların simbiyotik kültürü' anlamına gelen Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast'in kısaltmasıdır. Gerçekleşen aerobik fermentasyonda çay, kahve gibi substratlar içerdikleri kafein, teofilin gibi bileşiklerle Kombu mayasının hücrelerinin gelişimi için gerekli azot kaynağını, eklenen şeker (%7-15 oranında) ise karbon kaynağını oluşturmaktadır [22]. Kombu çayında bulunan mayalar, çayın içerdiği karbonhidrat kaynağını invertaz enzimi ile parçalamakta ve elde ettikleri glikozdan etil alkol üretmektedir. Simbiyotik bakteriler ise mayaların ürettikleri etil alkolden asetik asit meydana getirmektedir. Kombu çayı üretimi için hazırlanan içerik; fermentasyon kabı üzeri hava geçişine izin veren bir bez veya tülbent ile kapatılarak, doğrudan güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde, 25°C-28°C sıcaklıkta, 7-12 gün süreyle fermentasyona bırakılır [23, 24]. Fermentasyon süresi ve ekstrakta göre Kombu çayının içeriği farklılık göstermekle birlikte genel itibarıyla asetik asit, laktik asit, glukonik asit, polifenoller, probiyotikler, etanol, etil glukonat, kateşinler, teoflavinler, flavonoller gibi çay bileşenleri, invertaz, amilaz gibi hidrolitik enzimler, Na, K, Ca, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn gibi elementleri içermektedir [22, 25]. Kombu çayı serinletici özelliğinin yanı sıra profilaktik (hastalık önleyici) ve terapötik (tedavi edici) özelliklerinin olması nedeniyle de tercih edilmektedir [19, 26, 27]. Antibiyotik etkisinin olduğu, immun sistemi desteklediği, antikanserojenik, antidiyabetik, hipokolesterolemik, hipoglisemik, antioksidan, antimikrobiyel özellikler taşıdığı, laksatif özelliğinin olduğu, bağırsak florasının gelişmesine yardımcı olduğu, metabolizmayı hızlandırarak kilo kaybını desteklediği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir [19, 21, 28-35].

Sağlık üzerindeki etkileriyle bilinen fenolik bileşikler, aromatik halka (en az bir adet) ve hidroksil grubu içeren bitkilerde doğal olarak bulunan organik bileşiklerdir. Sağlık üzerinde kanser riskini azaltmak, kalp-damar hastalıklarını engellemek vb. birçok olumlu etkisi bulunmaktadır [36]. Fenolik bileşikler vücuttaki hücrelerin zarar görmesini serbest radikaller ile tepkimeye girerek, metallerle şelat oluşturarak, hidroperoksidleri daha stabil forma dönüştürerek, diğer indirgen ajanlarla sinerjik etki oluşturarak engellemekte ve böylelikle vücutta antioksidan etki göstermektedir [37]. Gıdaların sahip olduğu antioksidan etki, hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT; Hydrogen Atom Transfer) ve tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET; Singlet Electron Transfer) olmak üzere iki farklı reaksiyon mekanizması ile analiz edilebilmektedir [38]. Tekrar edilebilir, ucuzluğu ve yaygınlığı nedeniyle, örnek içeriğine de bağlı olarak; DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)), CUPRAC (The Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ve Folin-Ciocalteu metodu (Toplam Fenolik Bileşen Analizi; Total Phenolic

Content) tercih edilen antioksidan kapasite metotları arasındadır.

Gıdaların antioksidan özelliklerinin sağlık üzerindeki etkileri, vücuttaki sindirilebilirliğine göre farklılık göstermektedir. Gıda matrisi içinde, karmaşık yapılar halinde bulun fenolik bileşikler, bağırsakta sindirim sürecinden geçtikten sonra vücutta kullanılabilmekte olup ve bu konuda birbiriyle ilişkili iki kavram öne çıkmaktadır: biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık [39]. Biyoerişilebilirlik, mide-bağırsaksisteminde gıda matrisinden serbest hale geçerek, bağırsak emilimi için uygun hale gelen biyolojik fraksiyonu; biyoyararlılık ise, bağırsaktan emildikten sonra vücudun kullanabileceği, kan ve idrarda rastlanabilen, biyolojik etkiye sahip fraksiyonu ifade etmektedir [39-41]. Gıdaların biyoerişilebilirlikleri, sindirim enzimleri ile yapay olarak oluşturulan *in vitro* sindirim sistemi ile belirlenmekte olup [42], gıdanın sağlık üzerindeki etkisi ile ilgili potansiyelini ortaya koyan önemli parametrelerden biridir.

Bu çalışmada kapari bitkisinin (*Capparis ovata* Desf.) tomurcuğu ile Kombu çayı üretimi gerçekleştirilerek üretimde kullanılan kapari tomurcuğu ve üretimi gerçekleştirilen Kombu çayı örneklerinin fiziko-kimyasal analizlerinin yanısıra; ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik bileşen ekstraktlarının antioksidan kapasite (TEAC_{DPPH}, TEAC_{CUPRAC} ve TEAC_{ABTS}), toplam fenolik bileşen analizleri de yapılarak biyoerişilebilirlikleri (%) belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Kombu çayı üretiminde kullanılan kapari tomurcuğu *Capparis ovata* Desf. türüne ait olup, 2019 yılı ağustos ayında, Artvin Deriner Barajı bölgesinden (H: 220 m; N: 41° 10' 11.0064"; E: 41° 52' 12.9972") (Şekil.1) elde edilmiştir. Temin edilen kapari tomucukları Kombu çayı üretimi ve analizleri yapılarak dek -18°C'de depolanmıştır. Kombu çayı üretiminde kullanılan yeşil çay (Doğadan Gıda Ürünleri A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve pancar şekeri (Doğuş Gıda A.Ş., İstanbul, Türkiye) yerel marketlerden temin edilmiştir. Fermentasyonun sağlandığı starter kültür (SCOBY) ticari olarak satışını gerçekleştiren Oregon Kombucha Tea (ABD) firmasından (ABD) temin edilmiştir.

Kombu Çayı Üretimi

Kombu çayının üretimi için, sterilize edilmiş 1 L damıtık suya 14 g/L yeşil çay ve/veya 100 g/L homojenize edilmiş kapari tomurcuğu (Tablo. 1, Şekil. 2) eklenerek 100°C'de 15 dakika demleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Demleme işlemi sonrasında süzme işleminin ardından içerik 28°C-30°C soğutulmuş, bu esnada 30 g/L pancar şekeri ilave edilmiştir. Elde edilen ekstrakta bir önceki fermentasyondan elde edilen 100 mL/L Kombu çayı ve SCOBY eklenmiştir. Çayın üzeri hava geçirebilecek şekilde çift katlı tülbent ile kapatılarak 28±2°C'de fermentasyona bırakılmıştır. pH'sı 3.20±0.10'e gelen Kombu çayları, şişelenerek pastörize edilmiştir (Şekil. 2). Analizlere kadar +4°C'de depolanmıştır.



Capparis ovata Desf.

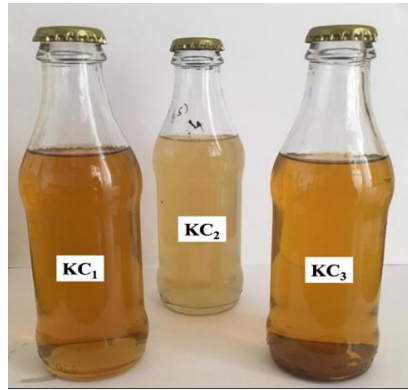
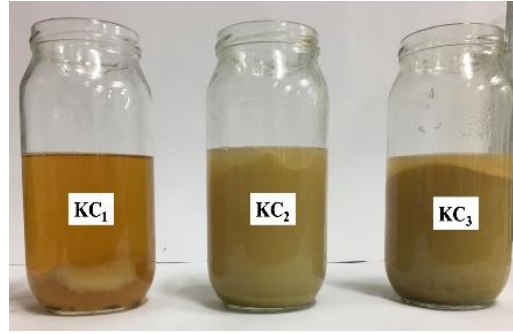
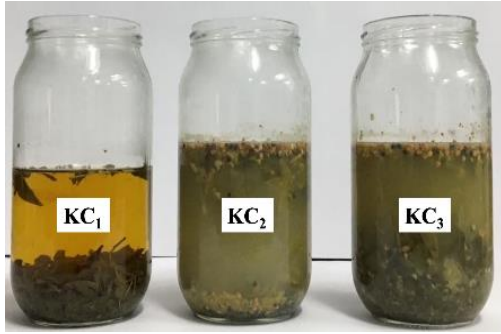
H: 220 m, N: 41°10' 11.0064", E: 41°52' 12.9972"

Şekil 1. Artvin ilinde bulunan kapari bitkisi ve kapari tomurcuğu

Tablo 1. Kombu çayı formülasyonları*

Örnek	Kapari tomurcuğu (g)	Yeşil Çay yaprakları (g)	Şeker (g)	Saf Su (L)	Kombu çayı (mL)
KC ₁	-	14.00	30.00	1.00	200.00
KC ₂	100.00	-	30.00	1.00	200.00
KC ₃	100.00	14.00	30.00	1.00	200.00

*KC₁: Yeşil Çaylı Kombu Çayı, KC₂: Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı



Şekil 2. Kombu çayı örnekleri

*KC₁:Yeşil Çaylı Kombu Çayı, KC₂:Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı

Metot

Fiziko-Kimyasal ve Kimyasal Analizler

Kapari tomurcuğu ve Kombu çayı örneklerinde kurumadde tayini (AOAC Metot No: 984.25), suda çözünen kurumadde tayini (AOAC Metot No: 970.59), kül tayini (AOAC Metot No: 940.26) pH tayini (AOAC

Metot No: 981.12; Hanna marka, pH 211 model pH-metre, Hanna Instruments S.R.L., ABD), toplam asitlik tayini (AOAC Metot No:942.15) yapılmıştır [43].

Örneklerin, renk tayini Minolta Spektrofotometre (CM-3600d; Osaka, Japonya) cihazı ile yapılarak, L^* , a^* , b^* parametreleri belirlenmiştir. Örneklerin toplam antosiyanin içeriği, Lee ve ark. [44] tarafından belirlenen

pH-diferansiyel metoduna göre spektrofotometrik (Optizen 3220UV, Optizen Labs LLC, Varşova, Polonya) olarak belirlenmiş, sonuçlar *siyanidin-3-glikozit* (S3G) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşen Analizleri

Fenolik Madde Ekstraksiyonu

Kapari ve Kombu çayı örnekleri, ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik ekstraksiyonları elde edilerek analiz edilmiştir. Ekstrakte edilebilir ve hidrolize edilebilir fenolik fraksiyonlarının ekstraksiyonu için Vitali ve ark. [45]'nin metoduna göre, kapari tomurcuğu için 2 gr-Kombu çayı için 2 mL örnek, HCl conc/metanol/su (1:80:10, v/v) eklenerek çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm) (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, ABD) 20°C'de ekstrakte edilmiştir. Ardından 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiştir (4°C, 10 dk.) (3 K 30 Sigma Santrifüj, Almanya). Ekstrakte edilebilir fenoliklerin ekstraksiyonu analiz için ayrılırken, kalıntının üzerine metanol/H₂SO₄ (10:1) eklenerek çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm), 85°C'de 20 saat ekstrakte edilmiştir. Ardından, 3500 rpm devir ile santrifüj edilmiş (4°C, 10 dk.), hidrolize edilebilir fenolik ekstraksiyonu olarak ayrılmıştır. Biyoerişilebilir fenolik fraksiyonlarının ekstraksiyonu için, Bouayed ve ark. [42]'nin *in vitro* enzimatik ekstraksiyon prosedürüne göre, 2 mL-2 g örnek, pepsin enzimi (40 mg/mL, 0.1 M HCl) eklendikten sonra 37°C'de çalkalayıcı su banyosunda (250 rpm, 2 saat) çalkalanmıştır. Ardından, pankreatin enzimi (2 mg/mL) ve 'bile (safra) karışımı' (12 mg/mL) eklenerek 2 saat daha çalkalama işlemine (37°C, 250 rpm) devam edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda örnekler santrifüj edilmiştir (15°C, 3500 rpm, 10 dakika). Kapari meyvesi ve Kombu çayı örneklerinin ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik ekstraksiyonları analizlere kadar, -18°C'de depolanmıştır.

Antioksidan Kapasite Analizleri

Kapari meyvesi ve Kombu çayı örnekleri fenolik bileşenlerinin antioksidan kapasitesi ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolikler açısından ABTS, DPPH ve CUPRAC metotları üzere üç farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. ABTS için, Apak ve ark. [46]; DPPH için, Brand-Williams ve ark. [47]; CUPRAC için, Apak ve ark. [48]'in analitik prosedürleri uygulanmıştır. Ekstratların absorbansları spektrofotometrik olarak belirlenmiş; sonuçlar kapari tomurcuğu için µmol Trolox eşdeğeri/g kapari tomurcuğu, Kombu çayı örnekleri için ise µmol Trolox eşdeğeri/mL Kombu çayı olarak ifade edilmiş ve üçlü analiz sonuçları ortalama ± SS olarak verilmiştir.

Toplam Fenolik Bileşen Analizi

Kapari ve Kombu çayı örneklerinin toplam fenolik bileşen analizi Folin-Ciocalteu metoduna göre Naczek ve Shahidi [49]'nin analitik prosedürleri uygulanarak yapılmıştır. Ekstraktların absorbansları spektrofotometrik olarak belirlenmiş, sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri

(GAE)/g-mL olarak değerlendirilmiş ve üçlü analiz sonuçları ortalama ± SS olarak verilmiştir.

Fenolik Bileşenlerin % Biyoerişilebilirliğinin Belirlenmesi

Kapari ve Kombu çayı örneklerinin fenoliklerinin % biyoerişilebilirliği ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenoliklerin, toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite analizi sonuçları ile Anson ve ark. [50]'na göre hesaplanmıştır (Denklem 1).

$$\% \text{ Biyoerişilebilirlik}^* = \frac{\text{BFB}}{\text{EFB} + \text{HFB}} \times 100 \quad (1)$$

*EFB: Ekstrakte edilebilir Fenolik Bileşenler, HFB: Hidrolize edilebilir Fenolik Bileşenler, BFB: Biyoerişilebilir Fenolik Bileşenler

Duyusal Analiz

Kombu çayı örneklerinin duyusal değerlendirmesi, 9'lu hedonik skala kullanılarak, 22-50 yaş aralığındaki, eğitilmiş olmayan 18 kişilik tadım ekibi tarafından gerçekleştirilmiştir. Kombu çayı örnekleri renk, berraklık, tat, koku, ekşilik ve genel beğeni açısından değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Kapari ve Kombu çayı örneklerine ait 3 tekerrürlü olarak yapılan analiz sonuçlarından elde edilen veriler istatistiksel olarak JMP IN 7.0.0 (Statistical Discovery from SAS 2005. Institute Inc.) programı kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiştir. LSD (Least Significant Difference) testi uygulanarak elde edilen ortalama değerler arasındaki istatistiksel fark gruplarının belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kapari Tomurcuğu

Fiziko-Kimyasal Özellikler

Kombu çayı üretiminde hammadde olarak kullanılan kapari tomurcuğunun kurumadde içeriği 25.99 g/100 g, suda çözünür kurumadde içeriği 14.47 g/100 g, kül miktarı 1.74 g/100 g, toplam asitlik miktarı 0.57 g/100 mL (sitrik asit eşdeğeri olarak) ve pH'sı 5.30 olarak belirlenmiştir. Kurumadde içeriği literatürden bir miktar yüksek bulunmuş olup; Arslan [51] tarafından *Capparis ovata*'ya ait kapari tomurcuklarında kurumadde miktarını 23.40±0.11 ile 21.19±0.18 g/100 g değerleri arasında belirlerken; Yemiş [10] tarafından ise 21.10 g/100 g olarak belirlendiğini ifade etmiştir. Kapari tomurcuğuna ait kül miktarı ise, kurumadde üzerinden değerlendirildiğinde, 6.69±0.06 g/100 g olarak bulunmuştur. Özcan [52]'in yaptığı çalışmada *C. ovata*'ya ait kuru ağırlık üzerinden kül miktarı %6.24; Kuşçu ve Yıldırım'ın [53] yaptığı çalışmada %6.70; Yemiş'in [10] yaptığı bir çalışmada ise %8.42 olarak bildirilmiştir. Kuşçu ve Yıldırım [53] kapari tomurcuğunun pH'sını 6.63, toplam asitlik miktarını 0.69 g/100 g olarak tespit etmiştir. Yemiş [10] ise, pH değerini 4.82 olarak, toplam asitlik miktarını 0.51 g/100 g olarak belirlemiştir.

Analiz sonuçlarının literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiş olup, farklılıkların iklim ve yetiştirme koşullarından ileri geldiği düşünülmektedir.

Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşen Tayini

Kapari tomurcuğunda toplam fenolik bileşen ve antioksidan kapasite tayini ABTS, CUPRAC, DPPH metotlarına göre ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir

ve biyoerişilebilir fenolikler olmak üzere 3 farklı ekstraksiyon ile belirlenmiştir (Tablo 3).

Ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik bileşenlerin antioksidan kapasitesi değerlendirildiğinde TEAC_{ABTS}'ye göre sırası ile 23.53±0.06 µmol Trolox/g; 31.59±0.27 µmol Trolox/g; 18.55±0.5 µmol Trolox/g olarak belirlenmiş, TEAC_{DPPH} ve TEAC_{CUPRAC} verilerine göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.01).

Tablo 2. Kapari tomurcuğunun antioksidan kapasite ve toplam fenolik bileşen içeriği*

	Ekstrakte Edilebilir Fenolikler	Hidrolize Edilebilir Fenolikler	Biyoerişilebilir Fenolikler	%Biyoerişilebilirlik
Toplam Fenolik Bileşen (mg GAE/g)	45.40±0.47 ^a	43.73±0.30 ^a	21.27±0.06 ^a	11.95±0.05 ^c
ABTS (µmol Trolox /g)	23.53±1.06 ^b	31.59±1.27 ^b	18.55±0.15 ^b	16.86±0.85 ^b
CUPRAC (µmol Trolox /g)	7.89±0.33 ^c	18.46±0.15 ^c	8.38±0.50 ^c	29.50±1.16 ^a
DPPH (µmol Trolox /g)	21.03±0.42 ^b	11.51±0.29 ^c	8.38±0.50 ^c	12.92±0.79 ^c

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında p<0.01 oranında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır.

Biyoerişilebilirlik (%) değerlerine göre ise, CUPRAC metoduna %29.50±0.16 olarak belirlenmiş (p<0.01), biyoerişilebilir fenoliklerin daha fazla ekstrakte edilebildiği bir metot olmuştur. Abdul Ameer [54], yaptığı çalışmada Bahreyn'de yetişen kapari tomurcuğunun ekstrakte edilebilir fenolik bileşiklerinin ABTS metoduna göre 8.13 mmol Trolox/kg taze meyve ağırlığı, DPPH metoduna göre 6.13 mmol Trolox/kg taze meyve ağırlığı olarak bildirilmiştir. Khanavi ve ark [55] tarafından ise, DPPH metoduna göre IC₅₀ değeri 556.66±26.73 µg/ml olarak belirlenmiştir. Yabani olarak yetişen kapari tomurcuğu literatüre göre nispeten daha yüksek antioksidan potansiyel göstermiştir; literatürdeki farklılıkların ayrıca iklim ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak da değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

Folin Ciocalteu metoduna göre uygulanan toplam fenolik bileşen analizine göre ise ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolikler olmak üzere sırası ile 45.40±0.47 mg GAE/g; 43.73±0.30 mg GAE/g; 21.27±0.06 mg GAE/g olarak saptanmıştır. Ardağ'ın [56] *C. spinosa* tomurcuğunda yaptığı çalışmada ekstrakte edilebilir toplam fenolik madde miktarı 1.83 µg GAE/mg taze meyve ağırlığı, Tlili ve ark.'nın [8] yaptıkları çalışmada ise kaparinin tomurcuğunda ekstrakte edilebilir toplam fenolik içeriğin 2621 mg GAE/100 g taze meyve ağırlığı olduğu tespit edilmiştir. *C. spinosa* rutin ve kuersertin gibi flavonoid bileşiklerce zengin içeriği ile bilinmekte olup, antioksidan potansiyelinin içerdiği kaemferol, alkaloid, glucosino-late, lipid flavonoids, 5-hydroxymethylfurfural, 5-hydroxymethylfuroic asit, 2-furoic asit, protocatechic asit, vanilic asit, süksinik asit ve 4-hidroksibenzoik asit gibi bileşiklere dayanmaktadır [8,57-58].

Kombu Çayı

Fiziko-Kimyasal Özellikler

KC₁, KC₂, KC₃ Kombu çayı örneklerinin fiziko-kimyasal özellikleri Tablo 3'te verilmiştir. 25.99 g/100 g kurumadde içeriğine sahip kapari tomurcuğu ve yeşil çay fermentasyonu ile elde edilen KC₃ örneği, 1.14±0.0 g/100 mL ile en yüksek kurumadde değerine sahip örnek olarak belirlenmiş, suda çözünür kurumadde miktarı ise 1.83±0.06 g/100 mL olarak tespit edilmiştir (p<0.01). Sadece yeşil çay fermentasyonu ile üretilen KC₂ örneğine kıyasla, kapari ilavesi, KC₃ örneğinde kurumadde ve suda çözünür kurumadde değerlerinin artışında etkili olmuştur.

Kombu çayı örneklerinin % kül miktarları KC₁, KC₂, KC₃ örneklerinde sırası ile 0.06±0.06 g/100 mL, 0.19±0.10 g/100 mL, 0.20±0.01 g/100 mL olarak tespit edilmiştir (p<0.01) (Tablo 3). Kapari ilavesinin Kombu çayı örneklerinin kül miktarını sadece yeşil çay fermentasyonu ile elde edilen örneğe (KC₁) göre üç kat arttırdığı görülmüştür ve aynı zamanda mineral madde içeriğini de zenginleştirdiği düşünülmektedir.

Asitlik-pH değerleri incelendiğinde, her üç Kombu çayı örneğinin de 16 günlük fermentasyon sonucunda pH değerinin yaklaşık olarak 3.19±0.01 düzeyine ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 3). Başlangıç pH'ları farklı olan Kombu çaylarında en yüksek pH değişimi KC₃ örneğinde (pH: 4.57'den 3.18'e), en düşük pH değişimi ise KC₂ örneğinde (pH: 4.28'den 3.19'a) görülmüştür. pH değerlerindeki düşüş oranlarına bakıldığında kapari tomurcuğu içeren Kombu çaylarındaki (KC₂ ve KC₃) pH düşüşünün, yeşil çaylı Kombu çayından (KC₁) fazla olması; kapari tomurcuğundaki bileşenlerin, Kombu çayı kültüründe bulunan bakteri ve mayaların aktivitesini

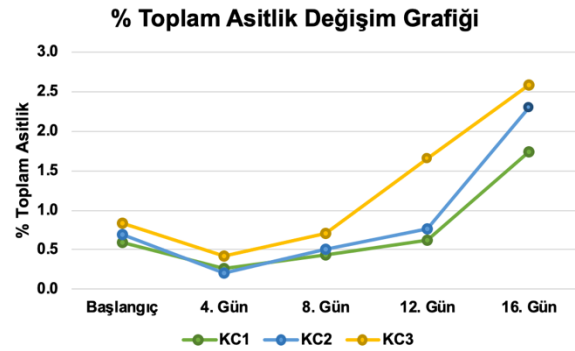
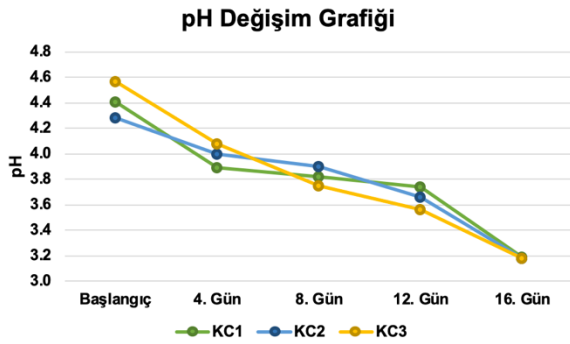
arttırıcı etki göstermesinden kaynaklandığını düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlar Güldane ve ark.'nın [59], 11 günlük fermentasyon sonucu belirledikleri yeşil çay (pH: 3.16), siyah çay (pH: 3.22) ve beyaz çay (pH: 3.11) içeren Kombu çayı pH değerleriyle benzerlik göstermektedir. Ayrıca, Tarhan'ın [60] yeşil

çay ile yaptığı Kombu çayında pH değerinin 10 günlük fermentasyon sonunda 5.65'den 3.52'ye düştüğü belirlenmiştir. Değersel farklılıkların, kullanılan yeşil yaprağın türüne, büyüklüğüne, işlenişine, Kombu çayı fermentasyon parametreleri ve kültür kompozisyonuna göre değiştiği düşünülmektedir.

Tablo 3. Kombu çayı örneklerine ait fizikokimyasal özellikler*

Örnek	Toplam Kurumadde (g/100 mL)	Suda Çözünen Kurumadde (g/100 mL)	Kül (g/100 mL)	Toplam Antosiyanin Miktarı (mg/L)	Renk Parametreleri		
					L^*	a^*	b^*
KC ₁	0.88±0.13 ^b	1.73±0.06 ^b	0.06±0.06 ^b	2.30±0.02 ^b	25.36±0.92 ^a	0.61±0.04 ^a	4.29±0.32 ^a
KC ₂	1.11±0.18 ^a	1.83±0.06 ^b	0.19±0.10 ^a	TE**	22.88±0.09 ^b	-0.04±0.01 ^c	2.74±0.05 ^c
KC ₃	1.14±0.02 ^a	2.17±0.06 ^a	0.20±0.01 ^a	3.50±0.07 ^a	20.94±0.08 ^c	0.19±0.02 ^b	3.45±0.07 ^b

KC₁: Yeşil Çaylı Kombu Çayı, KC₂: Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında p<0.01 oranında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır. K: Kapari tomurcuğu; TE: Tespit edilemedi.



Şekil 3. Kombu çayı örneklerinin pH ve % toplam asitlik grafiği

KC₁: Yeşil Çaylı Kombu Çayı, KC₂: Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuklu Kombu Çayı

Kombu çayı örneklerinin, asetik asit cinsinden belirlenen toplam asitlik miktarı artışı en fazla KC₃ (%0.84'den %2.58'e) örneğinde, en düşük artış ise KC₁ (%1.74'e) örneğinde görülmüştür. Sadece kapari tomurcuğu kullanılarak fermentasyonu gerçekleştirilen KC₂ örneğinde, toplam asitlik miktarı ise 0.69'den 2.30'a yükselmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, kapari içeren Kombu çaylarında (KC₂ ve KC₃) asitlik artışı yüksek, yalnızca yeşil çay içeren Kombu çayında ise nispeten daha düşük gerçekleştiği tespit edilmiştir. Fermentasyonun 4. gününde KC₁, KC₂ ve KC₃ örneklerinde önemli düzeyde farklılık tespit edilmiştir (p<0.01). Kombu çayı fermentasyonunda, 3. günden itibaren gözlemlenen önemli artış, şeker içeriğinin büyük bir kısmının mayalar tarafından hidrolize edilmesine, sakkarozun da invertaz enzimi tarafından glikoza ve fruktoza dönüştürülmesine bağlanmıştır [61-62]. Asitliğin yükselmesinin bir diğer nedeni olarak da fermentasyon sırasında asetik asit, glukuronik asit ve glukonik asit gibi organik asitlerin meydana gelmesi gösterilmektedir [63]. Cardoso ve ark. [63] tarafından Kombu çayı örneklerindeki majör asit, asetik asit (3 g/L) olarak belirlenmiş olup, fermentasyon sırasında asetik asit bakterilerinin etanolün oksidasyonu ile meydana gelmektedir [33]. Jayabalan ve ark. [64] tarafından yeşil çayın Kombu çayına fermentasyonu sonunda asetik asit, glukuronik asit ve laktik asit üretiminin öne çıktığı ve miktarlarının sırası ile 3.0, 1.39 ve 0.13 g/L olarak belirlendiği bildirilmiştir. KC₃ örneği, 2.58 g/100mL ile daha yüksek asitlik değerleri gösterdiği ve pH gelişiminin

daha doğrusal bir grafik izlendiği, kapari içeriğinin bakteri ve mayaların aktivitesini arttırdığı, artan simbiyotik kültür aktivitesi ile daha yüksek miktarda organik asit meydana geldiği belirlenmiştir.

Kombu çayı örneklerinde Lee ve ark. [44] tarafından belirlenen pH-diferansiyel metoduna göre yapılan antosiyanin tayini sonucunda kapari tomurcuğu ve sadece kapari tomurcuğu fermentasyonu ile elde edilen KC₂ örneğinde antosiyanin içeriği tespit edilememiştir. Fakat yeşil çayın fermentasyonu ile elde edilen KC₁ örneğinin antosiyanin miktarı 2.30 mg/L (S3G eşdeğeri) olarak belirlenirken, yeşil çayın ve kapari tomurcuğunun fermentasyonu ile bu değer, KC₃ örneğinde, kapari tomurcuğunun da desteği ile artarak 3.5 mg/L (S3G eşdeğeri) olarak belirlenmiştir. Kapari tomurcuğu antosiyanin içermemesine rağmen, yeşil çay ile birlikte kullanılarak Kombu çayı elde edildiğinde, kaparinin antosiyanin miktarını %52 oranında arttırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir. Yıldız ve ark. [65] tarafından siyah havuç ile üretilen Kombu çaylarında antosiyanin içeriği aynı metoda göre incelenmiş olup, yeşil çayın fermentasyonu ile elde edilen kontrol örneğinde içerik 3.4 mg/L (S3G eşdeğeri) olarak belirlenmiştir.

Renk değerleri incelendiğinde yeşil çayın fermentasyonu ile elde edilen KC₁ örneğinin en yüksek parlaklık (L^* :25.36) değerine sahip olduğu görülmektedir (Tablo 4) (p<0.01). Kapari tomurcuklarının taneli yapıda olması ve posa bırakmasının (Demlemeden işleminden sonra

süzülmesine rağmen) parlaklığı etkilediği, bu nedenle kapari tomurcuğu içermeyen KC₁ örneğinin kapari tomurcuğu içeren örneklerle göre parlaklık değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. KC₁ örneğinde a* ve b* değerleri ise sırası ile 0.61 ve 4.29 olarak, KC₂ ve KC₃ örneklerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.01). Antosiyaninler asidik ortamda kırmızı-turuncu renk veren bileşiklerdir olup [66], yeşil çay içeren KC₁ ve KC₃ örneklerinde antosiyanin içeriği (Minor seviyede olsa da) tespit edilmiştir. Kombü çayı asidik yapısı ile antosiyanin

içeren yeşil çay örneklerinin (KC₁, KC₃) daha yüksek a* değerine sahip olduğu belirlenmiştir.

Antioksidan Kapasite ve Toplam Fenolik Bileşen Tayini

Kapari tomurcuğu kullanılarak üretilen Kombü çaylarının ekstrakte edilebilir, hidrolize edilebilir ve biyoerişilebilir fenolik içeriğinin antioksidan kapasite ve toplam fenolik bileşen analiz sonuçları ile fenolik bileşiklerin % biyoerişilebilirlikleri Tablo 5'de verilmiştir (p<0.01).

Tablo 4. Kombü çayı örneklerinin antioksidan kapasite ve toplam fenolik bileşen içeriği*

Örnek	Ekstrakte Edilebilir Fenolikler				Hidrolize Edilebilir Fenolikler			
	Toplam Fenolik Bileşen (mg GAE/g)	Antioksidan Kapasite (µmol trolox/g)			Toplam Fenolik Bileşen (mg GAE/g)	Antioksidan Kapasite (µmol trolox/g)		
		ABTS	CUPRAC	DPPH		ABTS	CUPRAC	DPPH
KC ₁	9.09±0.12 ^b	6.29±0.23 ^b	4.32±0.02 ^a	6.91±0.06 ^b	4.59±0.13 ^b	7.01±0.11 ^b	3.59±0.10 ^b	2.94±0.05 ^b
KC ₂	7.19±0.06 ^c	4.46±0 ^c	2.30±0.04 ^b	6.43±0.08 ^b	4.26±0.04 ^b	3.85±0.23 ^c	3.35±0.03 ^c	2.90 ±0.01 ^b
KC ₃	9.69±0.06 ^a	7.06±0.08 ^a	4.03±0.03 ^a	7.12±0.06 ^a	6.30±0.30 ^a	7.59±0.15 ^a	4.28±0.01 ^a	3.03±0.20 ^a
Örnek	Biyoerişilebilir Fenolikler				%Biyoerişilebilirlik			
	Toplam Fenolik Bileşen (mg GAE/g)	Antioksidan Kapasite (µmol trolox/g)			Toplam Fenolik Bileşen (mg GAE/g)	Antioksidan Kapasite (µmol trolox/g)		
		ABTS	CUPRAC	DPPH		ABTS	CUPRAC	DPPH
KC ₁	5.23±0.01 ^a	5.53±0.02 ^a	3.96±0.01 ^b	2.08±0.11 ^a	19.03±0.40 ^b	20.67±0.25 ^b	24.87±0.24 ^b	10.50±0.40 ^a
KC ₂	4.94±0.01 ^b	4.14±0.08 ^b	1.24±0.01 ^c	1.28±0.01 ^b	21.55±0.06 ^a	25.23±0.22 ^a	10.89±0.28 ^c	6.88±0.06 ^b
KC ₃	5.26±0.05 ^a	5.70±0.02 ^a	4.47±0.01 ^a	2.36±0.20 ^a	16.41±0.40 ^c	19.48±0.04 ^b	26.90±0.24 ^a	11.62±0.11 ^a

*KC₁: Yeşil Çaylı Kombü Çayı, KC₂: Kapari Tomurcuğu Kombü Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuğu Kombü Çayı. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında p<0.01 oranında istatistiksel olarak önemli fark bulunmaktadır.

Kombü çaylarına ait antioksidan kapasite verilerine göre, ekstrakte edilebilir fenolik bileşenlerden en yüksek değerler KC₃ örneğinde (TEAC_{ABTS}: 7.06±0.08 µmol Trolox/mL, TEAC_{DPPH}: 7.12±0.06 µmol Trolox/mL) belirlenmiştir (p<0.01). Yapılan analizler sonucunda ABTS ve DPPH yöntemlerinin Kombü çayı örneklerinin ekstrakte edilebilir fenolik içerikleri için paralel sonuçlar gösterdiği, CUPRAC metoduna göre ise en yüksek ekstrakte edilebilir fenolik içeren örneğin KC₁ (4.32±0.02 µmol Trolox/mL) olduğu belirlenmiştir. Kapari ve yeşil çay içeren KC₃ örneğinin, sadece yeşil çay içeren KC₁ örneğine göre ekstrakte edilebilir fenolikleri ABTS metoduna göre %12.24; DPPH metoduna göre ise %3.03 arttırdığı belirlenmiştir. Hidrolize edilebilir fenolikler açısından KC₃ örneği KC₁ ve KC₂ örneklerine göre önemli düzeyde yüksek değerler göstermiştir (p<0.01). Biyoerişilebilir fenolikler açısından ise, KC₃ örneği KC₁ örneği ile kıyaslandığında ABTS metoduna göre %3.07; CUPRAC metoduna göre %12.88; DPPH metoduna göre ise %13.46 oranında artış sağlandığı tespit edilmiştir. Biyoerişilebilirliği yüksek olan KC₃ örneğinin, mide-bağırsak sisteminde antioksidan aktivitesini en fazla koruyabilen Kombü çayı örneği olduğu ve biyoerişilebilir fenolik içeriğinin TEAC_{ABTS}: 5.70 µmol Trolox/mL; TEAC_{CUPRAC}: 4.47 µmol Trolox/mL; TEAC_{DPPH}: 2.36 µmol Trolox/mL değerlerine sahip olduğu da belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşen analizi sonucuna göre de, KC₃ örneği ekstrakte edilebilir fenoliklerinin toplam fenolik bileşen analiz değeri (9.69±0.06 mg GAE/mL), sadece yeşil çayın fermentasyonu ile elde edilen KC₁ (9.09±0.12 mg GAE/mL) örneği ile karşılaştırıldığında, kaparinin kullanımı ile, %6.60 oranında zenginleştiği

gözlemlenmiştir. Kapari ve yeşil çay birleşiminin (KC₃) Kombü çayında olumlu etki gösterdiği belirlenmiş ve yeşil çaylı Kombü çayına (KC₁) göre daha yüksek fenolik madde içerdiği ve *in vitro* biyoerişilebilirliği daha yüksek olan bir ürün elde edildiği saptanmıştır. Analizler sonucunda kapari ve yeşil çayın birlikte kullanılarak fermente edilmesinin ABTS, DPPH, yöntemine göre antioksidan aktiviteyi arttırıcı etki gösterdiği, böylelikle fenolik içerik ve antioksidan kapasitenin daha yüksek olduğu KC₃ örneğinin elde edildiği belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde Kombü çayı antioksidan kapasite analizleri genellikle tek ekstraksiyon yapılarak, ekstrakte edilebilir fenolikler üzerinden değerlendirildiği belirlenmiştir. *In-vitro* biyoerişilebilirlik çalışmalarındaki eksiklik diğer bilim insanlarının da dikkatini çekmesi ile bu konudaki çalışmalar artmaktadır. Cardoso ve ark. [63], yeşil çay ve siyah çay Kombü örnekleri ile yaptıkları çalışmada, fenolik asitlerin ve flavonoidlerin içerikteki öne çıkan biyoaktif bileşikler olduğunu, fenolik bileşen içeriğinin %70,2'sini flavonoidlerin oluşturduğunu, miktar ve aktivitelerinin fermentasyon koşullarına bağlı olarak değiştiğini belirtmiştir. Aynı çalışmada yeşil çay içeren Kombü çayı örneklerinin TEAC_{ABTS} değeri 8.22 µmol Trolox/mL, toplam fenolik bileşen içeriğini 0.70mg GAE/mL olarak belirlemiştir.

Pereira ve ark. [67]'na ait çalışmada yeşil çay ve siyah çay ile hazırlanan Kombü çaylarında toplam fenolik bileşen miktarı sırası ile 1080 mg GAE/L ve 1120 mg GAE/L olarak belirlenirken; Khokhar ve Magnusdottir [68] çalışmalarında yeşil çay-Kombü çayının toplam fenol içeriği 86.3 mg GAE/g olarak saptamıştır. Toplam

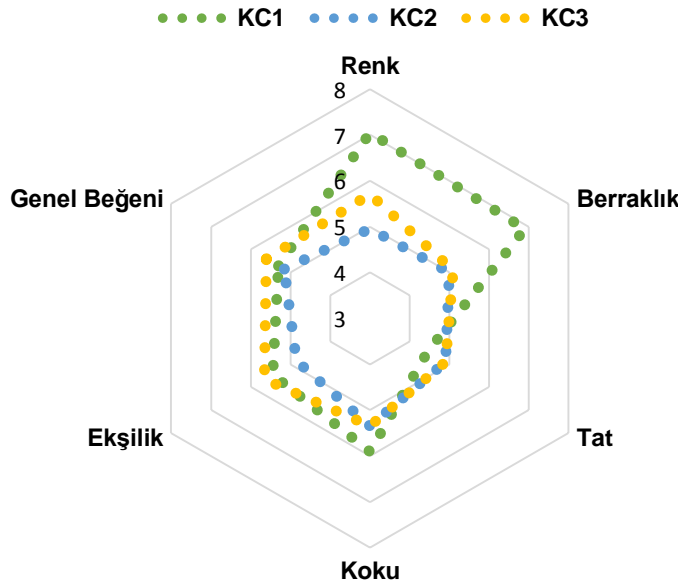
fenolik bileşen analiz sonuçlarımız, literatür ile uyumluluk göstermektedir. Jakubczyk ve ark. [69] beyaz, yeşil, siyah ve kırmızı Kombu çay örneklerinde, 14 gün süre ile fermentasyonu gözlemlemiş ve yeşil çay-Kombu çayı örneğinin çay türü açısından en yüksek antioksidan potansiyel ile karakterize edildiğini ve fermentasyonun ilk gününden itibaren en yüksek değerleri verdiğini belirtmiştir. Örneği 14 günlük fermentasyon sırasında; DPPH inhibisyonunun %80.33'den %88.23'e, toplam fenolik bileşen içeriğinin de 269.0±0.9 mg/L'den 320.1±3.5 mg/L'ye yükseldiği ifade edilmiştir.

Kombu çayındaki fenoliklerin bileşimi ve konsantrasyonunun yanısıra, fermentasyon sırasında üretilen askorbik asit ve diğer organik asitler gibi metabolitler de Kombu çayının antioksidan kapasitesini değiştirebilmektedir [70]. Kombu çayı antioksidan kapasitesi fermentasyon sıcaklığı [71] ve süresinden de [72] etkilenmektedir. Ayrıca toplam fenolik bileşikler fermentasyon süresi boyunca kademeli olarak artmaktadır. Yeşil ve siyah çaydaki kompleks fenolik bileşikler, Kombu çayının asidik ortamında SCOBY mikrobiyotasındaki bakteri ve mayalara ait enzimler tarafından parçalanmaya uğrayabilmektedir. Kompleks polifenollerin küçük moleküllere degradasyonu da toplam fenolik bileşiklerin artmasına neden olmaktadır [33]. Bu durum aynı zamanda fenolik bileşenlerin biyoerişebilirliğinin artmasını da sağlamaktadır. Çalışmada elde edilen veriler sonucunda, sadece yeşil

çay fermentasyonu ile elde edilen KC₁ örneği ile kıyaslandığında, kapari tomurcuğu ile yeşil çayın birlikte fermentasyonu ile elde edilen KC₃ örneklerinin fenolik bileşen içeriğinin, biyoerişebilirliğinin yani vücut tarafından kullanılabilirliğinin arttığı düşünülmektedir.

Duyusal Analiz

Kombu çayı örnekleri duyusal değerlendirilmesi, 22-43 yaş aralığındaki 18 kişilik panelist grubu tarafından belirlenmiştir (Şekil 4). Renk, berraklık ve koku kriterlerinde en yüksek puanı alan örnek KC₁ (7.08; 6.93; 5.91); tat ve ekşilik kriterlerinden sırası ile en yüksek puan alan örnekler ise KC₂ (4.92; 4.87) ve KC₃ (4.92; 4.66) olmuştur (p<0.01). Genel beğeni durumu incelendiğinde ise, en yüksek puanları alan örnek kapari tomurcuğu ve yeşil çay fermentasyonu ile elde edilen KC₃ (5.61) örneği olmuştur. KC₂ örneği ekşilik, tat ve genel beğeni kriterlerinden nispeten düşük puanlar alsa da, yeşil çayın kapari ile zenginleştirilmesi ile elde edilen KC₃, yeşil çaylı KC₁ örneğinden de daha fazla beğenilmiştir. Panelistlerin %27'sinin ilk kez Kombu çayı denemesine rağmen, 3 formülasyon da 5 puan ve üzerinde genel beğeni puanı alarak, panelistler tarafından kabul görmüştür. Ayrıca panelistler, gıdaların sağlık üzerindeki etkilerinin bilinmesinin, onların tüketilebilirliğini artırdığını, farklı tatlara bu nedenle daha olumlu bakıldığını belirtmiştir.



Şekil 4. Kombu çayı örneklerinin duyusal analiz sonuçları

KC₁: Yeşil Çaylı Kombu Çayı, KC₂: Kapari Tomurcuğu Kombu Çayı, KC₃: Yeşil Çay + Kapari Tomurcuğu Kombu Çayı

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında; kapari tomurcuğunun, Kombu çayı üretiminde kullanımı, simbiyotik Kombu çayı kültürü (SCOBY) ile sadece yeşil çayın fermente edilmesi (KC₁), sadece kapari tomurcuğunun fermente edilmesi (KC₂) ve yeşil çay ile kapari tomurcuğunun beraber fermente edilmesi (KC₃) ile incelenmiştir. Kombu çayı üretiminde kullanılan kapari tomurcuğunun ekstrakte edilebilir,

hidrolize edilebilir ve biyoerişebilir fenolik bileşenlerin antioksidan kapasitesi değerlendirildiğinde TEAC_{ABTS} 'ye göre sırası ile 23.53±0.06 µmol Trolox/g; 31.59±0.27 µmol Trolox/g; 18.55±0.5 µmol Trolox/g olarak belirlenmiş, TEAC_{DPPH} ve TEAC_{CUPRAC} verilerine göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.01). Üretilen Kombu çaylarından KC₃ örneğinin ise, sadece yeşil çay içeren KC₁ örneğine göre ekstrakte edilebilir fenolikleri ABTS metoduna göre %12.24; DPPH metoduna göre ise

%3.03 arttırdığı belirlenmiştir. Biyoerişilebilir fenolikler açısından ise, KC₃ örneği KC₁ örneği ile kıyaslandığında ABTS metoduna göre %3.07; CUPRAC metoduna göre %12.88; DPPH metoduna göre ise %13.46 oranında artış sağlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca KC₁ örneğinin antosiyanin miktarı 2.30 mg/L (S3G eşdeğeri) olarak belirlenirken, yeşil çayın ve kapari tomurcuğunun fermentasyonu ile bu değer, KC₃ örneğinde, kapari tomurcuğunun etkisi ile artarak 3.5 mg/L (S3G eşdeğeri) olarak belirlenmiştir. %27'si ilk kez Kombu çayı tadan paneslit grubundan en yüksek genel beğeni puanı olarak (5.61), duyuşal özellikler ile de tüketime uygun bir ürün geliştirilmiştir. Kapari ve yeşil çay birleşiminin (KC₃) Kombu çayında olumlu etki gösterdiği belirlenmiş ve yeşil çaylı Kombu çayına (KC₁) göre daha yüksek miktarda biyoaktif bileşen içeren ve *in vitro* biyoerişilebilirliği daha yüksek olan bir ürün elde edildiği saptanmıştır. Sağlık üzerinde etkili bileşenleri açısından zenginleştirilmiş, fonksiyonel bir ürün elde edildiği belirlenmiştir.



KAYNAKLAR

- [1] Baytop, T. (1995). Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu Yayınları 578, Ankara.
- [2] Bilgin, M. (2004). Kapari Yurt İçi Piyasa ve Ürün Araştırması. İstanbul Dış Ticaret Odası Dış ticaret Şubesi Araştırma Servisi, 23.
- [3] Romeo, V., Ziino, M., Giuffrida, D., Conduro, C., Verzera, A. (2007). Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. *Food Chemistry*, 101(3), 1272-1278.
- [4] Falade, O.S., Adekunle, A.S., Aderogba, M.A., Atanda, S.O., Harwood, C., Adewusi, S.R. (2008). Physicochemical properties, total phenol and tocopherol of some Acacia seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2), 263-268.
- [5] Argun, M.E. (2012). Kapari (*Capparis ovata* Desf. var. *Canescens*) Çiçek Tomurcuklarının Fermentasyonu Üzerine Bazı Baharat Uçucu Yağ ve Ekstraktlarının Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya.
- [6] Kara, A. (2012). Türkiye'de Yetişen Kapari (*Capparis* spp.) Bitkisinde Genetik Çeşitliliğin Moleküler İşaretleyicilerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Çorum.
- [7] Matthäus, B., Özcan, M. (2005). Glucosinolates and fatty acid, sterol, and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* Var. *spinosa* and *Capparis ovata* Desf. Var. *canescens* (Coss.) Heywood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 7136-7141.
- [8] Tlili, N., Khaldi, A., Triki, S., Munné-Bosch, S. (2010). Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 260-265.
- [9] Brevard, H., Brambilla, M., Chaintreau, A., Marion, J.P., Diserens, H. (1992). Occurrence of elemental sulphur in capers (*Capparis spinosa* L.) and first investigation of the flavour profile. *Flavour and Fragrance Journal*, 7(6), 313-321.
- [10] Yemiş, O. (2008). Kapari (*Capparis* spp.) Acılık Bileşenleri ve Flavonoidlerin Proses Sırasındaki Değişimi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [11] Huseini, H.F., Hasani-Rnjbar, S., Nayebi, N., Heshmat, R., Sigaroodi, F.K., Ahvazi, M., Alaei, A.B., Kianbakht, S. (2013). *Capparis spinosa* L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 21(5), 447-452.
- [12] Eddouks, M., Lemhadri, A., Michel, J.B. (2005). Hypolipidemic activity of aqueous extract of *Capparis spinosa* L. in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(3), 345-350.
- [13] Kazemian, M., Abad, M., reza Haeri, M., Ebrahimi, M., Heidari, R. (2015). Anti-diabetic effect of *Capparis spinosa* L. root extract in diabetic rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(4), 325.
- [14] Angelini, G., Vena, G.A., Filotico, R., Foti, C., Grandolfo, M. (1991). Allergic contact dermatitis from *Capparis spinosa* L. applied as wet compresses. *Contact Dermatitis*, 24(5), 382-383.
- [15] Panico, A.M., Cardile, V., Garufi, F., Puglia, C., Bonina, F., Ronsisvalle, G. (2005). Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sciences*, 77(20), 2479-2488.
- [16] Jiang H., Lib, X., Ferguson, D.K., Wanga, Y.F., Liu, C.J., Lia, C.S. (2009). Study on the chemical components of fatty acid and total flavone content from *Capparis spinosa* fruit, *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 1, 82.
- [17] Farhad, M., Kailasapathy, K., Tamang, P.J. (2010). Health Aspects of Fermented Foods. In: Fermented Foods and Beverages of the World, Tamang JP, Kailasapathy K (ed), CRC Press Newyork, United States of America, 391-414.
- [18] El-Taher, E.M. (2011). Kombucha: A New Microbial Phenomenon and Industrial Benefits, *African Journal of Biological Sciences*, 7, 41-60.
- [19] Battikh, H., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2012). Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1), 71-77.
- [20] Dufresne, C., Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research international*, 33(6), 409-421.
- [21] Chu, S.C., Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502-507.
- [22] Essawet, N.A., Cvetković, D., Velićanski, A., Čanadanović-Brunet, J., Vulić, J., Maksimović, V., Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of Kombucha beverage enriched with Coffeeberry® extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21(3), 399-409.
- [23] Dutta, D., Gachhui, R. (2006). Novel nitrogen-fixing *Acetobacter nitrogenifigens* sp. nov., isolated from Kombucha tea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(8), 1899-1903.
- [24] İleri, T., Taşçı, F., Şahindokuyucu, F. (2010). Kombucha ve sağlık üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 29(1), 69-77.

- [25] Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, Article ID 591869.
- [26] Greenwalt, C.J., Ledford, R.A., Steinkraus, K.H. (1998). Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. *LWT-Food Science and Technology*, 31(3), 291-296.
- [27] Teoh, A.L., Heard, G., Cox, J. (2004). Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 119-126.
- [28] Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U., Teuber, M. (1995). Microbiology and fermentation balance in a kombucha beverage obtained from a tea fungus fermentation. *Systematic and Applied Microbiology*, 18(4), 590-594.
- [29] Liu, C.H., Hsu, W.H., Lee, F.L., Liao, C.C. (1996). The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. *Food Microbiology*, 13(6), 407-415.
- [30] Shenoy, C. (2000). Hypoglycemic activity of bio-tea in mice. *Blood*, 1, 1-26.
- [31] Yang, Z.W., Ji, B.P., Zhou, F., Li, B., Luo, Y., Yang, L., Li, T. (2009). Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1), 150-156.
- [32] Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Čanadanović-Brunet, J.M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731.
- [33] Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 538-550.
- [34] Četojević-Simin, D.D., Velićanski, A.S., Cvetković, D.D., Markov, S.L., Mrđanović, J.Ž., Bogdanović, V.V., Šolajić, S.V. (2012). Bioactivity of lemon balm kombucha. *Food and Bioprocess Technology*, 5(5), 1756-1765.
- [35] Değirmencioğlu, N., Yıldız, E., Şahan, Y., Gültaş, M., Gürbüz, O. (2019). Fermentasyon süresinin kombu çayı mikrobiyotası ve canlılık oranları üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(2), 200-211.
- [36] Kavitha R., Abdelrahman R. (2012). The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Research International*, (1), 16-20.
- [37] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2, 152-159.
- [38] Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- [39] Bermúdez-Soto, M.J., Tomás-Barberán, F.A., García-Conesa, M.T. (2007). Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to in vitro gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102(3), 865-874.
- [40] Benito, P., Miller, D. (1998). Iron absorption and bioavailability: an updated review. *Nutrition Research*, 18(3), 581-603.
- [41] Porrini, M., Riso, P. (2008). Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18(10), 647-650.
- [42] Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T. (2012). Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following in vitro digestion vs. their native patterns. *Food Chemistry*, 131(4), 1466-1472.
- [43] AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Maryland, USA: Association of Official Analytical, Chemists International.
- [44] Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278.
- [45] Vitali, D., Dragojević, I.V., Šebečić, B. (2009). Effects of incorporation of integral raw materials and dietary fibre on the selected nutritional and functional properties of biscuits. *Food Chemistry*, 114(4), 1462-1469.
- [46] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Celik, S.E. (2008). Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160(4), 413-419.
- [47] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [48] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- [49] Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- [50] Anson, N.M., Selinheimo, E., Havenaar, R., Aura, A.M., Mattila, I., Lehtinen, P., Bast, A., Poutanen, K., Haenen, G.R. (2009). Bioprocessing of wheat bran improves in vitro bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6148-6155.
- [51] Arslan, D. (2004). Kapari (*Caparis Ovata* Var. *Canescens*) Çiçek Tomurcuklarının Kontrollü Şartlarda Salamura Ürüne İşlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 70s, Konya.
- [52] Özcan, M. (1996). Kapari (*Capparis* spp.) Çiçek Tomurcuklarının Bileşimi ve Salamura Ürüne İşlenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen

- Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Konya.
- [53] Kuşçu, A., Yıldırım, N. (2018). Acılığı giderilmiş kapariden (*Capparis* Spp.) geleneksel ve vakum yöntemleriyle üretilen reçellerin kalite özelliklerinin karşılaştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 881-886.
- [54] Abdul Ameer, A.A. (2016). Assessment of the antioxidant properties of the caper fruit (*Capparis spinosa* L.) from Bahrain. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Science*, 19, 1-7.
- [55] Khanavi, M., Ara, L., Khavassi, N., & Hajimehdipoor, H. (2020). *Capparis spinosa*: a comparative study of raw and processed fruits. *Journal of Medicinal Plants*, 1(73), 91-99.
- [56] Ardağ, A. (2008). Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Aydın.
- [57] Vahid, H., Rakhshandeh, H., Ghorbani, A. (2017). Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 293-302.
- [58] Yang, T., Wang, C.H., Chou, G.X., Wu, T., Cheng, X.M., Wang, Z.T. (2010). New alkaloids from *Capparis spinosa*: Structure and X-ray crystallographic analysis. *Food Chemistry*, 123(3), 705-710.
- [59] Güldane, M., Bayram, M., Topuz, S., Kaya, C., Gök, H. B., Bülbül, M., Koç, M. (2017). Beyaz, siyah ve yeşil çay kullanılarak üretilen kombuchaların bazı özelliklerinin belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (JAFAG)*, 34(1), 46-56.
- [60] Tarhan, K. (2017). Kombü Çayı Üretiminde Farklı Substrat Kaynaklarının Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya.
- [61] Harkness Troy, A.A., & Arnason Terra, G. (2014). A simplified method for measuring secreted invertase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Pharmacol (Los Angel)*, 3(151), 2167-0501.
- [62] Rahmani, R., Beaufort, S., Villarreal-Soto, S. A., Taillandier, P., Bouajila, J., Debouba, M. (2019). Kombucha fermentation of African mustard (*Brassica tournefortii*) leaves: Chemical composition and bioactivity. *Food Bioscience*, 30, 100414.
- [63] Cardoso, R.R., Neto, R.O., dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., de Barros, F.A.R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782.
- [64] Jayabalan, R., Marimuthu, S., Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392-398.
- [65] Yıldız, E., Guldaz, M., Gurbuz, O. (in press). Determination of in-vitro phenolics, antioxidant capacity and bio-accessibility of Kombucha tea produced from black carrot varieties grown in Turkey. *Food Science and Technology, in press*.
- [66] Harkness Troy, A.A., Arnason Terra, G. (2014). A simplified method for measuring secreted invertase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Pharmacol (Los Angel)*, 3(151), 2167-0501.
- [67] Pereira, V.P., Knor, F.J., Velloso, J.C.R., Beltrame, F.L. (2014). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, 16(3), 490-498.
- [68] Khokhar, S., Magnusdottir, S.G.M. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 565-570.
- [69] Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9, 447.
- [70] Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., Čanadanović-Brunet, J.M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731.
- [71] Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227-234.
- [72] Chu, S.C., Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502-507.

Sıvı Yumurta Sarısının Ultrases Tekniğiyle İşlenmesi ile Yapısal Özelliklerinin Karakterizasyonu ve Reolojik Davranışının Belirlenmesi

Muhammed Yüceer  

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Çanakkale

Geliş Tarihi (Received): 17.03.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 08.11.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): myuceer@comu.edu.tr (M. Yüceer)

☎ 0 286 218 0018-5525 📠 0 286 218 05 49

ÖZ

Yumurta, binlerce yıldır bilinen, ucuz, insan beslenmesinde önemli yer alan, işlevsel özellikleri ile besin öğeleri bakımından mükemmel nitelikleriyle ülke ekonomisinde önemli bir yere sahip olan bir gıda maddesidir. Çalışma kapsamında; ultrases uygulamasının sıvı yumurta sarısının (SYS) farklı (100 W ve 250 W) güçlerde 30 saniye süre ile muamelesi ve mikro yapısı taramalı elektron mikroskopuyla incelenerek yapısal karakterizasyonu amaçlanmıştır. Ayrıca ultrases uygulamasının SYS'nin reolojik davranışına etkileri depolama boyunca (0. ve 17. gün) belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, ultrases muamelesinin SYS'nin viskozitesini istatistiki açıdan önemli ($p<0.05$) düzeyde azalttığı (kontrol; 2.67 ± 0.03 'den 100 W için; 1.09 ± 0.02 'a) ancak artan sonikasyon uygulama gücü ile viskozitenin arttığı, jelleşmenin gözlemlendiği ve SEM görüntülerinde deformasyonların olduğu belirlenmiştir. Depolama ile birlikte ultrases uygulanan örneklerin viskozite değerlerindeki kayıp kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Yumurta, Ultrases, Kalite kriterleri, Reolojik davranış, Yapısal morfoloji

Rheological Behavior and Structural Characterization of Liquid Egg Yolk Treated with Ultrasound Processing Technique

ABSTRACT

Eggs are inexpensive food products with excellent nutritional value for thousands of years in human history. The goal of this study was to observe the effect of ultrasound treatment on physicochemical properties and rheological behaviors of liquid egg yolk (LEY). LEY samples were ultrasound treated with 100 W and 250 W for 30s of exposure time. The scanning electron microscope (SEM) and rheological behaviors of LEY samples were determined during storage (day 0 and day 17). The effect of ultrasound treatment on the rheological behavior of SYS was determined throughout storage. As a result of the study, ultrasound treatment reduced the viscosity significantly (control; 2.67 ± 0.03 , 100 W; 1.09 ± 0.02) of LWY ($p<0.05$). However, with increased sonication power, the viscosity increased, gelling was also observed in the LEY structure, and deformations occurred in SEM images. The loss in viscosity values of the ultrasound treated samples found higher than control group during storage.

Keywords: Egg, ultrasound, Quality criteria, Rheological behavior, Structural morphology

GİRİŞ

Temel hayvansal gıda kaynaklarından biri olan yumurta, insan sağlığı ve ülke ekonomisinde önemli bir yeri vardır. İnsan beslenmesi ve ülke ekonomisi açısından

önemli bir besin maddesi olan yumurta, tüketici tarafından kolay temin edilebilen besin değeri yüksek bir gıda maddesi olup, çeşitli alternatiflerle kolaylıkla hazırlanıp tüketilebilmektedir [38]. Yumurta sarısı mineral bağlama özelliği, antioksidant gibi fonksiyonel

özellikleriyle birçok gıda ürününün imalatında kullanılmaktadır [19]. Yumurta çoğunlukla kabuklu yumurta olarak tüketilmektedir. Taze yumurta kullanan gıda imalathanelerinde, üretim sırasında yüzlerce/binlerce yumurtanın kırılması için harcanan zaman, bu yumurtaların kabuklarının oluşturduğu atıklar ve kabuklu yumurtanın depolanmasına için ayrılması zorunlu olan geniş alan gereksinimi, işletme açısından önemli problemler oluşturmaktadır. Birçok ülkede taze yumurta gerek gıda sanayiinde gerekse evlerde kullanılmak üzere pastörizasyon tekniğiyle işlenmektedir. Günümüzde plakalı veya borulu ısı eşanjörleri ile pastörizasyon tekniği sıvı yumurtaların muhafazasında kullanılan tek yöntem olup alternatiflerinin geliştirilmesi yönünde çabalar bulunmaktadır. Pastörizasyonun sıvı yumurtanın fonksiyonel özellikleri, besinsel bileşimi, aroma ve yapısı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle alternatif metotların geliştirilmesi ve uygulanması günümüzde giderek hız kazanmıştır [36].

Ultrases; ısı olmayan alternatif gıda işleme tekniklerden olup, yüksek enerjili ultrases dalgalar kullanılmaktadır. Ultrases uygulamasının avantajları arasında; yüksek homojenite ve kavitasyon etkisi yer almaktadır. Ultrases, mekaniksel nitelikte olup çok yüksek frekansta (18 kHz-500 MHz) duyulabilecek tonda sese sahiptir. Ultrases uygulamaları esnasında hücre içinde vakumlu boşlukların (kavitasyonlar) oluşması, hücre çeperinin incilmesi, noktasal sıcaklık yükselişi, mikro buharlaşma ve şok dalgaları gibi etkiler, geleneksel ısı işlem uygulamalarında oluşan besin kaybı ve olumsuz duyuşsal değişimlere neden olmazken mikroorganizmaların daha düşük sıcaklıklarda ve kısa sürelerde inaktivasyonunu sağlamaktadır. Ultrases uygulamasında kullanılan dalganın büyüklüğü, sıcaklık, basınç, frekans gibi faktörlere bağlı olarak fiziksel ve kimyasal değişimler gözlenmektedir [9]. Ultrases uygulamasının yüksek moleküler ağırlıklı proteinlerin parçalanmasında da kullanılabilirliği ifade edilmiştir [28]. Ultrases uygulamalarının etkinliği üzerine, kullanılan ultrasonik dalganın genliği, uygulama süresi, uygulamanın yapıldığı hacim, gıdanın bileşimi ve sıcaklık etkili olmaktadır. Bir ultrason dalgası, herhangi bir materyale dikey doğrultuda yönlendirilirse, parçacıklar kuvvet ile aynı yönde titreşmektedir (basınç dalgası), eğer paralel yönlendirilirse, parçacıklar kuvvete dikey doğrultuda (shear) oluşmaktadır. Ultrason frekansı önemli bir parametredir ve maksimum kabarcık boyutunu belirlemektedir. Düşük frekanslarda (örneğin 20 kHz) üretilen kabarcıkların boyutu büyüktür ve çöktüğünde yüksek enerjiler üretmektedir [7, 8, 34]. Ultrases dalgaları katı, sıvı ve gaz gibi ortamlarda sıkışma ve genleşme ile yayılabilme özelliğine sahip olup, kavitasyon oluşturma özellikleri bulunmaktadır. Gıda sanayiinde kullanılan ultrases uygulaması düşük enerji yoğunluklu (<1 W/cm²; >100 kHz) ve yüksek enerji yoğunluklu (10-1000 W/cm²; 20-100 kHz) olarak değerlendirilmektedir. Düşük yoğunluklu ultrases uygulamaları ağırlıklı olarak gıdaların tahribatsız muayenesinde kullanılmakta olup, yumurtanın kalitesinin tayini amacıyla uygulanan tasnif sistemleri buna örnektir. Yüksek yoğunluklu ultrases uygulamaları

ise gıda sanayiinde proses işleme sürecinde değerlendirilmektedir [21, 22, 25, 29, 34].

Yumurta proteinlerinin ultrases ile muamele sonrası jelleşme ve viskoelastik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada 20 dakika süre ile 20 kHz ve %20 Amp'de ısı ile kombine edilerek yapılan uygulama neticesinde yumurtanın fonksiyonel özelliklerinin iyileştirildiği bildirilmiştir [3]. Cabeza, ve ark. [5] Ultrasesin ısı ile kombine edildiği termoultrases uygulamasının yumurtanın fonksiyonel özelliklerini istatistiksel açıdan önemli düzeyde değiştirmediği ifade edilmiştir. Ayrıca termoultrases ile kontrol grubu yumurta örnekleri arasında istatistiki açıdan raf ömrü, emülsiyon ve köpük kapasitesi, tekstür, duyuşsal nitelik gibi fonksiyonel özelliklerde farklılık bulunmadığı bildirilmiştir. Çalışma kapsamında 24 kHz, 400 W ultrases ile 54°C'de 5 dk. ısı işleminin kombine edildiği görülmüştür. Ultrases uygulamasının yumurta proteinleri üzerinde çözünürlük artışı ve protein partikül büyüklüğünde azalma olarak etkileri yapılan çalışmalarda kaydedilmiştir [10, 27]. Xie, ve ark. [31] yumurta sarısında yapmış olduğu yüksek enerjili ultrases uygulamasında emülsifikasyon, gel oluşturma, köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi değerlerini incelemiştir. Uygulama sonrası yumurta sarısının emülsifiye, köpürme ve jel özellikleri gelişirken ve köpük stabilitesi değerlerinde kayıp meydana gelmiştir. Ultrases işleminin zeta-potansiyeli ve serbest sülfhidril içeriğini iyileştirirken, ortalama partikül boyutunu düşürmüş ve yumurta sarısı LDL ve yumurta sarısı granüllerinde değişim meydana getirmiştir. Yüceer [34] sıvı bütün yumurtada yapmış olduğu çalışmada 150 W ve 375 W uygulamalarını 3 ile 6 dk süresince çalışmış ve 150 W uygulamasının yumurtanın köpük oluşturma değerlerini arttırdığı artan ultrases uygulama süresi ve gücü ile kalite kriterlerinin ve raf ömründe artış sağlamıştır. Literatürde yapılan çalışmaların sıvı yumurtanın ultrases ile işlenmesinde çoğunlukla mikrobiyal parametrelerin çalışıldığı gözlenmiştir. Farklı ultrases güç parametre uygulamalarına bağlı olarak yumurta sarısının fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel kalitesindeki değişikliğin tespiti; hem yumurtanın muhafazası esnasındaki ekonomik kaybın önlenmesi hem de fonksiyonel niteliklerinin korunması endüstriyel açıdan önem taşımaktadır. Araştırmacı tarafından önceki çalışmada ultrasesin sıvı yumurta sarısının fiziko-kimyasal özellikleri üzerine olan etkileri belirlenmiştir [35].

Çalışma kapsamında farklı ultrases güç uygulamasının (100 ve 250 W- 30 saniye süre) yumurta sarısı örnekleri üzerindeki taramalı elektron mikroskobu ve reolojik davranışı üzerine etkileri incelenmiştir. Böylece sıvı çığ yumurta sarısının yapısal özellikleri SEM ile gözlemlenerek ve depolama boyunca (0. ve 17. gün) reolojik davranışları incelenerek ultrasesin kullanılabilir güç değerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada hammadde olarak kullanılan ısısal işlem görmemiş çığ sıvı yumurta sarısı (SYS) yerel ölçekli sıvı

yumurta üreticisinden tedarik edilmiştir. Numuneler 10 kg'lık PE/EVOH plastik ambalajlarda (bag in box) laboratuvara soğuk zincirde (+4°C) temin edilmiş, analiz işlemi ve depolama süresince (0. ve 17. gün) sıcaklık ürün mikrobiyal stabilitesinin korunması açısından muhafaza edilmiştir.

Metot

Çalışmada SYS örneklerinin ultrases ile muamelesinde kavitasyon oluşturmak için 20kHz±1kHz frekans değerinde çalışan Ultraschall processor UIP1000hd ultrases cihazı (Hielscher Ultrasonics GmbH, Teltow, Almanya) kullanılmıştır. Uygulamada BS2d18 (1,5x4,5x13,5 cm) paslanmaz çelik metalik prob (sonotrode yüzey alanı 2,5 cm²) ultrases uygulaması gerçekleştirilmiştir [6]. Proses işlem parametrelerinin seçiminde Wen-jing ve ark. [30] tarafından yapılan çalışmanın sonuçları dikkate alınarak deneysel çalışmada yapılan ön çalışmalar neticesinde Yüceer [35] fonksiyonel karakterizasyon ve renk parametrelerindeki renk değişimleri dikkate alınarak farklı güç parametresi (100 W ve 250 W) 30 saniye süreyle sonikasyon uygulaması gerçekleştirilmiştir. Uygulama esnasında yumurta sarısının SEM görüntülerinde sonikasyon süre parametresi sabit tutularak güç değerlerinde farklılık oluşturulmasıyla en az deformasyon hedeflenmiştir. Ayrıca etkin ultrases gücü etkisiyle SYS örneklerindeki sıcaklık artışını önlemek için üretici firma tarafından özel olarak imal edilen çift cidarlı paslanmaz üniteye ürün sıcaklığı +4°C'de sabit tutulacak şekilde soğutma suyu sirkülasyonu yapılarak 300 mL'lik SYS numuneleri partiler halinde sonikasyon uygulaması gerçekleştirilmiştir [34]. Ultrases uygulanan örnekler 1 kg'lık PE/EVOH plastik ambalajlarda ve soğuk zincirde (+4°C) 17 gün süresince depolanmıştır. Çalışmada kontrol numunesi olarak çiğ sıvı yumurta sarısı kullanılmış olup ultrases uygulamasında da yine sınırlı raf ömrüne sahip olan işlenmemiş (çiğ) sıvı yumurta sarısı kullanılmıştır.

Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Ölçümleri

Ultrases ile muamele edilen SYS örneklerinin yüzeyinde (dokusunda) kavitasyonun neden olduğu değişikliklerin, deformasyonları izlenmesi ve karakterize edilmesi amacıyla taramalı elektron mikroskopu (Scanning electron microscope-SEM) kullanılmıştır [17] SEM cihazı JSM 6480 LV-JEOL-SEM (Tokyo, Japonya) ile 5.0 kV ve x 150 büyüteci altında ve görüntüleme tablalarının üzerine daha önceden yapılandırılmış olan karbon bantlarına yerleştirilerek iletkenlik kazandırılması amacıyla altın-paladyum tabakası ile kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir [20].

Reolojik Ölçümler

Ultrases ile muamele edilmiş ve edilmemiş SYS numunelerinde reolojik ölçümler HR-2 (Discovery Series Hybrid HR-2, TA Instruments, New Castle, DE, ABD) reometre 40 mm paslanmaz çelik plate/plate geometri ölçüm sensörü ile 1 mm aralıkta ve ölçüm probu ile zemin arası numunenin kurumaması için parafin yağ (Mineral vaseline oil, PanReac AppliChem GmbH,

Darmstadt, Almanya) ile kaplanarak gerçekleştirilmiştir. Genlik tarama testi dinamik testler öncesinde (frekans taraması, sıcaklık taraması) öncesinde doğrusal bölge içinde kalan uygun gerilim değerinin saptanması, gerilim/gerilim oranının (modülüs) sabit kaldığı lineer viskoelastik doğrusal bölgenin (LVEB) belirlenmesi ve her veri noktası lineer viskoelastik dağılımın doğrulanmasında osilasyon verilerinin sinüs eğrileri lineer analiz yazılım programı yardımıyla yapılmıştır. Kayma hızı taraması (flow ramp) testi 25°C'de; düşük kayma hızından (0.01 s⁻¹) yüksek kayma hızına (100 s⁻¹) doğru 60 saniye boyunca gerçekleştirilmiştir. Daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere lineer viskoelastik bölgedeki en uygun % strain değerini bulmak için deformasyon taraması (oscillation amplitude) testi yapılmıştır. Test parametreleri olarak açılal frekans 20 rad/s ve sıcaklık 25°C olarak belirlenmiş ve % strain %0.01'den %100'e değişen değerlerde analiz gerçekleştirilmiştir [32]. Bu test sonucunda elde edilen lineer bölgedeki en uygun % strain daha sonraki analizlerde kullanılmış ve bu işlem her örnek için yeniden yapılmıştır. Frekans taraması (oscillation frequency) testi, frekans ise 0.01 ile 10 Hz. aralığında 25°C'de ve bir önceki analiz sonucu bulunan en uygun % strain değeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir [1, 26]. Ölçüm esnasında her bir SYS örneği yenilenerek 3 ölçüm gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık taraması (oscillation temperature ramp) testi 40°C'den 80°C'ye ısıtma hızı 5°C/dakika nispetine artırılarak, deformasyon taraması (oscillation amplitude) sonucu elde edilen %-strain değerinde ve açılal frekans 20 rad/s'de gerçekleştirilmiştir. Çalışmada G' (elastik veya stok modül-Pa), G'' (viskoz veya kayıp modül-Pa), faz açısı (δ), kompleks viskozite (η*), kıvam katsayısı ve akış davranış indeksi belirlenmiştir [2, 12, 16, 23, 33, 37].

İstatistiksel Analizler

Çalışmada farklı ultrases gücün kullanılarak muamele edilen SYS örneklerinde belirlenen reolojik kalite kriterleri üzerine etkileri varyans analizinden (ANOVA) yararlanılmıştır. İstatistiksel analizlerde SAS istatistik programı kullanılmıştır [24]. İstatistiksel farklılık p değerinin 0.05 veya daha küçük olmasına göre belirlenmiştir. Çalışma 2 paralel ve 2 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

SEM Analizi Sonuçları

Çalışma kapsamında Şekil 1(a)'da ultrases uygulanmayan kontrol grubu örneklerde lezyon oluşumu gözlenmemiştir. Ayrıca kontrol grubu SYS örneklerinde düzenli yapı ve oluşumlar tespit edilmiştir. Yumurta kabuğunda ultrases uygulamasında hücre yapılarında belirgin değişikliklerin gözlemlendiği ve hücre boyutlarının kısaldığı ifade edilmiş ve ultrases uygulanmayan örneklerin yüzeyinin da düz olduğu belirtilmiştir [20]. Çalışma ile Şekil 1(b)'de 100 W ultrases uygulanan örneklerde lezyon oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca 100 W ultrases uygulanan SYS örneklerinde düzensiz yapı ve oluşumlar belirlenmiştir. Bu durumun sonikasyon esnasında oluşan basınç ve meydana gelen kavitasyon

etkisinden ileri gelebileceği değerlendirilmektedir [13]. Özbakır [20] tarafından yapılan çalışmada kabuklu yumurtanın 3 dakika ultrases uygulama süresinde hücre yapılarında belirgin değişikliklerin gözlemlendiği ve hücre boyutlarının kısaldığı ifade edilmiş ve çalışmada yapılan ön denemelerde yumurta kabuğunda çatlak oluşumu gözlemlenmiştir. Özellikle 6 dk. uygulamasından sonra kabuktaki çatlak düzeyinin yoğunlaştığı ve kılcal-gizli çatlakların varlığı belirlenmiştir. Jia, ve ark. [13] tarafından yapılan çalışmada yumurta sarısı fosfolipidleri 200 W, 5 s., 400 W, 10 s ve 600 W, 15 s süreyle 20 kHz ultrases tabii tutulmuştur. Ultrasesin yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin degradasyonu açısından önemli olduğu tespit edilerek yumurta sarısından kolesterolün degradasyonu ile fosfolipidlerin ayrımında ve izolasyonunda tekniğin uygulama potansiyeli saptanmıştır. Ultrasesin toplam protein içeriği üzerinde önemli bir etkisi olmamakla birlikte ultrasonik işlem süresini artırarak granül için daha yüksek protein konsantrasyon değerleri ölçülmüştür. Ayrıca ultrases uygulamasında SYS numunelerinde granül-plazma fraksiyon bantlarının yoğunluğu ile granül fraksiyonlarının değişmediği, ancak granüllerden ayrılan plazma bantlarında ayırım gözlemlenmiştir. Bunların yoğunluğu 110 kDa'lık bantlardan oluştuğu ve sonikasyon işlem süresinin artışı ile moleküler ağırlığın artış kaydettiği belirtilmiştir. Granüller ultrases ile muamele edildiğinde, mikro yapı daha ince hale gelerek granüller arasındaki bağ derecesinde artış meydana gelmiştir [13]. Bu açıdan değerlendirildiğinde ultrases işleminin granüllerin bozulmasını etkilemek için kullanılabilirliği, ancak granülün folat konsantrasyonunda içeriğinde daha fazla değişiklik mümkün olmadığı görülmüştür. Çalışmada elde edilen bulgular literatür ile uyumlu olduğu tespit edilmiş, özellikle kavitasyon etkisine bağlı etkilerin çalışmada doğrudan gözlemlendiği görülmüştür.

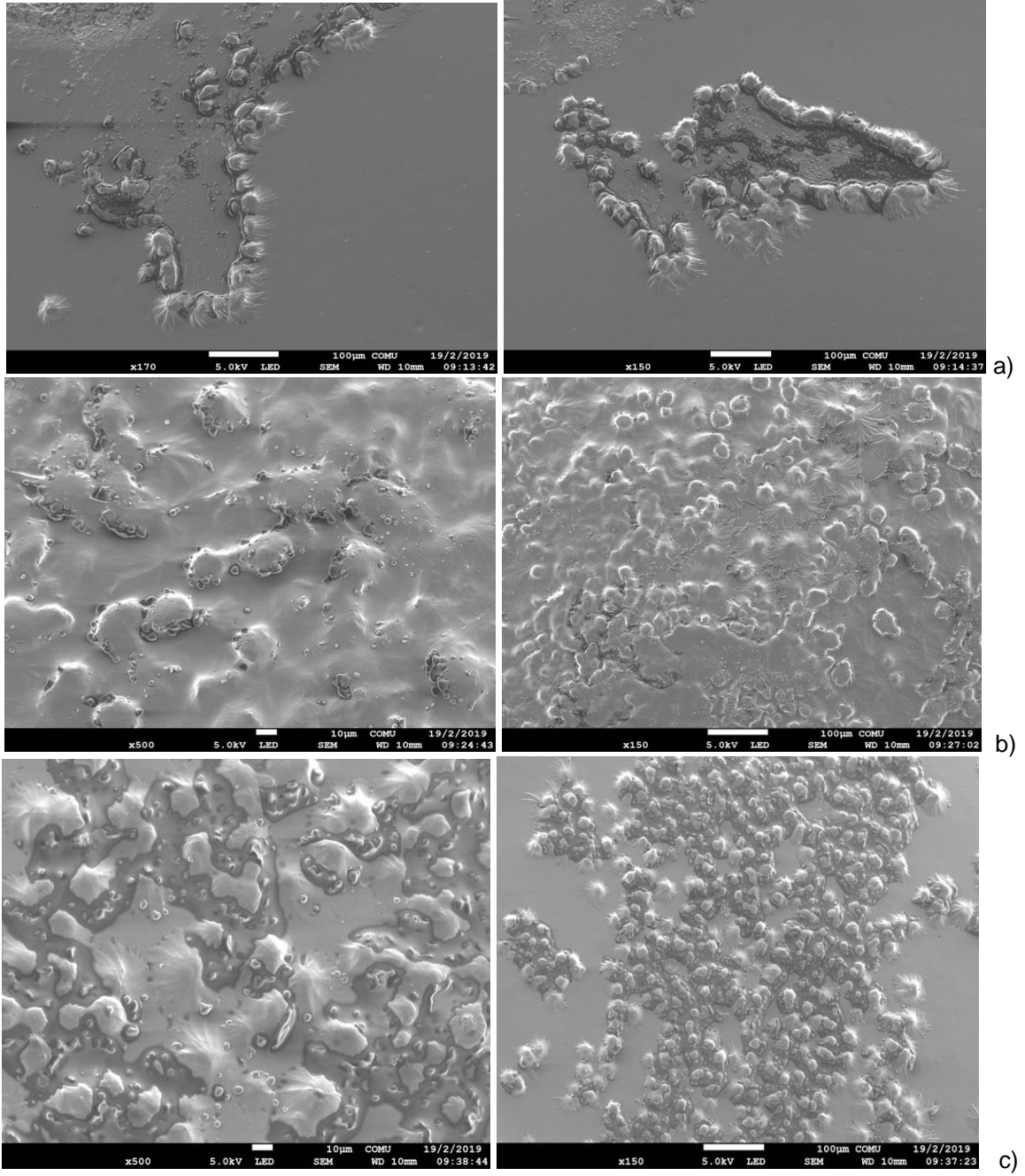
Çalışma kapsamında Şekil 1(c)'de 250 W ultrases uygulanan örneklerde yoğun lezyon oluşumu ve kısmi kristallenme başlangıcı gözlemlenmiştir. Sonikasyon esnasında oluşan basınç ve kavitasyon etkisinin lezyon oluşumları ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Özellikle denatürasyon ve yumurta sarısı serum proteininin degradasyonunun sonikasyon dalgaları ile ilişkilendirilmektedir. Ayrıca ultrasonik titreşimin neden olduğu mekanik etkiler ile asılı partiküllerin sıvı ortamdaki farklı hız ve yönlerde hareket etmesini sağlaması da meydana gelen lezyon oluşumunu açıklamaktadır. Sonikasyon gücünün yükselmesi ile, mikro-gaz içeren SYS ultrasonik dalgası ile ultrasonik aglomerasyonun etkileri arttırılmaktadır [13]. Yumurtada 3 dakika ultrases uygulamasında hücre yapılarında belirgin değişikliklerin gözlemlendiği ve hücre boyutlarının kısaldığı ifade edilmiştir [20]. SYS'nin fraksiyonları üzerinde Marcet ve ark. [15] tarafından yapılan çalışmada, artan sonikasyon süresi ile hazırlanan yumurta sarısı granül filmlerinin yapısal düzeninde

homojenlik gözlenmiş, bu durumun lipoprotein agregatlarının bozulmasından kaynaklanan, muhtemelen daha sıkı bir ağın oluşmasına ve dolayısıyla filmin mekanik özelliklerinde iyileşmeye etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu durum artan sonikasyon watt-güç değerinin sabit muamele süresinde yapısal düzensizliklere yol açmada daha etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Sıvı Yumurta Sarısı Reolojik Davranışı

Reolojik davranışlar değerlendirilerek sıvı yumurtanın ısısal işleme prosesinde kullanılan plakalı ısı eşanjörlerinin mühendislik hesaplamaları gerçekleştirilmektedir [11]. Bu amaçla kayma hızına karşı kayma gerilme eğrisinin matematiksel modellemesi hesaplanarak reolojik davranış karakterize edilmektedir [4]. Çalışmada SYS örneklerinin viskoelastik özellikleri lineer viskoelastik bölgede (LVEB) dinamik süpürme testi reometrede gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Sonrasında ise elastik ve viskoz modülüsün frekans (Şekil 4) ve sıcaklık (Şekil 5) ile değişimi gözlemlenmiştir.

Ultrases ile muamele edilen ve edilmeyen SYS numunelerinin viskoelastik özelliklerini tanımlayan veriler Tablo 1'de verilmiştir. Çalışmada SYS'nin reolojik davranışı incelenmiş ve farklı reolojik modeller uygulanarak testleri gerçekleştirilmiştir. Buna göre tüm numunelerin akış davranışı açısından korelasyon katsayılarının (R^2) Herschel-Bulkley ($\tau = \tau_0 + K(\dot{\gamma})^n$) modeline uygunluk sağladıkları belirlenmiştir (τ : kayma gerilimi, τ_0 : yıkılma-akma gerilimi-Pa, K: kıvam katsayısı-Pa.s, $\dot{\gamma}$: kayma oranı ve n akış davranış indeksini ifade etmektedir.). Tablo 1'de göre ultrases uygulaması SYS'nin n değerlerini arttırmıştır. Çalışma sonucunda, ultrases muamelesinin SYS'nin viskozitesini azalttığı (kontrol; 2.67 ± 0.03 'den 100 W için; 1.09 ± 0.02 'a) ancak artan sonikasyon gücü (250 W) ile viskozitenin 100 W uygulamasına göre arttığı (1.36 ± 0.02) saptanmıştır. Sonikasyon uygulamasının SYS'nin akış davranışını istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalttığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Ultrases uygulamasının yol açtığı viskozite değişiminin makro moleküllerin yapısında değişikliklere ilişkili olabileceği ifade edilmektedir [18]. Şekil 2'de ultrases ile muamele edilen ve edilmeyen tüm SYS örneklerinin viskozite değerlerinin kayma hızı ile değişimi ifade edilmiştir. Buna göre, kayma hızı ile viskozite değişiminin orantılı olduğu, ultrases güç değerinin 100 W'den 250 W değerine yükseltilmesi ile viskozitenin azaldığı, yapının yine Newton olmayan bir akış davranışı sergilediği gözlemlenmiştir. Depolama ile birlikte ultrases uygulanan örneklerin viskozite değerlerindeki kayıp kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum literatüre ile benzerlik göstermiştir [14].



Şekil 1. Ultrases ile; (a) muamele edilmeyen, (b) 100 W güçte muamele edilen ve (c) 250 W gücünde muamele edilen sıvı yumurta sarısının SEM görüntüsü

Tablo 1. Farklı uygulamaların sıvı yumurta sarısı viskozite değerleri üzerine etkisi

Uygulamalar	Viskozite (Pa.s)	n	R ²
Kontrol	2.67±0.03 ^a	0.54	0.99
100 W	1.09±0.02 ^c	0.97	0.99
250 W	1.36±0.02 ^b	0.94	0.99

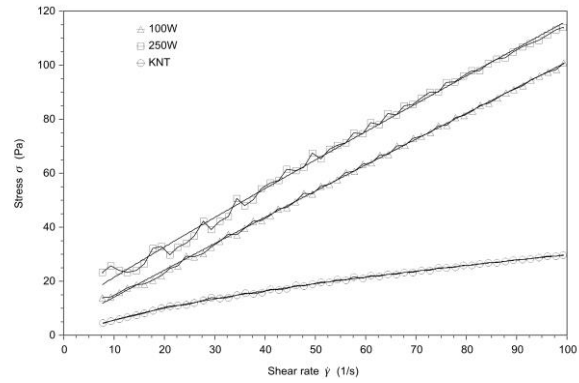
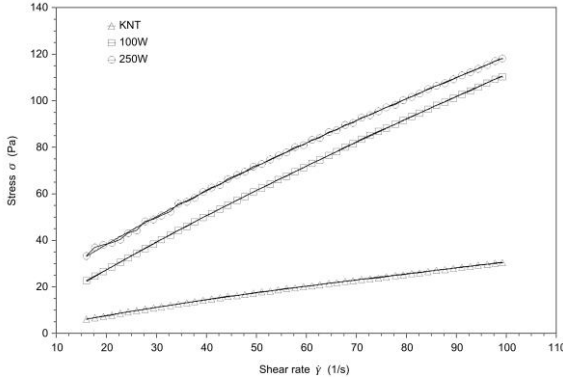
^{a-c} Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05)

Şekil 3'te ultrases ile muamele edilen/edilmeyen SYS örneklerinin viskoelastik davranışlarının değişimine yer verilmiştir. Buna göre çalışmada derinimin artışı ile elastik modülüsün (G') ve viskoz modülüsün (G'') arttığı belirlenmiştir. Ultrases uygulan ve uygulanmayan tüm

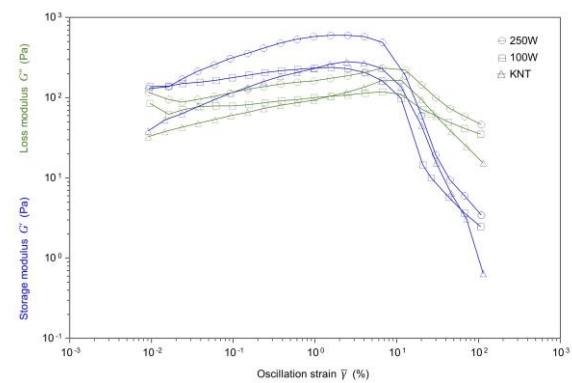
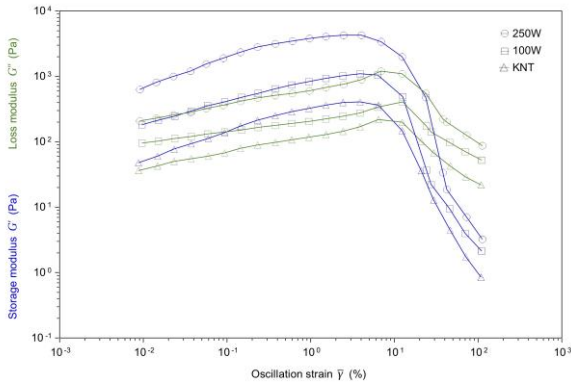
SYS örneklerinde elastik modülüsün viskoz modülüsten daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 3a ve 3b). Bu durum özellikle viskoelastik davranış gösteren sıvı yumurta örneklerinin sıvı-benzeri bir yapı sergilediği gözlenmiştir. Ancak en yüksek viskoz modülüs değeri

250 W uygulamasında tespit edilmiştir. Bu durum ultrases sonrası yumurta sarısı granüllerinde ve LDL'de

meydana gelen değişim ile izah edilebilmektedir [31].



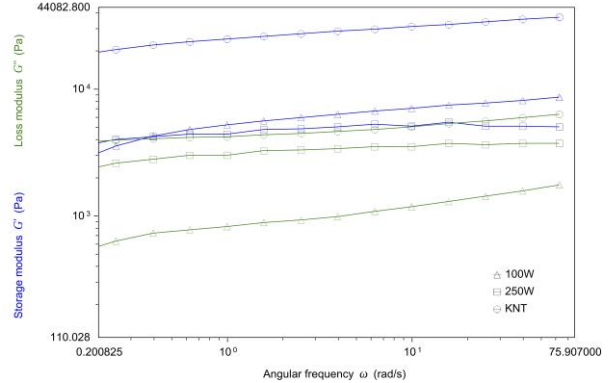
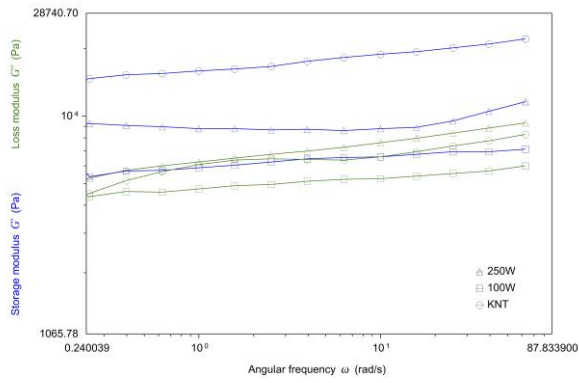
Şekil 2. Ultrases ile muamele edilen/edilmeyen sıvı yumurta sarısı örneklerinin viskozite değerlerinin a) 0. günde, b) depolamanın 17. gününde viskozite değerlerinin kayma hızı ile değişimi



Şekil 3. Ultrases ile muamele edilen/edilmeyen sıvı yumurta sarısı örneklerinin viskoelastik davranışlarının a) 0. günde ve b) depolamanın 17. gününde değişimi (KNT: kontrol)

Şekil 3(b)'de ultrases ile uygulanan (kontrol) ve uygulanmayan yumurta örneklerinin viskoelastik özelliklerinin depolama sonundaki (17. Gün) eğrileri verilmiştir. Buna göre çalışmada derinimin artışı ile

elastik modülüs (G') ve viskoz modülüs değerlerinin G'' arttığı belirlenmiştir. Ultrases uygulanmayan tüm SYS örneklerinde elastik modülüsün viskoz modülüstən daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



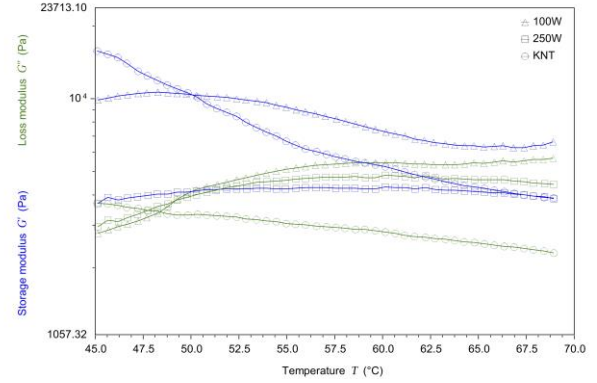
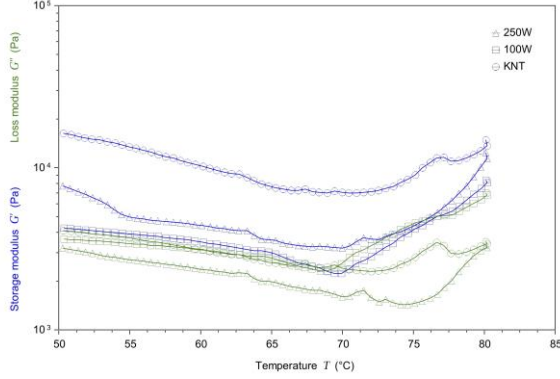
Şekil 4. Ultrases ile muamele edilen/edilmeyen sıvı yumurta sarısı örneklerinin a) 0. günde ve b) depolamanın 17. gününde viskoelastik davranışlarının frekansla değişimi

Şekil 4'te ultrases ile muamele edilen/edilmeyen SYS örneklerinin viskoelastik davranışlarının değişimine yer verilmiştir. Buna göre çalışmada frekans artışı ile elastik modülüsün ve viskoz modülüsün arttığı belirlenmiştir.

Çalışmada G' ve G'' 'nin 10 rad/s frekans değeri üzerinde kesiştiği ve bu frekans değerlerinde ise, sistemin yarı-sıvı benzeri bir davranış karakteri sergilediği ($G' > G''$) saptanmıştır. Ultrases uygulanmayan tüm SYS

örneklerinde elastik modülüsün viskoz modülüs değerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum özellikle viskoelastik davranış gösteren sıvı yumurta örneklerinin sıvı-benzeri bir yapı sergilediği gözlenmiştir. Ayrıca 100 W ve 250 W ile muamele edilen SYS numunelerinin G' ve G'' değerlerini diğer numunelere

göre önemli düzeyde değiştirdiği gözlenmiştir. Örnekler incelendiğinde düşük açılal frekans değerlerinde sıvı benzeri ($G'' > G'$) karakterde iken artan frekans değerinde ise elastik/katı benzeri ($G' > G''$) bir yapısal davranış belirlenmiştir.



Şekil 5. Ultrases ile muamele edilen/edilmeyen sıvı yumurta sarısı örneklerinin a) 0. günde ve b) depolamanın 17. gününde sıcaklıkla değişimi

Şekil 5'te ultrases ile muamele edilen/edilmeyen SYS örneklerinin viskoelastik davranışlarının sıcaklıkla değişimine yer verilmiştir. Buna göre çalışmada sıcaklık artışı ile elastik modülüsün ve viskoz modülüsün 70°C'ye kadar azaldığı sonrasında ise sıvı yumurtanın katılaşmaya ve jelleşme süreci ile arttığı belirlenmiştir. Bu durum viskoelastik davranış sergileyen örneklerde özellikle 75-80°C arasında SYS'nin katı/jel-benzeri bir yapı sergilediği saptanmıştır. Ultrases uygulanmayan tüm SYS örneklerinde elastik modülüsün depolama sonrasında (17. gün) en düşük düzeyde olduğu ve viskoz modülüsten daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

SONUÇLAR

Ultrases uygulanan SYS örneklerinde, uygulama koşulları (Watt gücü), yumurtanın yapısal ve reolojik özellikleri üzerinde etkisinin incelendiği çalışmada; ultrases 100 W uygulanması SYS'nin stabilizasyonunda 250 W uygulamasına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında frekans artışı ile elastik modülüsün ve viskoz modülüsün arttığı belirlenmiştir. Ultrases uygulanmayan tüm SYS örneklerinde G'' 'nin G' 'den daha düşük olduğu belirlenmiştir. Sonikasyon uygulaması ile viskoelastik davranış gösteren sıvı yumurta örneklerinin sıvı-jel benzeri bir yapı sergilediği gözlenmiş olup, 100 W ve 250 W ile muamele edilen SYS numunelerinin G' ve G'' değerlerini diğer numunelere göre önemli düzeyde değiştirdiği gözlenmiştir. Yapılan çalışma değerlendirildiğinde düşük açılal frekans değerlerinde SYS sıvı benzeri ($G'' < G'$) karakterde iken artan frekans değerinde de elastik/katı benzeri ($G' > G''$) bir yapısal davranış sergilemiştir. Bu açıdan özellikle proses tasarımı 100 W uygulamasının akış davranışı açısından, sistemdeki akustik kaviteasyon etkisinin minimize edilerek SYS ürünü üzerindeki deformasyon etkisinin azaltılması açısından önerilmektedir.

Çalışma sonucunda ultrases uygulamasının yumurtanın yapısal ve reolojik özellikleri üzerindeki hedeflenen etki karakterize edilirken uygulamanın SEM değerleri ile SYS üzerindeki lezyon ve deformasyon etkisi ile reolojik davranış üzerindeki viskoziteyi azaltma etkisi belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi (ÇOMÜ-BAP) tarafından FBD-2017-1232 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmanın ayrıca 'Sıvı Yumurtanın Ultrases Tekniğiyle İşlenmesi Yöntemi' başlık ve 2018/08369 numarası ile patent başvurusu yapılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Ahmed, J., Ramaswamy, H.S., Alli, I., Ngadi, M. (2003). Effect of high pressure on rheological characteristics of liquid egg. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 517-524.
- [2] Akay, G., Ertani, E. (2015). Gıda endüstrisinde nişasta analizlerine yönelik Anton Paar çözümleri. *Dünya Gıda*, <http://www.dunyaagida.com.tr/haber.php?nid=3553> Erişim Tarihi: 2018.
- [3] Arzeni, C., Pérez, O.E., Pilosof, M.R. (2011). Aggregation and gelation properties of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound, in *11th International Congress on Engineering and Food*, Athens, Greece, pp 1-6.
- [4] Aşık, H. (2019). Lipaz Enzimi ile Modifiye Edilen Sıvı Yumurta Akının Reolojik Karakterizasyonu ve Üretilen Bezenin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çanakkale.

- [5] Cabeza, M.C., Garcia, M.L., De La Hoz, L., Cambero, I., Ordóñez, J.A. (2005). Thermoultrasonication eliminates Salmonellae from intact eggshells without changing the functional properties of their components. *Journal of Food Science*, 70, 292-295.
- [6] Caner, C., Yüceer, M. (2015). Maintaining functional properties of shell eggs by ultrasound treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95, 2880-2891.
- [7] Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835.
- [8] Dolatowski, Z.J., Stadink, J., Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6, 89-99.
- [9] Gallo, M., Ferrara, L., Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods*, 7.
- [10] Gharbi, N., Labbafi, M. (2018). Effect of processing on aggregation mechanism of egg white proteins. *Food Chemistry*, 252, 126-133.
- [11] Hamid-Samimi, M.H., Swartzel, K.R. (1985). Pasteurization design criteria for production of extended shelf-life refrigerated liquid whole egg. *Journal of Food Processing and Preservation*, 8, 219-224.
- [12] İbanoğlu, E., Alben, E. (2007). Protein-Hidrokoloid Sistemlerinde Fonksiyonel ve Reolojik Özellikler, TÜBİTAK TOVAG Proje No: 105O123, Tübitak, Ankara.
- [13] Jia, Y., Cao, X., Liu, H. (2014). Isolation of phospholipid from egg yolk with ultrasonic separation technology. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 6, 350-353.
- [14] Kumbár, V., Nedomová, Š., Strnková, J., Buchar, J. (2015). Effect of egg storage duration on the rheology of liquid egg products. *Journal of Food Engineering*, 156, 45-54.
- [15] Marcet, I., Álvarez, C., Paredes, B., Rendueles, M., Díaz, M. (2017). Transparent and edible films from ultrasound-treated egg yolk granules. *Food Bioprocess Technology*, 11, 735-747.
- [16] Marcet, I., Collado, S., Paredes, B., Díaz, M. (2016). Rheological and Textural properties in a bakery product as a function of the proportions of the egg yolk fractions: discussion and modelling. *Food Hydrocolloids*, 54, 119-129.
- [17] Mosaddegh, E., Hassankhani, A. (2014). Preparation and characterization of nano-CaO based on eggshell waste: Novel and green catalytic approach to highly efficient synthesis of pyrano[4,3-b]pyrans. *Chinese Journal of Catalysis*, 35, 351-356.
- [18] Naderi, N. (2015). Development of A Fractionation Process for The Preparation of A Folate-Enriched Protein Extract from Hen Egg Yolks, Ed. Universita Laval, Italy.
- [19] Naderi, N., House, J.D., Pouliot, Y. (2016). Effect of selected pre-treatments on folate recovery of granule suspensions prepared from hen egg yolk. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 341-348.
- [20] Özbakır, S. (2015). Yumurta Yüzeyinin Dezenfeksiyonunda Ozon ve Ultrasonikasyon Teknolojilerinin Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bolu.
- [21] Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 207-216.
- [22] Rastogi, N.K. (2011). Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 705-722.
- [23] Ruth, C., Veldea, J.V., Mathuesa, W., Liedekerkeb, P.V., Moldenaersa, P. (2013). A rheological characterisation of liquid egg albumen, in *InsideFood Symposium*, Ed, Leuven, Belgium, pp 1-6.
- [24] SAS, (2003). SAS User Guide Version 9.1.3. Statistical Analysis Systems Institute. Cary, NC, USA, Ed.
- [25] Soria, A.C., Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 323-331.
- [26] Spencer, J.E. Scanlon, M.G., Page, J.H. (2008). Drainage and Coarsening Effects on the Time-Dependent Rheology of Whole Egg and Egg White Foams and Batters, in *Bubbles in Food 2*, ed. by Campbell GMScanlon MG, Pyle DL. AACC International Press, St Paul, MN, USA, pp 117-129.
- [27] Stefanovic, A.B., Jovanovic, J.R., Dojcinovic, M.B., Levic, S.M., Nedovic, V.A., Bugarski, B.M., Knezevic-Jugovic Z.D. (2017). Effect of the controlled high-intensity ultrasound on improving functionality and structural changes of egg white proteins. *Food Bioprocess Technology*, 10, 1224-1239.
- [28] Sun, Y., Yang, H., Zhong, X., Zhang, L., Wang, W. (2011). Ultrasonic-assisted enzymatic degradation of cholesterol in egg yolk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12, 505-508.
- [29] Vilku, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - a review. *Inv Food Sci & Emerg Tech* 9:161-169.
- [30] Wen-jing, W., Bei-hai, Z., Wei-wei, L., Xiang-rong, C., Guang-hui, M., Yin-hua, W. (2007). Pretreatment of Chicken Egg White by Ultrasonic Wave Homogenization and Glucose Oxidase Desugarization. *Chinese Journal of Process Engineering*, 7, 579-583.
- [31] Xie, Y., Wang, J., Wang, Y., Wu, D., Liang, D., Ye, H., Cai, Z., Ma, M., Geng, F. (2020). Effects of high-intensity ultrasonic (HIU) treatment on the functional properties and assemblage structure of egg yolk. *Ultrason Sonochem* 60, 104767.
- [32] Yuceer, M. (2020). Structural and rheological characterization of liquid egg white modified with phospholipase A2 enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14450.
- [33] Yüceer, M. (2007). Kolesterolü Azaltılmış Yumurta Sarısı Üretimi ve Düşük Kolesterolü Mayonez Üretiminde Kullanımı. İstanbul Teknik Üniversitesi,

- Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
- [34] Yüceer, M., (2018). Sıvı Yumurtada ultrases tekniği kullanımının ürünün bazı fiziksel ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisi. *Gıda*, 43, 1019-1029.
- [35] Yüceer, M. (2019). Effect of Ultrasound Processing on the Physico-Functional Characteristics of Liquid Egg Yolk. In *XVIII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*, Çeşme, İzmir, Turkey.
- [36] Yüceer, M. (2019). Yumurta ve Yumurta Ürünleri İşleme Teknolojisi ve Uygulamaları. Sidas Medya Ltd.Şti., Çankaya, İzmir.
- [37] Yüceer, M., Temizkan, R., Aldemir, H., Caner, C. (2015). Enzim Modifiye Sıvı Yumurta Akının Reolojik Karakterizasyonu - Enzyme Modified Liquid Egg White Rheological Characterization, in 6 *Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni kongresi*, Ed by Sancak PDYC. (Sözlü Sunum), Van.
- [38] Yüceer, M., Temizkan, R., Caner, C. (2012). Fonksiyonel gıda olarak yumurta: bileşenleri ve fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 10, 70-76.
-
-

Safety of Polycarbonate Water Carboys for Residual and Migration Levels of Bisphenol-A

Özlem Kızılırmak Esmer¹  ✉ * Özlem Çağındı² ¹Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department 35100 Bornova, İzmir, Turkey²Manisa Celal Bayar University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, Muradiye, Manisa, Turkey

Received (Geliş Tarihi): 16.12.2020, Accepted (Kabul Tarihi): 30.12.2020

✉ Corresponding author (Yazışmalardan Sorumlu Yazar): ozlem.kizilirmak@ege.edu.tr (Ö. Kızılırmak Esmer)

☎ +90 232 311 30 10 📠 +90 248 213 30 99

ABSTRACT

Polycarbonate (PC) materials are widely used for the packaging of drinkable water. The use of PC materials as food packaging raises some concerns for the migration of Bisphenol A (BPA), which is the monomer of PC. Therefore, in this research, it was aimed to determine the quality of new and old (life time ended) PC water carboys in terms of residual BPA and BPA migration levels with respect to storage conditions. For this purpose, BPA migration was determined by storing at three different temperatures (5, 20 and 40°C) for seven different storage times (1., 5., 10., 20., 30., 45. and 60 days.) Residual and migrated BPA levels were determined by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector. As a result, PC water carboys contained low levels of residual of BPA, and lower or higher residual BPA levels were detected in old materials compared to new materials. The BPA migration level increased by temperature and time, and storage under sunlight increased the level of BPA migration. BPA migration levels under all storage conditions were below the specific migration limit for BPA. In order to reach the tolerable daily intake of BPA even under the worst storage condition of PC water carboys, daily water consumption was calculated as 16 liters for a person with a body weight of 60 kg. On the other hand, this daily water consumption might not be rational for a person. Therefore, it was concluded that PC water carboys possessed no risk in terms of BPA migration levels under the conditions studied.

Keywords: Bisphenol A (BPA), PC water carboys, migration of BPA, residual BPA

Bisfenol-A Kalıntı ve Migrasyon Seviyeleri için Polikarbonat Su Damacanelerinin Güvenliği

ÖZ

Polikarbonat (PC) malzemeler, sahip olduğu özellikleri itibarıyla içme sularının ambalajlanmasında oldukça yaygın olarak kullanılan malzemelerdir. PC malzeme; monomeri olan Bisfenol-A (BPA)'dan dolayı gıda ambalajı olarak kullanımına dair BPA migrasyonu açısından bazı endişeler yaratmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada yeni (hiç kullanılmamış) ve eski (kullanım ömrünü tamamlamış) PC su damacanelerinin kalıntı BPA miktarları açısından kalitelerinin değerlendirilmesi; depolama sıcaklığı ve depolama süresinin BPA migrasyonu üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. BPA kalıntı analizi ve BPA migrasyon analizi Floresans Dedektörlü Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, üç farklı temas sıcaklığı (5, 20 ve 40°C) ve yedi farklı depolama süresinde (1., 5., 10., 20., 30., 45. ve 60. gün) depolama yapılarak BPA migrasyon miktarları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda PC damacana örneklerinin BPA kalıntı miktarlarının düşük olduğu ve damacanelerin eski olması durumunda yeni damacanelara göre daha düşük ya da daha yüksek kalıntı BPA miktarlarına sahip olabileceği tespit edilmiştir. BPA migrasyon miktarlarının ise sıcaklığa ve süreye bağlı olarak artış gösterdiği ve damacaneleri güneş ışığı altında depolamanın BPA migrasyon miktarlarını artırdığı tespit edilmiştir. Tüm depolama koşullarında tespit edilen BPA migrasyon miktarlarının, BPA için belirtilen spesifik migrasyon limitinin oldukça altında olduğu belirlenmiştir. 60 kilogram ağırlığındaki bir kişinin BPA'nın tolere edilebilir günlük alım miktarına (4 mikrogram/ 60kg vücut ağırlığı-gün) ulaşmak

için, en kötü depolama koşulunda (40°C/60 gün) bir günde 16 litre su tüketmesi gerektiği hesaplanmıştır. Ancak günlük koşullar dikkate alındığında bu miktarda su içilmesi olası değildir. Bu nedenlerle, gerçekleştirilen bu çalışma sonucunda, belirtilen koşullar altında kullanıldığında polikarbonat su damacanelerinin BPA migrasyonu açısından bir risk teşkil etmediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A (BPA), Polikarbonat su damaneleri, BPA migrasyonu, kalıntı BPA

INTRODUCTION

Polycarbonate (PC) has an important place among plastics due to its numerous advantageous characteristics such as excellent transparency, impermeability, high thermal stability, and mechanical strength and, therefore, it has a rather broad usage area. PC, which is used commonly in the production of materials contacting foods, especially 5-gallon water bottles and tableware. The key building block of PC is bisphenol A (BPA; 2,2'-bis(4-hydroxyphenyl)propane [1] and BPA may be found as a residue in the materials. Recent studies have brought up that BPA threatens public health by migrating from polycarbonate materials to food products. It is known that BPA migration occurs from PC materials and consumers may be exposed to BPA significantly in their daily diets [1; 2; 3; 4; 5]. Although there are many studies about the negative effects of BPA on health and some concerns expressed in this regard, EFSA CEF Panel concluded that there is no health concern for any age group from dietary exposure and low health concern from aggregated exposure [6]. Indeed, due to the possible negative effects of BPA on health, the use of this monomer in the production of PC materials used for infants and its use as an additive in the plastic materials coming into contact with foodstuffs have been prohibited with the Commission Regulation No 10/2011 [7].

The amount of migrated BPA from PC materials may increase due to PC degradation especially at high temperatures and in contact with water [8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19] or owing to the impact of environmental conditions or the repetitive processes such as washing, sterilization in the PC materials reused for a long time [1; 10; 20; 21; 22; 23]. As a result, a higher amount of BPA migration may occur compared to the initial amount of residual BPA [12; 20]. In 5-gallon PC water bottles used to store potable water, water can be kept under ambient conditions for a long time and at high temperatures depending on the seasonal conditions. Also, as 5-gallon PC water bottles are reusable materials, they are exposed to the washing process many times. The number of the studies in relation to the BPA migration from the reused food packaging materials is quite limited and no study focusing on the amount of residual BPA in the 5-gallon PC water bottles have been found so far.

This study aimed to determine (i) the amounts of the residual BPA in the 5-gallon PC water bottles provided by several companies in Turkey, (ii) whether the usage period for the end of life samples affected the amount of residual BPA, (iii) whether there was a statistically significant difference between the BPA levels of the upper, the main body, and the bottom parts of the 5-

gallon PC water bottles, and (iv) the effect of the storage temperature, storage period and storage under sunlight on the level of BPA migration.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The samples for analysis were provided by five different 5-gallon PC water bottle production companies. The samples for residual analysis coded with N and O meaning new (not used before) and old (life time ended) respectively. The sample having the highest residual BPA concentration was used for the migration analysis.

BPA (Pubchem CID:6623) standard (99% purity) was purchased from Aldrich Chemical Co. (St.Louis, MO). Water, used as a chromatographic solvent, was used for the preparation of the simulant for the migration tests, and additionally for the preparation of BPA standard solutions. It was purified by using a Zener Power 1 (Human Corporation, Seoul-Korea) before the analysis.

The PC water bottle samples were contacted with natural spring water supplied in glass jars from a natural spring water company for the migration.

Methods

Identification of the Material of Water Bottle with FT-IR

The 5-gallon water bottle samples were subjected to infrared analysis to confirm that the material was polycarbonate. Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR) measurements were carried out by using a Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer (Bucks, UK).

Residual BPA Analysis Method

The residual BPA analysis was conducted according to the procedure performed by Kızılırmak Esmer et al. [20] to determine the total amount of BPA residue in 5-gallon PC water bottles. One gram of polymer taken from the PC water carboy sample by cutting was immersed to 20 mL of dichloromethane in a beaker and placed in an ultrasonic water bath at 20 °C until completely dissolved. The dissolved polymer was titrated with 50 mL of methanol and the precipitate was allowed to rest for 10 min. The supernatant was removed and filtered via 0.22 µm polytetrafluoroethylene (PTFE) filter and the residual BPA was determined using the High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (HPLC-FLD) procedure described below. All the experiments

were conducted in triplicate runs each with two repetitions.

The validation of the BPA analysis method was carried out in terms of, the limit of detection (LOD), the limit of quantitation (LOQ), the linearity and the repeatability (Rec).

BPA Migration Analysis Method

The migration analysis was performed according to the method of Kızılırmak Esmer et al. [20], after the 5 - gallon PC water bottles were subjected to the migration test conditions given in the experimental design. The 5 - gallon PC water bottle parts were taken as each part will be as 24 cm² of surface area and each part was immersed in 100 ml of natural spring water in a glass jar in order to ensure the ratio of the surface area to the volume of the water bottle as in the real-use conditions. The surfaces of the samples were carefully cleaned with the paper towels before the analysis. At the end of the contact period, the samples were carefully removed so that the solution on their surface was completely transferred into the jar, and the simulant was filtered through the 0.22 µm PTFE filter, transferred into the vial and the BPA level was determined. Since there is two-sided contact in the immersion method, and the surface area of the sample in contact with the simulant during the migration test was increased by twofold, the migration results were divided by two. However, in real contact-conditions the migration occurs in one-way. Therefore, the calculated migration results for some contact conditions were below the LOD value of the method. All the experiments were conducted in triplicate runs each with two repetitions.

Experimental Design for Migration Analysis

Migration of BPA from the 5-gallon PC water bottles was investigated at three contact temperatures of 5±1°C (D5), 20 ±1°C (D20) and 40±1°C (D40) at dark conditions and

one contact temperature of 20±1 °C (L20) under sunlight filtered through the window for eight storage periods of 1st, 5th, 10th, 30th, 45th and 60th days. The samples under sunlight were put near the window at which room temperature was kept steadily at 20±1°C by the air conditioner. The experimental design for migration analysis was set in triplicate runs with two repetitions for each period.

Chromatographic Parameters

The quantitative determination of BPA in the samples was achieved by using Agilent 1200 Series HPLC system (Santa Clara, United States) with fluorescent detection at Ex: 285 nm and at Em:315 nm and autosampler system. A 5 µm Zorbax Eclipse XDB C18 (150mm ×4.6mm i.d.) was used. Mobile phase was methanol/water (70:30, v/v) in isocratic elution at 0.4 mL/min at 25°C, and the injection volume was 10 µL for all the solutions.

Statistical Analysis

The data of residual content of BPA were statistically analyzed and presented as the mean ± standard deviation (SD). The coefficient of determination (R²) was determined by regression/ correlation analysis in the SPSS software [24]. Statistical significance was performed using one-way ANOVA and Duncan's multiple range tests (p<0.05).

RESULTS and DISCUSSION

Identification of the Material of Water Bottle with FT-IR

The FTIR spectrum of PC water carboys was shown in Figure 1. The characteristic absorption peaks of Bisphenol-A based Polycarbonate are suitable with the results of Hacıoğlu [40] and Parshin et al., [41] which shows the material is PC.

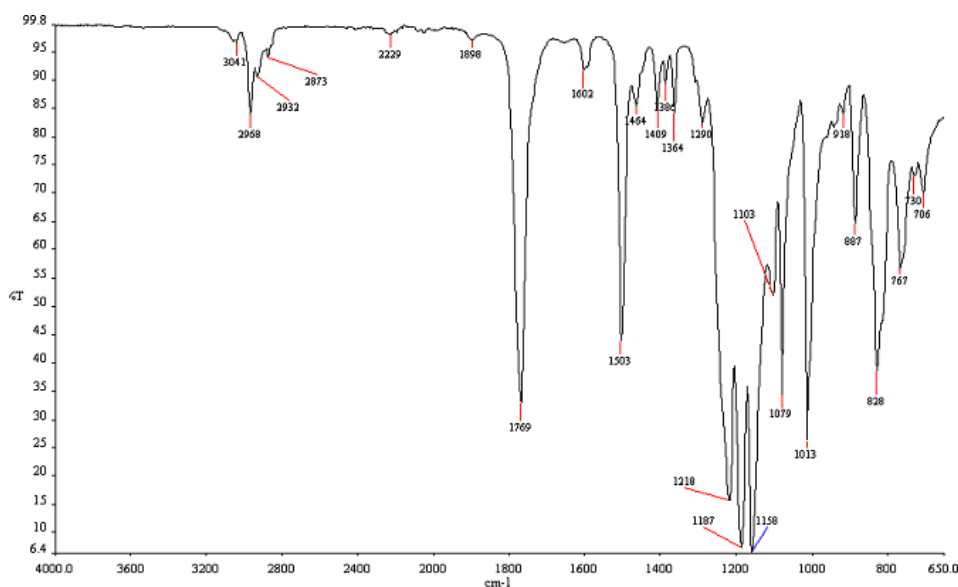


Figure 1. FTIR spectrum of a PC water carboy sample

Method Validation Results

Residual BPA Analysis

It was determined that the limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ) were 6.39 ppb and 9.30 ppb respectively and the recovery was 84.2%. Calibration curves were obtained by measuring the standard solutions at five levels in the range of 200-2000 ppb with three replicates per concentration. It was found that the coefficient of determination (R^2) is greater than 0.99 in linear regression analysis performed by using the analyte peak area vs. analyte concentration.

BPA Migration Analysis

It was determined that the LOD and the LOQ were 1.14 ppb, and 1.48 ppb respectively and the recovery was %103. The recovery analysis was carried out by contacting the PC water bottle samples with both solution A and solution B for 40°C/10 days and then the migration amounts were calculated. In this analysis, solution A was composed of natural spring water spiked with BPA standard to attain 20 ppb of BPA concentration, whereas

solution B was just natural spring water. The % recovery was calculated by using the equation of;

% Recovery: $(M_A - M_B) / 20 * 100$
 M_A : BPA amount in solution A (ppb)
 M_B : BPA amount in solution B (ppb)

Calibration curves were obtained by measuring standard solutions at five levels in the range of 0-30 ppb with three replicates per concentration. It was found that the coefficient of determination (R^2) is greater than 0.99 in linear regression analysis performed by using the analyte peak area vs. analyte concentration.

Residual BPA Amount

As depicted in Table 1, it was found that the highest amount of residual BPA in the samples was 3.50 ± 0.14 ppm, the lowest amount of residual BPA was 0.71 ± 0.13 ppm. The amounts of residual BPA in total 30 water carboys samples including 5 new ones and 5 old ones from three different parts were over 2 ppm only in 8 samples and between 1-2 ppm in 18 samples, below 1 ppm in 4 samples. The amount of residual BPA was over 2 ppm in all of the samples of the trademark no 2.

Table 1. Residual BPA amounts in the PC water carboys

Sample Code	Age	Residual BPA amounts for different parts of water bottles (ppm)*			Average BPA amounts (ppm)
		Upper part	Medium part	Lower part	
1	New	1.66±0.00Aa	1.86±0.03Ba	1.45±0.09Ca	1.66±0.04a
1	Old	1.12±0.17Aa	0.95±0.008Ab	1.00±0.20Aa	1.02±0.13b
2	New	2.50±0.05Aa	3.02±0.30Aa	2.55±0.25Aa	2.69±0.20a
2	Old	3.50±0.14Ab	3.29±0.16Aa	2.23±0.31Ba	3.00±0.20a
3	New	2.03±0.06Aa	1.77±0.05Ba	1.72±0.04Ba	1.84±0.05a
3	Old	0.96±0.10Ab	1.21±0.20Aa	1.18±0.00Ab	1.12±0.10b
4	New	1.72±0.05Aa	1.37±0.11Aa	1.44±0.13Aa	1.51±0.10a
4	Old	2.57±0.14Ab	1.73±0.13Ba	1.03±0.20Ba	1.78±0.16a
5	New	1.58±0.13Aa	0.71±0.13Ba	0.99±0.04Ba	1.09±0.10a
5	Old	1.26±0.00Ba	1.77±0.14Ab	1.13±0.12Ba	1.39±0.09a

*: Means with different capital letters show significant differences in the same line ($p \leq 0.05$). Means with different lowercase letters show significant differences between new and old samples of the same coded samples ($p \leq 0.05$).

In order to determine whether several parts of PC water carboys were statistically different in terms of the amounts of residual BPA, the amounts of the residual BPA between the same samples were assessed by applying one-way analysis of variance and Duncan's test. The difference was statistically significant in 6 samples ($p \leq 0.05$) whereas the difference was not statistically important for the other 4 samples as shown in Table 1. Several studies have indicated that PC materials may be degraded especially due to the effect of different ambient conditions such as high temperature, alkaline environment, sunlight or different repeating processes such as washing with detergent solution, sterilization, and there may be an increase in the amounts of residual BPA in the material or amounts of BPA migration to the food [1; 10; 12; 20; 21; 22; 23; 25]. In our study, as shown in Table 1, the residual BPA amounts of old (life time ended) PC water carboys were higher than that of the new (not used before) samples in three of the five samples and one of these differences was statistically important ($p \leq 0.05$). For the other two samples the residual BPA amount of old

samples were lower than that of the new samples and both of these differences were significantly important ($p \leq 0.05$). Although the higher BPA residual amounts were expected in all of the old samples since exposure to the environmental and usage conditions, the residual BPA amounts of old samples may be lower than the new ones. This may be due to that, even if the material degrades depending on the conditions of use, the increase in residual BPA amount can not be detected since it may migrate to the water contacted during the next usage period since these materials are reusable. Indeed, in a study, it was determined that there was no significant difference between the brand-new PC water bottles and the PC water bottles used (1-9 year) by consumers at home under ordinary usage conditions in terms of BPA migration and they stated that consumers washed PC water bottles with hot water at 50°C at home and, therefore, this process did not affect PC material in terms of the amount of residual BPA [3]. As a result of the literature review about the residual BPA amounts of PC materials, the amounts of residual BPA in the PC

materials used for the different purposes may vary from 5-10 ppb to 599 ppm as seen in Table 2 and it was remarkable that the results were generally at ppm-level

For this reason, it is considered that the amounts of residual BPA of the samples of PC water carboys produced in Turkey were at a low level.

Table 2. Residual BPA amounts of different PC materials in previous studies

PC material	Residual BPA amounts	Reference
Baby bottle	0.60-6.23 ppm	[20]
Plate	8-13 ppm	
Glass	7-10 ppm	
DVD	80 ppm	[12]
Baby bottle	5-40 ppm	
Bowl	15 ppm	
Baby bottle	16.2-17.6 ppb	[13]
Water galloy	2.5-70 ppm	
Bottle	2.1-25 ppm	
Film	4-5 ppm	
Plate	2.5-9.0 ppm	[27]
Bar	9.0-9.3 ppm	
Disc	10-15 ppm	
Baby bottle	1.4-35.3 ppm	[36]
Baby bottle	6-25 ppb	[22]
Baby bottle	<1 ppm-500 ppm	[28]
Baby bottle	4.01-141 ppm	[37]
Food stock box from PC waste	347 ppm	[38]
Ricebowl	379 ppm	
Mug	599 ppm	
Soup cup	596	[8]
Dish	431	
Baby bottle	<1 ppm-20 ppm	
Baby bottle	7-58 ppm	[11]
Baby bottle	4-139 ppm	[39]

BPA Migration Analysis Results

A typical BPA chromatogram is shown in Figure 2. BPA migration results for different contact conditions are demonstrated in Figure 3. Also, Table 3 shows the statistical comparison of the results. According to these results, the BPA migration increased with the contact period and the contact temperature and these increases were statistically important ($p < 0.05$). Based on the migration theory, the concentration of the migrating compound is directly proportional to the square root of the contact time [18; 19; 26]. As the contact period increases the migration amount of a substance will increase, too. Moreover the migration of substances is accelerated by heat. So the migration will occur faster if the temperature is raised. Our results were in accordance with this correlation. As depicted in Figure 4, it was observed that the increase of BPA migration with square root of time was exponential based on D20, D40, and L20 contact conditions. The findings of this research are in agreement with the literature. In a study conducted to determine the BPA migration from PC materials contact with water at 40°C, 60°C and 80°C in different periods up to 360 hours, it was determined that with increasing the contact temperature, the migrated amount of BPA and the rate of the migration increased with contact period [27].

When we examined the BPA migration values, there was no BPA migration at a detectable level at 5°C of contact temperature during the entire storage period. At 40°C of contact conditions, the maximum BPA migration was 14.91±0.58 ppb at the end of the storage period of 60 days. To determine the effect of sunlight, the samples

were stored under dark and sunlight conditions at 20°C of contact conditions. The BPA migration statistically changed according to the availability of sunlight ($p \leq 0.05$). It increased the BPA migration to exposure to sunlight and at the end of storage period of 60 days at 20°C under sunlight, the maximum BPA migration was 12.91±0.55 ppb whereas the maximum BPA migration was 9.93±0.65 ppb for the same contact conditions in dark. And these differences were statistically important ($p \leq 0.05$). As stated by some researchers, this situation might have occurred due to the fact that polymeric material may be degraded when PC materials were exposed to the external environmental conditions such as sunlight [12; 28-30]. As a result of the degradation of the material, there was an increase in the amount of the residual BPA, and this situation may lead to a rise in the amount of the BPA migration level. In a study, the researchers analyzed the BPA migration from new PC water bottles to water at room temperature (22°C) under the 1, 3, 5 and 7 days contact conditions. They found that the BPA migration values were 0.08-0.36 ppb at the end of the 1st day and 0.73-1.33 ppb at the end of the 7th day [3]. Similar results were obtained in the present study as a result of the storage at room temperature. Indeed, in the study conducted by [31], to determine the migration of BPA under severe conditions of contact temperature of 70°C, they found that the amount of BPA migration was in the range of 32-54.7 ppb at the end of the first day in PC baby bottle of three trademarks and the reusable PC water bottle of two trademarks in contact with water at 70°C and the amount of BPA migration increased in time and it reached to 228-528 ppb range on the 6th day.

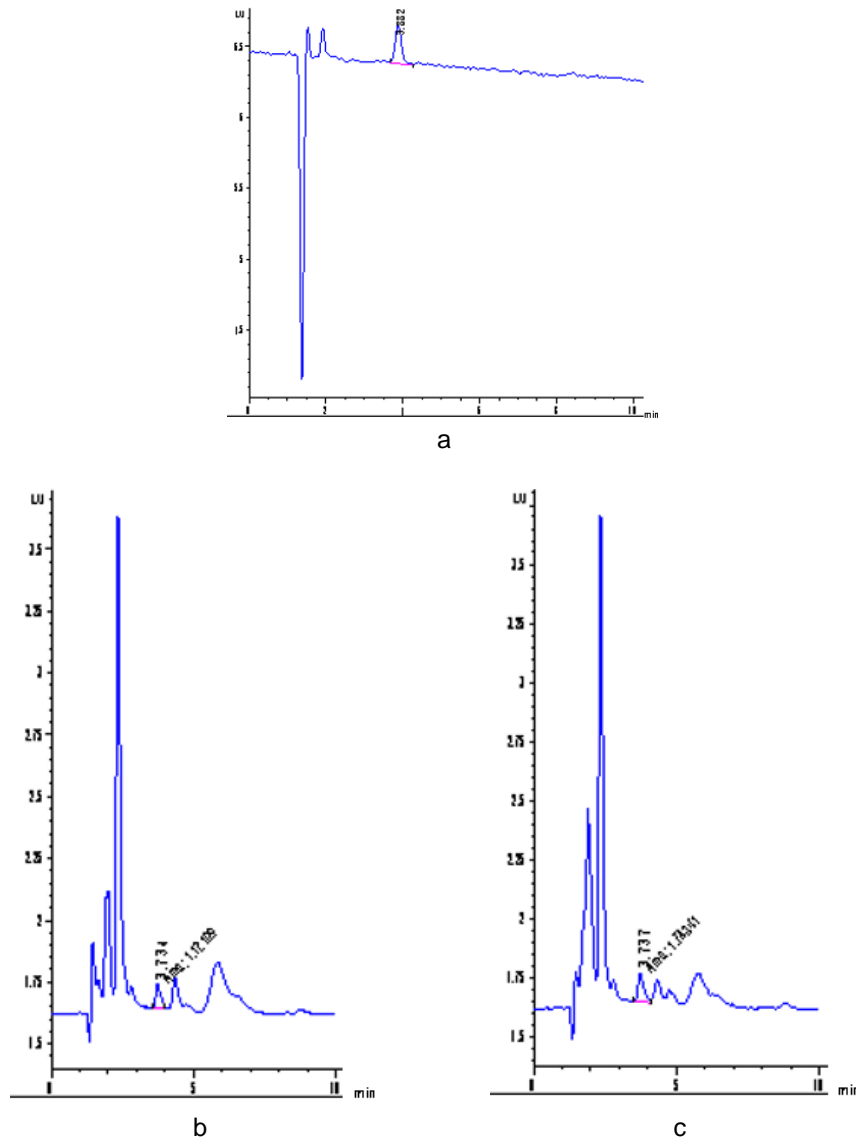


Figure 2. BPA chromatograms a) of 10 ppb of BPA standard b) at contact conditions of 20°C/45 days c) of the sample spiked with 20 ppb BPA

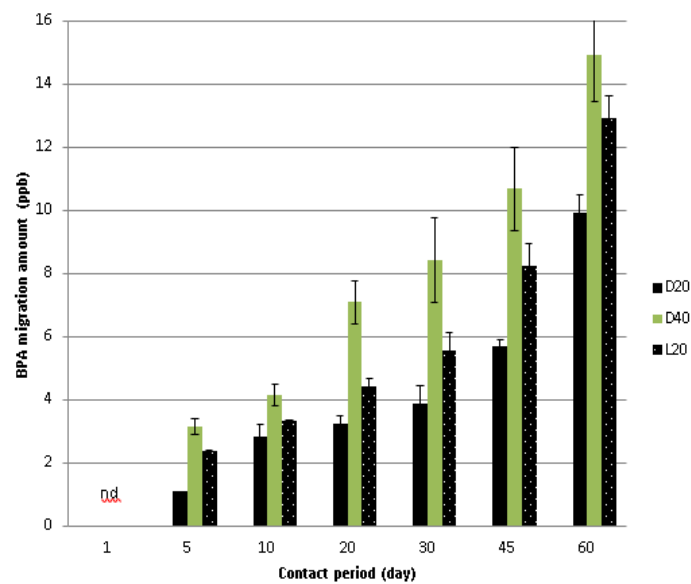


Figure 3. BPA migration amounts at different contact temperature and contact periods.

Table 3. BPA migration amounts from water galloy samples into the water under different contact conditions

Contact period	Amount of BPA migration (ppb)			
	D5	D20	D40	L20
1 st day	Nd	Nd	Nd	nd
5 th day	Nd	1.09±0.54Aa	3.14±0.47Ac	2.38±0.38Ab
10 th day	Nd	2.80±0.34Ba	4.14±0.53Bb	3.33±0.56Ba
20 th day	Nd	3.22±0.56Ba	7.08±0.48Cb	4.40±0.79BCa
30 th day	Nd	3.86±0.74Ba	8.43±0.38Cc	5.57±0.63Cb
45 th day	Nd	5.67±0.92 Ca	10.18±0.74Dc	8.22±0.32Db
60 th day	Nd	9.93±0.65 Da	14.91±0.58Eb	12.91±0.55Eb

*: Means with different capital letters show significant differences in the same column (p≤0.05). Means with different lowercase letters show significant differences in the same line (p≤0.05).

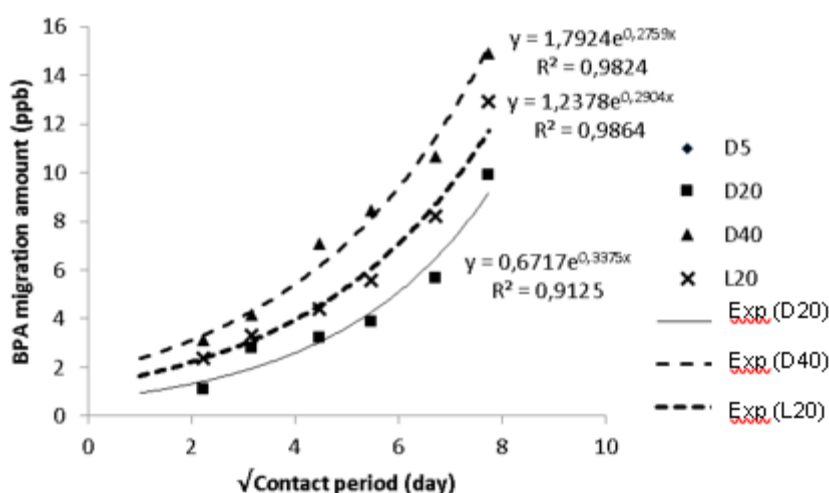


Figure 4. The change in migration of BPA with square root of time at different temperatures

In general, it was remarkable that the determined BPA migration amounts were rather lower compared to the residual amounts of BPA. This was considered to be due to the fact that the solubility of BPA in water is low [32-34]. In many situations, the "migration from polymers" term is defined as a mass transfer related to the diffusion managed by the predictable physical processes included in a polymer network [35]. Although it has been stated that the BPA migration from PC materials to aqueous foods is also caused by the BPA released as a result of the hydrolysis occurring at the surface of the material as well as the residual BPA remained in the material after production, it is known that PC materials are more susceptible to hydrolysis in contact with water especially at the temperatures over 60°C [10, 12-16]. The carbonate linkages in the PC material are subjected to hydrolytic attack at high temperatures [13]. As the hydrolysis does not occur when the water in the PC water bottle is not stored at high temperatures such as 60°C, it is considered that the amounts of the BPA migration were at low concentrations.

Assessment of Amounts of BPA Migration Based on TDI Value and Specific Migration Amount

The tolerable daily intake (TDI) value for BPA has been changed by EFSA within years and the value has been decreased. The last TDI value is 4 µg/kg body weight/day [6]. The amount of BPA daily tolerable for a human being

with an average body weight of 60 kg is 240 µg. In this case, in order to reach this amount based on the amounts of BPA migration determined according to different environmental conditions:

The human body will be able to tolerate the amount of BPA taken;

- When 203 L of water is consumed daily from a 5-gallon PC water bottle stored at the D5 storage conditions for 60 days. (1.14 ppb of LOD was taken as the maximum BPA migration amount)
- When 24 L of water is consumed daily from a 5-gallon PC water bottle stored at the D20 storage conditions for 60 days.
- When 16 L of water is consumed daily from a 5-gallon PC water bottle stored at the D40 storage conditions for 60 days.
- When 19 L of water is consumed daily from a 5-gallon PC water bottle stored at the L20 storage conditions for 60 days.

The specific migration limit (SML) for BPA was 0.6 mg/kg food in 2002, this value was decreased to 0.05 mg/kg food (50 µg/kg food=50 ppb) in 2018 according to the Commission Regulation No 2018/213 [42]. In other words, the amount of BPA to migrate from the 5-gallon PC water bottles to the water included in them is 50 µg for 1 L of water. When we compared this value with our

results even for 60-days storage we concluded that; the migration amounts are quite lower than the SML value.

CONCLUSION

It was determined that the 5-gallon PC water bottles produced in Turkey had a standard quality in terms of the amount of residual BPA and these amounts were lower compared to the residual BPA values in the literature. Although it has been stated in the current literature that there may be an increase in the amount of residual BPA as a result of the degradation of the PC material due to the processes applied during the usage periods and the conditions it was exposed to, the increase in the residual BPA amounts may not be noticeable by residue analysis, as the material is a reusable and may migrate into the water contacted during each usage period. Therefore, lower or higher residue amounts can be detected in old materials compared to new materials.

When we evaluate the BPA migration amounts on the basis of TDI value, the amount of water should be drunk is 16 L at the worst conditions of 40°C/60 days. It is not practicable to drink such amounts of water. Overall it is possible to conclude that PC water carboys are safe for the BPA migration.

In our daily life we should not use the materials having any migration risk of especially toxicologically important substances at high temperature and long contact times.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Ege University Scientific Research Projects Commission (2015-MUH-019) for financial support.

REFERENCES

- [1] Maia, J., Cruz, J.M., Sendón, R., Bustos, J., Sanchez, J.J., Paseiro, P. (2009). Effect of detergents in the release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles. *Food Research International*, 42(10), 1410–1414.
- [2] Kızılırmak Esmer, Ö., Üçüncü, M., Saygılıer, E. (2010), Ambalajlardan gıdalara geçen bisfenol-A'ya ilişkin risk değerlendirmeleri, VI. *International Packaging Congress*, İstanbul.
- [3] Le, H.H., Carlson, E.M., Chua, J.P., Belcher, S.M. (2008). Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicology Letters*, 176(2), 149–156.
- [4] Itoh, H., Iwasaki, M., Hanaoka, T., Sasaki, H., Tanaka, T., Tsugane, S. (2007). Urinary Bisphenol-A Concentration in Infertile Japanese Women and Its Association with Endometriosis: A Cross-Sectional Study. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 12(6), 258–264.
- [5] Kang, J.-H., Katayama, Y., Kondo, F. (2006). Biodegradation or metabolism of bisphenol A: from microorganisms to mammals. *Toxicology*, 217(2), 81–90.
- [6] EFSA (European Food Safety Authority). (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: Executive summary. EFSA panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids.
- [7] Commission Regulation. No 10/2011. (2011). Plastic materials and articles intended to come into contact with food. Official Journal of the European Communities, L 12/1.
- [8] Kawamura, Y., Koyano, Y., Takeda, Y., Yamada, T. (1998). Migration of Bisphenol A from Polycarbonate Products. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 39(3), 206-212_1.
- [9] Maragou, N.C., Makri, A., Lampi, E.N., Thomaidis, N.S., Koupparis, M.A. (2008). Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(3), 373–383.
- [10] Brede, C., Fjeldal, P., Skjevraak, I., Herikstad, H. (2003). Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Additives & Contaminants*, 20(7), 684–689.
- [11] Biles, J.E., McNeal, T.P., Begley, T.H., Hollifield, H.C. (1997). Determination of Bisphenol-A in Reusable Polycarbonate Food-Contact Plastics and Migration to Food-Simulating Liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9), 3541–3544.
- [12] Pedersen, D.A., Hvilsted, S., Petersen, J.H. (2015). Migration of bisphenol-A from polycarbonate plastic of different qualities, Environmental project No. 1710. http://orbit.dtu.dk/files/110762088/BPA_MST_project_No_1710_2015.pdf
- [13] Nam, S.-H., Seo, Y.-M., Kim, M.-G. (2010). Bisphenol A migration from polycarbonate baby bottle with repeated use. *Chemosphere*, 79(9), 949–952.
- [14] De Coensel, N., David, F., Sandra, P. (2009). Study on the migration of bisphenol-A from baby bottles by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-capillary GC-MS. *Journal of Separation Science*, 32(21), 3829–3836.
- [15] Kubwabo, C., Kosarac, I., Stewart, B., Gauthier, B.R., Lalonde, K., Lalonde, P.J. (2009). Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 26(6), 928–937.
- [16] Hu, L.-C., Oku, A., Yamada, E. (1998). Alkali-catalyzed methanolysis of polycarbonate. A study on recycling of bisphenol A and dimethyl carbonate. *Polymer*, 39(16), 3841–3845.

- [17] Anonymous, "Baby's toxic bottle- Bisphenol-A leaching from popular baby bottles, A report prepared by Work Group for Safe Markets," 2020 May 2008. [Online]. Available: <https://www.cleanwateraction.org/files/publications/national/babystoxicbottle-final.pdf> /.
- [18] Castle, L. (2007). Chemical migration into food: an overview. In K.A. Barnes, C.R. Sinclair & D.H. Watson (Eds.) *Chemical migration and food contact* (p. 1-12). Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington Cambridge CB21 6AH, England . ISBN-13: 978-1-84569-029-8
- [19] Vom Bruck, C.G., Bieber, W.D., Figge, K. (1986). Interaction between food and packaging materials and its consequence on migration. *Food Packaging and Preservation. Theory and Practice* (ed. M. Mathlouti), Elsevier Applied Science, London, 39-66.
- [20] Kızılırmak Esmer, Ö, Çağındı, Ö., Şahin, B. (2017). Does the realistic contact and daily use conditions limit the use of polycarbonate baby bottles for migration and residue level of Bisphenol-A. *Journal of Food and Health Science*, 3(4), 150-160.
- [21] Biedermann-Brem, S., Grob, K. (2009). Release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles: Water hardness as the most relevant factor. *European Food Research and Technology*, 228(5), 679–684.
- [22] Biedermann-Brem, S., Grob, K., Fjeldal, P. (2008). Release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles: Mechanisms of formation and investigation of worst case scenarios. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1053–1060.
- [23] Howdeshell, K.L., Peterman, P.H., Judy, B.M., Taylor, J.A., Orazio, C.E., Ruhlen, R.L., vom Saal, S.F., Welshons, W.V. (2003). Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental Health Perspectives*, 111(9), 1180–1187.
- [24] IBM Corp. (2013). IBM SPSS Statistics for windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- [25] Takao, Y., Lee, H.C., Ishibashi, Y., Kohra, S., Tominaga, N., Arizono, K. (1999). Fast screening method for Bisphenol A in environmental water and in food by solid-phase microextraction (SPME). *Journal Of Health Science*, 45(1), P39-39.
- [26] Arvanitoyannis, L., Bosnea, L. (2004) Migration of substances from food packaging materials to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (2), 63-76. |
- [27] Mercea, P. (2009). Physicochemical processes involved in migration of bisphenol A from polycarbonate. *Journal of Applied Polymer Science*, 112(2), 579–593.
- [28] Diepens, M., Gijsman, P. (2010). Photodegradation of bisphenol A polycarbonate with different types of stabilizers. *Polymer Degradation and Stability*, 95(5), 811–817.
- [29] Diepens, M., Gijsman, P. (2009). Photostabilizing of bisphenol A polycarbonate by using UV-absorbers and self protective block copolymers based on resorcinol polyarylate blocks. *Polymer Degradation and Stability*, 94(10), 1808–1813. 008
- [30] Diepens, M., Gijsman, P. (2007). Photodegradation of bisphenol A polycarbonate. *Polymer Degradation and Stability*, 92(3), 397–406.
- [31] Cao, X.-L., Corriveau, J. (2008). Migration of Bisphenol A from Polycarbonate Baby and Water Bottles into Water under Severe Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6378–6381
- [32] Corrales, J., Kristofco, L.A., Baylor Steele, W., Yates, B.S., Breed, C.S., Spencer Williams, E., & Brooks, B.W. (2015). Global assessment of bisphenol a in the environment: *Review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. Dose-Response*, 13(3), 1–29
- [33] Özdal, T., Yeşilcubuk, N.Ş. (2014). Toxicity of Bisphenol-A: Effects on Health and Regulations. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 8(6), 553–557.
- [34] Bhunia, K., Sablani, S.S., Tang, J., Rasco, B. (2013). Migration of chemical compounds from packaging polymers during microwave, conventional heat treatment, and storage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 523–545.
- [35] Piringer, O.G., Baner, A.L. (2008). *Plastic packaging*, (2nd ed.). Weinheim,: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- [36] Ehlert, K.A., Beumer, C.W.E., Groot, M.C.E. (2008). Migration of bisphenol-A into water from polycarbonate baby bottles during microwave heating. *Food Additives and Contaminants, Part A*, 25 (7), 904-910.
- [37] Wong, K.O., Leo, L.W. & Seah, H.L. (2005). Dietary exposure assessment of infants to bisphenol A from the use of polycarbonate baby milk bottles. *Food Additives and Contaminants Part A*, 22(3), 280-288.
- [38] Yamamoto, T., Yasuhara, A. (1999). Chlorination of bisphenol A in aqueous media: formation of chlorinated bisphenol A congeners and degradation to chlorinated phenolic compounds. *Chemosphere* 46, 1215–1223.
- [39] Mountfort, K.A., Kelly, J., Jickells, S.M., Castle, L. (1997). Investigations in to the potential degradation of polycarbonate baby bottles during sterilization with consequent release of Bisphenol A. *Food Additives and Contaminants*, 14 (6-7), 737-740.
- [40] Hacıoğlu, F. (2017). Degradation of polycarbonate, bentonite, barite, carbon fiber and glass fiber filled polycarbonate via gamma irradiation and possible use of polycarbonate in radioactive waste management. PhD Thesis of the Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara.

[41] Parshin, A.M., Gunyakov, V.A., Zyryanov, V.Y., Shabanov, V.F. (2013). Domain structures in nematic liquid crystals on a polycarbonate surface. *International Journal of Molecular Sciences*,14, 16303-16320.

[42] Commission Regulation. (2018). The use of bisphenol A in varnishes and coatings intended to

come into contact with food and amending Regulation (EU) No 10/2011 as regards the use of that substance in plastic food contact materials Official Journal of the European Communities, L 41, 6-12.

Eksozomlar: Kompozisyonları, Biyolojik Fonksiyonları ve Biyoaktif Bileşiklerin Taşınmasındaki Potansiyelleri

Cansu İnanır , Lütfiye Ekici  

Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş Tarihi (Received): 07.01.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 16.11.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): lutfiyed@erciyes.edu.tr (L. Ekici)

☎ 0 352 437 4937 📠 0 352 437 5784

ÖZ

Hücreler arası haberleşme hayati öneme sahip olup, organizmalarda farklı şekillerde gerçekleştirilmektedir. Ekstraselüler veziküller uzun mesafeli iletişimde görev alarak DNA, RNA ve proteinler gibi hücreye özgü maddeleri taşımaktadır. Ekstraselüler veziküller boyutlarına ve oluşumlarına göre apoptozom, mikrovezikül ve eksozom olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Eksozomların hastalıkların teşhisinde kullanılan bazı önemli biyobelirteçleri içermesi, hastalıkların tanısında kullanılma fikrini ortaya çıkararak eksozomlara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Ayrıca dendritik hücre kökenli eksozomların bağışıklayıcı rolleri eksozomların tedavi amaçlı kullanılabilirliğini de göstermektedir. Eksozomların hayvansal ve bitkisel kaynaklardan eldesinde diferansiyel santrifüj, immünoafinite, ultrafiltrasyon ve polimer bazlı çöktürme en çok kullanılan yöntemler arasındadır. Eksozomlar genellikle hücre biyolojisi, biyomedikal gibi alanların konusu olsa da son yapılan çalışmalar ile eksozomların gıda ve tarım alanlarında da umut vaat eden sonuçları içerdiği belirlenmiştir. Özellikle çözünürlüğü ve biyoyararlılığı düşük biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rolleri dikkat çekmektedir. Eksozomlar bütün vücut hücreleri tarafından oluşturulduğu, yapı ve içerik olarak hücre zarına benzediği ve kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebildiğinden vücut tarafından daha iyi tolere edilmektedir. Nitekim literatür verileri biyoaktif bileşiklerin eksozomlar ile taşınmasının immün reaksiyonlar, toksisite, modifikasyona ihtiyaç duyma ve yapay olarak sentezlenme gibi dezavantajlara sahip nanopartiküllere karşı alternatif bir çözüm olabileceğini düşündürmektedir. Bu derlemenin amacı, son yıllarda gıda bilimi alanında da dikkat çeken eksozomların özellikleri, fonksiyonları ve biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rollerinin değerlendirilmesidir.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, Nanopartikül, Biyoaktif bileşik, Ekstraselüler veziküller, Hücreler arası iletişim

Exosomes: Their Composition, Biological Functions and Potential for Transport of Bioactive Compounds

ABSTRACT

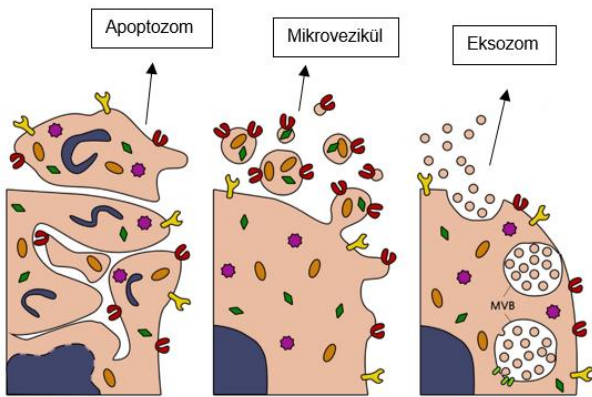
Intercellular communication, which is vital in organisms, is carried out in many different ways. Extracellular vesicles carry cell-specific substances such as DNA, RNA and proteins, taking part in long-distance communication. Extracellular vesicles are divided into three groups as apoptosis, microvesicle and exosome according to their size and formation. The fact that exosomes can be obtained from all body fluids and contain some important biomarkers used in the understanding of diseases has led to an increase in interest in exosomes by revealing the idea of being used in the diagnosis of diseases. In addition, the immunizing roles of dendritic cell-derived exosomes demonstrate the therapeutic utility of exosomes. Differential centrifugation, immunoaffinity, ultrafiltration and polymer-based precipitation are among the most commonly used methods for obtaining exosomes from animal and plant sources. Although exosomes are generally the subject of cell biology and biomedical, recent studies have shown that exosomes contain promising results in food and agriculture. Exosomes are better tolerated by the body as it is formed by all body cells, resembles the cell membrane in structure and content, and can cross complex barriers such as

blood-brain. Thus, literature data suggest that transport of bioactive compounds by exosomes may be an alternative solution to nanoparticles having disadvantages such as immune reactions, toxicity, need for modification and artificially synthesized. The aim of this review is to evaluate the properties, functions and role of bioactive compounds in exosomes that have attracted attention in the field of food science in recent years.

Keywords: Exosome, Nanoparticle, Bioactive component, Extracellular vesicles, Cellular communication

GİRİŞ

Çok hücreli organizmalardaki milyarlarca hücrenin işlevlerini eşzamanlı gerçekleştirebilmek için haberleşmeleri gerekmektedir. Bu sebeple canlıların yaşamı boyunca devam eden hücreler arası iletişim hayati öneme sahiptir. Hücreler bu iletişimi yakınındaki ya da en uzaktaki hücreye karşı kimyasal mesajlar salgılayarak gerçekleştirirler. Haberleşme, hücrelerin aralarındaki mesafeye bağlı olarak lokal (yerel) haberleşme ve uzun mesafeli haberleşme (hormonal haberleşme) olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Lokal haberleşmede nörotransmitterler ve yerel regülatörler gibi lokal düzenleyiciler kısa mesafedeki hücrelere mesaj iletmektedir. Uzun mesafeli iletişimde ise hormonlar ve hücre dışı (ekstraselüler) veziküller rol oynamaktadır [1]. Ekstraselüler veziküller (EV), hücre dışı ortama salgılanan mikroRNA (miRNA), mesajcı RNA (mRNA), DNA ve proteinler gibi hücreye özgü biyomolekülleri taşıyan lipit tabakalı nano veziküllerdir. EV' ler serum, plazma, idrar, amniyotik sıvı, sinoviyal sıvı, anne sütü ve tükürük gibi tüm vücut sıvılarından elde edilebilmektedir. EV' lerin hücreler arası haberleşme, genetik materyal taşıma, sinyal iletimi ve bağışıklığı düzenleme gibi önemli biyolojik görevleri olduğu bilinmektedir. EV' ler biyolojik oluşumları, boyutları ve hücre kökenlerine göre apoptotik cisimler (apoptozomlar), mikroveziküller ve eksozomlar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Şekil 1). Apoptotik cisimler, normal hücrelerin ölüm mekanizması olan apoptozis sonucu ortama bırakılan ve 1000 ile 5000 nanometre (nm) arasında değişen bir çapa sahip olan veziküllerdir. Mikroveziküller, 200 ile 1000 nm arasında değişen boyutta olup, plazma membranından tomurcuklanma yoluyla oluşmaktadır. Eksozomlar ise tüm hücreler tarafından ortama salınan, 30 ile 100 nm arasında çapa sahip olan en küçük ekstraselüler vezikül grubunu oluşturmaktadır [2-4].



Şekil 1. Ekstraselüler veziküllerin biyolojik olarak bilinen farklı tipleri [5 no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir]

Eksozomların daire benzeri bir morfoloji sergilediği ve çift fosfolipit tabaka ile çevrili olduğu bilinmektedir [6]. Eksozom membranının lipit içeriği daha fazla sfingomyelin, seramid, kolesterol ve gliserolfosfolipit bulundurması yönünden hücre membranından farklıdır. Bu farklı lipit içeriği eksozomların stabilitesinin korunmasında ve hücre tarafından ortama salınmasında kolaylık sağlamaktadır [7]. Lipit içeriğinin yanı sıra köken aldığı hücre zarında bulunan ısı-şok proteinleri, tetraspanin (küçük membran proteinleri) ailesine dahil olan proteinler ve reseptör molekülleri de membran kompozisyonuna dahildir. Bu şekilde diğer hücreler tarafından daha rahat tanınarak eksozomların hücre içine alınmaları kolaylaşmaktadır. Özellikle CD9 ve CD63 tetraspaninler ekstraselüler veziküllerden eksozomları ayırmada kullanılan önemli hücre zarı proteinleridir. Ayrıca, dendritik hücrelerden köken alan eksozomlar özgün proteinler olan CD80, CD86 yüzey antijenlerini içerirken; kanserli hücrelerden oluşan eksozomlarda çeşitli tümör antijenleri bulunmaktadır [7-9].

Bu derlemede, eksozomların başlıca özellikleri, biyogenezi ve fonksiyonları ele alınmaktadır. Ayrıca gıda alanında da kullanımı dikkat çeken ve işlevi bulunan eksozomların biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rolleri konusundaki literatür verilerinin derlenmesi hedeflenmiştir.

EKSOZOM BİYOGENEZİ

Eksozom biyogenezinde ilk olarak ana hücre zarının içeri doğru kıvrılıp girinti yapmasıyla birlikte erken endozom oluşmaktadır (Şekil 2). Gerçekleşen bu işlem seramid tarafından kontrol edilmektedir. Ligant-reseptör kompleksi hücre zarı tarafından alınarak oluşan endozom içerisine aktarılmaktadır. Oluşan erken endozom içe doğru tomurcuklanıp girintiler yaparak geç endozoma dönüşürken, birçok intralüminal vezikül meydana getirmektedir. Bu aşamada oluşan yapılar multiveziküler cisimcikler (MVC) adını almaktadır. Oluşan MVC iki farklı yol izleyebilmektedir; bunlardan ilkinde lizozom ile bir araya gelmesi sonucunda parçalanmaktadır. İkincisinde ise plazma membranı ile kaynaşarak eksozomlar halinde hücre dışına salınmaktadır [2, 10]. Eksozomlar ortama salındıktan sonra hedef hücre tarafından başlıca 3 farklı şekilde hücre içine alınabilmektedir;

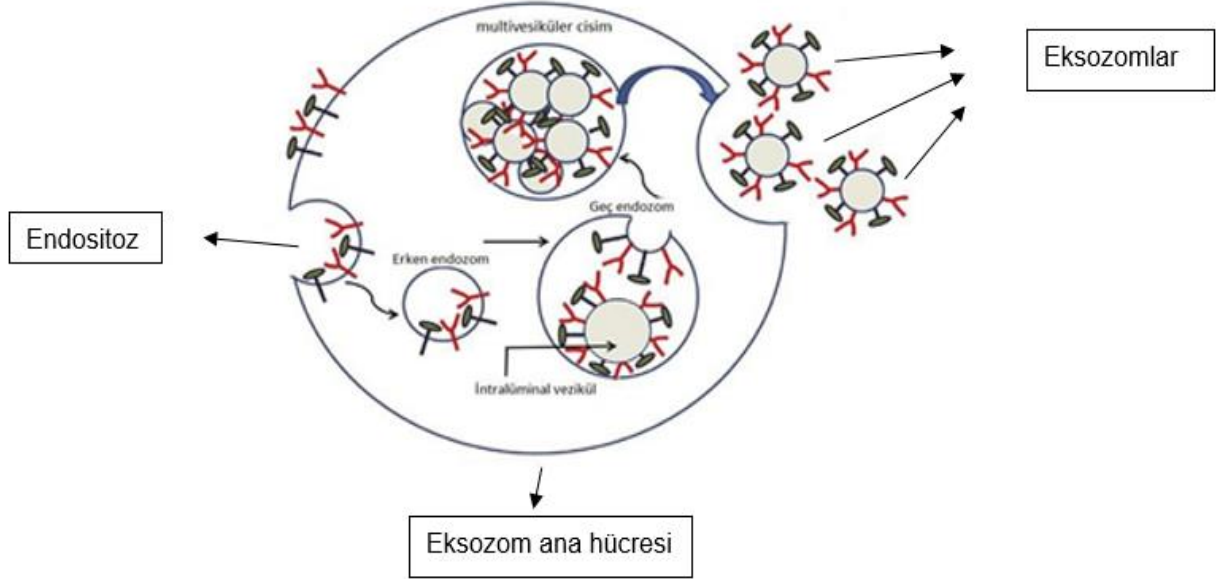
1. Ligandlar aracılığı ile; reseptör etkileşimi sayesinde eksozomlar üzerinde bulunan ligandlar, hedef hücre reseptörüne bağlanarak hücre içine alınabilmektedir.
2. Füzyon yolu ile; eksozom membranının hedef hücrenin zarı ile doğrudan füzyonu sonucunda eksozomlar taşıdıkları kargoyu hedef hücrenin sitoplazmasına aktarırlar.

3. Fagositoz ile; hedef hücre zarında oluşan yalancı ayaklar eksozomların etrafını sarak hücre içine alınmasını sağlayabilmektedir [11].

EKSOZOMLARIN FONKSİYONEL GÖREVLERİ

Başlangıçta, eksozomların gereksiz hücre moleküllerinin giderilmesinden sorumlu araçlar olduğu düşünülmüştür. Fakat yapılan araştırmalar bu fonksiyonlarının yanı sıra hücreler arası haberleşme ve taşıma ile vücut dengesinin korunmasında önemli görevlere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca eksozomların patoloji alanında da umut vaat eden rolleri olduğu

belirlenmiştir. Biyolojik süreçlerin düzenlenmesindeki temel rolleri göz önüne alındığında, hücre dışı veziküllerin hastalık patogenezinde önemli bir rol oynaması şaşırtıcı değildir [12, 13]. Eksozomların birçok bakterie, paraziter veya viral enfeksiyöz hastalıklarda önemli bir rolü olduğu keşfedilmiştir [10]. Eksozomlar bu rollerinin dışında immün yanıtlarda önemli görevler üstlenmekte ve immün homeostazı sağlamaktadır. Eksozomların, bağışıklık sistemi içindeki iletişime dahil olduğu ve hem bağışıklığı uyarıcı hem de inhibe edici etkiler ile modülasyona aracılık ettiği bilinmektedir [6, 14].



Şekil 2. Eksozom biyogenezi ve ortama salınımı [7 no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir]

Eksozomların köken aldıkları hücrelerin durumuna göre (örneğin kanserli hücrelerden alınması halinde tümör belirteçleri içermesi gibi) sahip oldukları içerikler (CD9, CD63 tetraspaninler ve CD80, CD86 yüzey antijenleri) bu nano keseciklere hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılma olanağı sunmaktadır. Eksozomların yeni nesil hastalık tanı yöntemi olarak kullanılmalarında bütün vücut sıvılarından elde edilebilmeleri önem arz etmektedir [15]. Özellikle kanser hücrelerinden elde edilen eksozomların normal hücrelerden salınan eksozomlardan farklı olarak ısı-şok proteinleri ve köken aldığı kanser hücresine ait spesifik proteinleri içerdiği tespit edilmiştir [7]. Eksozomların kanserde tanısal amaçlı kullanılmaları ile ilgili çalışmaların ve önemli kanıtların prostat kanseri üzerine olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar ile belirlenen prostat kanseri belirteçlerin vücuttan elde edilen plazma ve serum eksozomlarında da bulunduğu belirlenmiştir [16]. Meme kanseri ile ilgili bir çalışmada ise kanserli hastalardaki eksozom biyobelirteçlerin ifadelerinin sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu ve bu biyobelirteçlerin meme kanseri teşhisinde kullanılabileceği saptanmıştır [17]. Özellikle RNA'nın doğal taşıyıcıları olduğunun keşfedilmesi ile eksojen terapötik kargoların teslimi için araç olarak eksozomların kullanılabileceği hipotezi ortaya çıkmıştır [18-20]. Eksozomların protein haricinde taşıdıkları çeşitli

onkojenik özellikte miRNA'ların kanser hastalığının tanısında önemli bir yere sahip olduğu düşünülmektedir [21-24]. Örneğin, miR200 meme kanser hücrelerinden salınan eksozomlarda saptanmışken; miR105'in meme, yumurtalık ve prostat kanser hücrelerinden köken alan eksozomlarda var olduğu tespit edilmiştir [25]. Kanser yanısıra yapılan çalışmalar neticesinde kan ve lenf damarlarının içini oluşturan endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve kalp kasında kan dolaşımını sağlayan kardiyomyosit hücrelerden salınan eksozomların koroner kalp hastalığı gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir. Bu hücrelerden ortama salınan eksozomların koroner kalp hastalığının tanısı için değerli biyolojik bilgileri içerdiği tespit edilmiştir [26, 27].

Taşıdıkları kargo ve bağışıklığı düzenleyici rolleri eksozomların aynı zamanda tedavi amaçlı kullanılabilme potansiyellerini de ortaya koymaktadır [28]. Eksozomların plazmadaki biyodağılımının ve kararlılığının yüksek olması tedavi edici uygulamalarda kullanılmasını kolaylaştırmaktadır. Eksozomları kendi başına ya da eksojenik bir moleküle taşıyıcı olarak kullanmak tedavi edici uygulamaların başında gelmektedir [15]. Yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar ile dendritik hücre kökenli eksozomların bağışıklayıcı özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir [29,

30]. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde eksozomların, intraselüler bakteri gibi mikrobiyel antijenleri hücreye tanıtarak organizmanın immün sistemini kontrol altına alıp enfeksiyonun yayılmasını önlediği belirlenmiştir. *Toxoplasma gondii* sıcakkanlı organizmalardaki hücreleri enfekte edebilen ökaryotik bir parazittir [31]. Yapılan çalışmalar ile patojenlere karşı eksozomlar aracılığıyla oluşturulan koruyucu bir bağışıklık olduğu gözlemlenmiştir. Böylece *Toxoplasma gondii'* ye karşı dentritik hücrelerden elde edilen eksozomlar kullanılarak bir aşı geliştirilebileceği fikri ortaya çıkmaktadır [32]. Yapılan çalışmalar ile eksozomların, tümörlere karşı da bir bağışıklık tepkisi oluşturduğu tespit edilmiştir [33, 34]. Vücut direncini destekleyerek kanser hücrelerini yok etmeye yardımcı olan immünoterapi, özellikle kanser tedavisinde dikkat çeken bir alandır. İmmünomodülatör potansiyelleri nedeniyle eksozomların kanser immünoterapisinde kullanılabileceği fikri önem kazanmaktadır [35, 36]. Genel olarak, dendritik hücrelerin kanser hücrelerini, kanser/bağışıklık döngüsünün ilk aşamalarında T hücresi aktivasyonu yoluyla ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir. Dendritik hücrelerden türetilen eksozomların da T hücrelerini aktive ederek immün hücreye bağlı tümör reddini kolaylaştırma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında eksozomların kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanımını yeni bir terapötik yaklaşım olarak umut vaat etmektedir [37-39]. Ayrıca, eksozomların sinir sisteminde koruyucu bir rol oynadığı da bilinmektedir. Birçok çalışma, eksozomların nöronal korunma, sinir rejenerasyonu ve nöronal gelişme üzerindeki rolünü ortaya koymaktadır [40, 41]. Örneğin, beyin destek hücresi olan oligodendrositlerin nöronların beslenmesinde görev alan miyelin ve stres koruyucu proteinleri içeren eksozomları salgılayarak sinir sistemi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir [42].

EKSOZOMLARIN ELDE EDİLDİĞİ KAYNAKLAR VE İZOLASYON TEKNİKLERİ

Hayvan hücrelerinde eksozomların keşfedilmesinden sonra elde edilen sonuçlar bitki hücrelerinde de eksozom benzeri veziküllerin oluşumunu desteklemektedir. Eksozomlar memeli hücrelerinde daha yaygın bulunmasına rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalar ile grefurt, üzüm, havuç gibi meyvelerden de eksozomlar elde edilmiştir [43, 44]. Bilim insanları sığır sütünün eksozomlar için daha iyi bir kaynak olduğunu belirlediğinden, bu materyal ile yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Nitekim sığır sütünden elde edilen eksozomlar kullanılarak ilaç ve biyoaktif bileşiklerin taşınması ile ilgili çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiştir [45-47]. Hücre kültür ortamı veya biyolojik sıvılar kullanılarak eksozomların izolasyonu amacıyla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Eksozomların eldesi için diferansiyel santrifüj, immünoafinite, ultrafiltrasyon ve polimer bazlı çöktürme dahil olmak üzere birçok metot uygulanmaktadır [48-50]. Bu metotlara ek olarak daha pratik bir yöntem olan kitler üzerinde de çalışmalar mevcuttur [51, 52]. Genel olarak, eksozomların izolasyonunun izlenmesi boyutlarına, morfolojilerine, yüzdürme yoğunluklarına ve Alix, TSG101, HSP70 ve CD9 gibi marker proteinlerin

varlığına dayanmaktadır [53]. En yaygın kullanılan izolasyon tekniği, diferansiyel santrifüjleme yöntemidir. Bu metotta kültür ortamındaki büyük partiküller ve hücre kalıntıları, 200-100.000 g arasında farklı santrifüj kuvvetleri kullanılarak kademeli olarak ayrılmaktadır. Eksozomlar, 100.000 g'de tortu şeklinde çöktürülerek süpernatanttan ayrılır. Fakat elde edilen ekstraksiyonlar kültür ortamındaki hücresel proteinleri ve partikülleri içerme eğiliminde olduğundan eksozomların saflaştırılmasında yeterince etkili bir teknik değildir. Ayrıca bu yöntemin zaman alıcı olması ve özel ekipman gerektirmesi diğer dezavantajları arasındadır. Ancak, yoğunluk gradient santrifüjü kullanılarak yüksek saflıkta eksozomlar elde edilebilmektedir. Bu teknikte sakkaroz ve gliserin gibi materyaller ile oluşturulan gradientlerde santrifüj yapılmaktadır [54]. Eksozomların eldesinde kullanılan bir diğer yaygın teknik ise immünoafinite metodudur. Afinite kromatografisi, monoklonal antikor moleküllerini biyolojik aktivitelerine göre kimyasal veya fiziksel özelliklerine dayanarak ayırma yeteneğine dayanır. Bu yöntemde matriksi adı verilen katı bir destek materyaline ligant kovalent olarak immobilize edilmektedir. Saflaştırılmak istenen molekül afinite kolonundan geçirildiğinde ayrılmak istenen moleküller ligand tarafından tutulmakta ve istenmeyen safsızlıklar uygun bir tamponla kolondan uzaklaştırılmaktadır [55]. Eksozomların eldesinde farklı tekniklerin kullanıldığı bir çalışmada, immünoafinite metodu kullanılarak izole edilen ekstraksiyonun eksozomlar ile ilişkili belirteç proteinleri daha fazla içerdiği tespit edilmiştir [53]. Eksozomların izolasyonunda kullanılan bir diğer metot olan ultrafiltrasyon, basınç kullanılarak boyut farklılıklarına göre izolasyonun yapıldığı bir çeşit membran filtrasyonudur. Ultrafiltrasyon tekniği nano boyutlarda olan membrana yapışan proteinlerin uzaklaştırılması ve eksozomların eldesinde zorluk yaşanması gibi dezavantajlara sahiptir. Eksozomların eldesinde alternatif bir yöntem ise polimerler kullanılarak çöktürme yoluyla eksozom izolasyonudur. Bu metot, 1500g'de çalışan basit ve yavaş bir santrifüjleme ile elde edilen "polimer ağların" belirli boyutlardaki eksozomları toplaması prensibi ile çalışmaktadır [51].

EKSOZOMLARIN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN TAŞINMASINDAKİ ROLLERİ

Eksozomlarla ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla hücre biyolojisi, biyokimya, onkoloji ve biyomedikal alanlarında yoğunlaşmaktadır. Elde edilen bulgular özellikle tarım ve gıda alanı için umut vaat etse de, eksozomların bu alanlarda kullanımlarına dair son derece az sayıda çalışma bulunmaktadır. Polifenoller, vitaminler ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi biyoaktif bileşiklerin gıdaların besin değerini artırmak veya gıdaya fonksiyonel özellikler kazandırmak amacıyla farklı formülasyonlara ilave edilmesi mümkündür. Fakat bu tür biyoaktiflerin zayıf biyoyararlanıma sahip olmaları terapötik gelişme için elverişsiz bir özellik olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, biyoaktif bileşiklerin verimli şekilde dağıtımını ve biyoyararlanımını arttırmak için uygun sistemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla son yıllarda bu bileşiklerin etkili bir şekilde taşınmasını amaçlayan çok sayıda nanometre boyutlu malzeme önerilmiştir [56, 57]. Biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını ve etkinliğini

arttırmak, içerdiği etken maddeyi hedef bölgeye ulaştırma taşıma sistemleri sayesinde mümkün olabilmektedir. Polimer yapıları sistemler kullanılarak etken maddelerin spesifik olarak organ ya da dokulara ulaşması sağlanabilmektedir [58, 59]. Nanopartiküllerin kullanımı, gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını arttırmış olsa da bu nanopartiküller immün reaksiyonlara neden olabilmekte ve sitotoksik etkiler gösterebilmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin klirensi de (birim zamanda böbreklerden temizlenen plazma miktarı) kullanımları konusunda endişe yaratmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin taşınmasında kullanılan bazı nanopartiküllerin bağırsak hücreleri tarafından emildiği belirlense de, henüz vücuttan atılım mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Polimer yapıları birçok nanopartikül var olmasına karşın yapı ve içerik olarak eksozomlara en benzer temsilci lipozomlar olarak sayılmaktadır. Bu sebepten dolayı eksozomlarla karşılaştırma için bu nanopartiküllerden yalnızca lipozomlar kullanılabilir [3]. Lipozomlar katmanlı fosfolipit yapısında bir membrana sahip olan nanometre boyutundaki veziküllerdir. Lipozomlar sentetik veya doğal olarak fosfolipitlere kolesterol ilavesi ile oluşturulmaktadır. Lipozomlar hem hidrofilik hem de hidrofobik bileşikleri kapsüle edebilmesi açısından önemlidir [60]. Literatürde bu nanopartiküllerin ilaç ve biyoaktif bileşiklerin taşınmasında kullanımıyla ilgili çalışmalar mevcuttur [61-63]. Fakat lipozomların enkapsülasyonda kullanımı, üretilen yapıların yetersiz stabilitesi nedeniyle sınırlıdır [64, 65]. Her ne kadar bazı başarılı lipozomal ilaç formülasyonları olsa da modifiye edilmemiş lipozomların, kısa kan dolaşım süresi ve hedef seçiciliği eksikliği ile *in vivo* olarak kararsız olduğu belirlenmiştir. Lipozomal sistemin diğer bir dezavantajı da çoklu dozajlarda farmokinetiğinin değişmesidir. Ayrıca sentetik olarak üretilen lipozomlar kırılabilir bir yapıdadır. Bu nedenle sahip oldukları düşük stabiliteyi yüzünden kapsüle edilen bileşikler sızdırma veya kaybetme gibi sorunlar da ortaya çıkabilmektedir [66]. Eksozomlar molekülleri hücre dışı ortamdan koruma ve onları hedef hücre veya dokuya taşıma işlevine doğal olarak sahipken, lipozomların uygulamalarda yararlı olması için tasarlanması ve yapay olarak sentezlenmesi gerekmektedir. Lipozomların vücutta kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçememesi, çoğunlukla yapay malzemelerden elde edilmesi ve yapılan birçok çalışma sonucunda elde edilen riskler dolayısıyla kullanımlarında endişeler vardır. Ayrıca uzun süreli polimerik nanopartiküllerin kullanımıyla ilgili ciddi toksisite riski de bulunmaktadır [3]. Literatürde lipozomların gıda sistemlerinde kullanımına ilişkin çok az çalışmaya rastlanmaktadır. Lipozomların gıda bileşenleri ile etkileşiminin çok iyi anlaşılmasına ilaveten lipozom üretiminin hammadde maliyetleri ve üretim süreçlerinin yüksek olması gibi etkenler gıda alanında lipozomların kullanımlarını sınırlandırmaktadır [67].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, biyoaktif bileşiklerin verimli bir şekilde taşınmasını sağlayan hücre salı ürünleri sınıfındaki eksozomların kullanılabilirliğine dikkat çekmektedir [47, 68]. Eksozomların dağıtım aracı olarak yapay nanopartiküllere kıyasla önemli avantajları olduğu belirlenmiştir. Eksozomların bütün vücut hücreleri tarafından oluşturulmasının yanı sıra serum,

plazma ve tükürük gibi vücut sıvılarından elde edilebilmesi bunların kullanımındaki en önemli faktördür. Bileşim ve yapı olarak hücre zarına benzerlikleri sayesinde eksozomlar vücut tarafından daha iyi tolere edilebilmektedir. Yapılan çalışmalar eksozomların, yüklerini hedef hücrelere vermek için plazma zarını geçtiklerini de göstermektedir [3, 55].

Biyoaktif bileşikler fizyolojik ve hücrel aktiviteyi etkileyen fenilalanin veya tirozinden türetilen ikincil metabolitlerdir. Biyoaktif bileşikler meyve ve sebzelerde az miktarda bulunsun da, sağlık üzerinde önemli etkilere sahiptir. Fitokimyasallar olarak da adlandırılan biyoaktif bileşikler terpenoidler, fenolik bileşikler (polifenoller) ve azot-sülfür (N-S) içeren bileşikler olmak üzere alt sınıflara ayrılmaktadır [69]. Polifenoller, bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Polifenoller fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere iki alt grup içermektedir. Polifenoller, meyve ve sebzelerde kendine has tat ve rengi sağlama, bitkiyi UV radyasyonu, patojen ve fiziksel hasarlara karşı koruma gibi görevlere sahiptir [70]. Yapılan araştırmalar ile polifenollerin kanser, kalp-damar ve nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra bazı metabolik hastalıklara karşı da koruyucu etkileri olduğu tespit edilmiştir [71-74]. Sağlık üzerine olumlu etkilerine rağmen polifenollerin düşük çözünürlükleri ve zayıf biyoyararlanımları yüksek dozlarda dahi potansiyellerini açığa çıkarmalarını engellemektedir. Yapay nanoparçacıkların kullanımında karşılaşılabilecek sıkıntılara karşı; eksozomların içeriğini hedef dokuya taşımada sahip olduğu avantajlar göz önüne alındığında biyoaktif maddelerin taşınımında eksozomların kullanımı önem kazanmaktadır.

Antosiyanidinler, birçok meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü kırmızı ve mavi-mor renklerinden sorumlu, polifenollerin flavanoidler alt grubunda yer alan doğal pigmentlerdir. Renklendirme özelliklerine ek olarak, antosiyanidinler, nöronal, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, enflamasyon gibi birçok hastalığı önlemeye yardımcı olan güçlü antioksidan aktivite sergileyen biyoaktif bileşenlerdir [75-77]. Antosiyaninler, aglikon kısım olarak da bilinen antosiyanidinlerin glikozitleri olarak oluşmaktadır. Antosiyaninlerin çeşitliliği, yapıya bağlanan hidroksil (OH) ve metoksil (OCH₃) grupları, şeker türü ve şekere bağlanmış alifatik veya aromatik asit türlerinin sayısı ve pozisyonundan kaynaklanmaktadır. Doğada yaklaşık 17 tane antosiyanidin bulunmasına rağmen, bunlardan yalnızca 6 tanesi (siyanidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, malvidin ve petunidin) bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Polifenoller genel olarak suda düşük çözünürlüğe sahipken, antosiyaninlerde yapıya bağlanan şeker ile oluşan glikosilasyon molekülün stabilite ve suda çözünürlük kabiliyetini arttırmaktadır. Ancak bu özellikler pasif difüzyon ile sınırlanan emilim yüzünden antosiyaninlerin biyolojik olarak kullanılabilirliğini düşürmektedir [78]. Eksozomların antosiyaninlerin taşınımında kullanım olanaklarının incelendiği bir çalışmada, çiğ sığır sütünden elde edilen eksozomlar yabancısını türevli antosiyanidinlerin nanoformülasyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır. Antosiyanidinlerin eksozomal formülasyonu serbest

antosiyanidinler ile karşılaştırıldığında çeşitli kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler eksozomal antosiyanidin formülasyonunun farelerde akciğer kanseri tümör ksenograftına karşı terapötik tepkiyi önemli ölçüde arttırdığını ortaya koymaktadır. Antosiyanidinlerin eksozomal formülasyonunun, çoklu kanser tiplerine karşı gelişmiş stabilite ve antikanser etki gösterdiği de bulgular arasında yer almaktadır. Antosiyanidinlerin sütten elde edilen eksozom içine kapsüllenmesinin, herhangi bir toksik yan etkiye neden olmadan ilaç etkinliğini arttırdığı saptanmıştır [47]. Yumurtalık kanseri, kadınlarda en önemli jinekolojik hastalıklardan biridir. Yumurtalık kanserini tedavi etmek ve ilaç direncini aşmak için kemoterapötik ilaçlarla kombinasyon halinde bitki biyoaktiflerinin kullanımı uygulanabilir bir strateji olarak düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda koyu renkli meyve ve sebzelerin alımı ile çeşitli kronik hastalıkların insidansı arasında ters ilişki olduğu bilinmektedir. Bu etki özellikle koyu renkli meyvelerin yüksek antosiyanin içeriğinden kaynaklanmaktadır [79, 80]. Aqil ve ark. [68] yaptıkları çalışmada, yaban mersini antosiyanidinlerini eksozomlar ile enkapsüle ederek yumurtalık kanseri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Benzer şekilde antosiyanidinlerin eksozomal formülasyonu serbest antosiyanidinler ile karşılaştırıldığında artan stabilite ve biyoyararlanıma bağlı olarak kanser hücreleri üzerinde daha fazla antitümör etki göstermiştir. Elde edilen veriler antosiyanidin eksozomal formülünün dirençli tümörleri duyarılaştırma ve yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların terapötik etkinliğini artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise kemopreventif ajan olarak kabul edilen yaban mersini türevli antosiyanidin ve kurkumin, sıgır sütünden elde edilen eksozomlara yüklenmiştir. İlaç yüklü eksozomların insan akciğer ve meme kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. Eksozomal formülasyonların kanser hücreleri üzerinde serbest bileşiklere göre daha yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [81].

Bitkilerdeki biyoaktif bileşiklerin kanserli hücreler üzerinde seçici sitotoksik aktiviteye sahip umut verici etkileri olduğu bilinmektedir. Biyoaktif bileşik grubuna ait flavonoidlerin, serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan aktivite gösterdiği ve böylece kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyebildiği belirlenmiştir [82, 83]. Benzer şekilde Donoso-Quezada ve ark. [84] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, siyah fasulye ekstraktının eksozomal formülasyonunun kanser hücresi üzerindeki etkisinin serbest ekstrakta göre daha yüksek antiproliferatif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar eksozomların önemli biyoaktif bileşiklerden olan antosiyanidinlerin biyoyararlanımını arttırmak için etkili bir alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır.

Tripterygium wilfordii bitkisinden izole edilen celastrol, birçok kanser türüne karşı antiproliferatif ve antitümör etkilere sahip olduğu gösterilen bir terpenoitir [85, 86]. Celastrol ayrıca, kanser hücrelerinin hayatta kalması ve

çoğalmasının engellenmesinde çoklu sinyal yollarının zayıflatılması için gerekli olan ısı şoku proteininin (Hsp90) aktivitesinin artmasını sağlamaktadır. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BCS) ilaç maddelerinin suda çözünürlüklerine ve bağırsak geçirgenliklerine göre sınıflandırılmasında kullanılan bilimsel bir sistemdir. Bu sisteme göre ilaçlar yağ-su ayrılma katsayısına dayanarak dört sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; BCS Sınıf 1-yüksek çözünürlük/yüksek geçirgenlik, BCS Sınıf 2-düşük çözünürlük/yüksek geçirgenlik, BCS Sınıf 3-yüksek çözünürlük/düşük geçirgenlik, BCS Sınıf 4-düşük çözünürlük/düşük geçirgenlik özelliği gösteren ilaçları kapsamaktadır [87, 88]. Celastrol, BCS sistemde düşük yağ-su ayrılma katsayısına (LogP = 5.63) sahip olup düşük çözünürlük/geçirgenlik ve zayıf biyoyararlanımı olan bir 4. sınıf ilaç olarak sınıflandırılmaktadır. Bu elverişsiz fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikler önemli etkileri olan celastrolün terapötik uygulamasını sınırlandırmaktadır. Celastrolün eksozomal formülasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, serbest celastrole kıyasla eksozomal formun hem *in vitro* hem de *in vivo* akciğer kanseri hücrelerinin proliferasyonunun inhibe edilmesinde daha fazla etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [46]. Ayrıca başka bir çalışmada, celastrolün polimerik yapay nano formülasyonunun, serbest celastrole karşı artırılmış antiproliferatif aktivite göstermediği belirlenmiştir [89]. Celastrolün sıgır sütü türevli eksozomların içine kapsüllenmesi daha yüksek ilaç etkinliği sağlayabilir ve yapay nanopartiküllerin toksik yan etkilerini azaltabilir. Bu nedenle, eksozomların celastrolün etkili bir şekilde taşınmasında uygun maliyetli, güvenli ve etkili bir alternatif taşıma yöntemi olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir [46].

Curcuma longa (zerdeçal) rizomlarında bulunan doğal bir polifenol olan kurkuminin, antiinflamatuvar, antioksidan ve kemopreventif aktivite gösterdiği belirlenmiştir [90-93]. Hint safranı olarak da bilinen zerdeçala rengini veren majör biyoaktif bileşiklerin en önemlisi olan kurkumin, sulu çözeltide çözünmeyen hidrofobik bir bileşiktir. Kurkuminin kararsızlığı, sınırlı çözünürlüğü, zayıf emilimi ve düşük biyoyararlanımı potansiyel terapötik madde olarak klinik gelişimini engellemektedir [94, 95]. Kurkuminin çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak ve geliştirmek için lipozomlar ve polimerik nanopartiküller gibi birçok ilaç dağıtım sistemleri kullanılmıştır. Ancak, *in vivo* olarak modifiye edilmemiş yapay nanopartiküllerin kullanımında kısa dolaşım süresi ve stabilite sorunları gibi doğal sınırlamalar ortaya çıkmaktadır. Enflamasyon, kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda önemli bir rol oynamaktadır. Kurkumin, önemli bir antiinflamatuvar ajan olarak bilinmektedir. Bir çalışmada, eksozomal kurkuminin incelenen kanser hücrelerinde TNF- α kaynaklı enflamasyona sebep olan NF- κ B seviyelerini inhibe ederken, serbest kurkuminin etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, eksozomal kurkuminin antiproliferatif aktivitesi, birkaç insan kanser hücre hattı kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen akciğer, meme ve rahim ağzı kanseri üzerinde serbest kurkumin ile karşılaştırıldığında, eksozomal kurkuminin antiproliferatif etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir [96]. Osterman ve ark. [97] yaptıkları çalışmada eksozom ile kapsüllenmiş

kurkuminin *in vitro* ortamda pankreas kanserine karşı serbest kurkuminlere göre daha fazla antitümör aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Eksozomlar ile kapsüllenmiş kurkuminin çözünürlüğü ve kararlılığının araştırıldığı başka bir çalışmada ise eksozomal kurkuminin serbest kurkumine göre daha çözünür ve stabil olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, eksozomal kurkuminin sindirim işlemlerine karşı daha dirençli olduğu ve serbest kurkuminle karşılaştırıldığında intestinal bariyerden kan dolaşımına geçebildiği belirtilmiştir. Caco-2 hücre kültürü, beslenme ve farmakolojik araştırmaları gerçekleştirmek için insan bağırsağı epitelini boyunca besinlerin ve ilaçların emilimini taklit eden *in vitro* insan intestinal epitel hücre modelini temsil etmektedir. Caco-2 hücreleri ile yapılan transwell deneyleri sonucunda eksozomlar ile kapsüllenmiş kurkuminin, bağırsak tabakasından geçebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, serbest kurkuminin bozulmaya karşı daha savunmasız olduğu ve eksozomlarla birleşmenin fizyolojik olarak stabiliteyi arttırdığı tespit edilmiştir [98]. Monosit kaynaklı miyeloid hücreler, enflamasyonla ilişkili enflamatuvar hastalıklar ve kanserde hayati rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, eksozomlarla komplekslenmiş kurkuminin, aktive edilmiş monosit türevli miyeloid hücreler tarafından alındığı ve bu monositlerde apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Ek olarak, eksozom-kurkumin kompleksinin kurkuminin *in vitro* stabilitesini ve *in vivo* biyoyararlanımını arttırdığı saptanmıştır [99]. Vücuda giren patojenler tarafından oluşturulan endotoksinlerin bağlayıcı proteinlere tutunması sonucu oluşan kompleksler vücuttaki savunmadan sorumlu hücreleri uyarır. Oluşturulan bu enflamatuvar yanıt septik şok olarak adlandırılmaktadır. Septik şok organizmada çoklu organ yetmezliği ve ölüm gibi sonuçlara sebep olabilmektedir. Deneysel çalışmalarda endotoksin olarak çoğunlukla lipopolisakarit kullanılmaktadır [100]. Sun ve ark. [99] yaptıkları çalışmada eksozomal kurkuminin *in vivo* antienflamatuvar aktivitesini değerlendirilmek için fareler üzerinde lipopolisakarit kaynaklı bir septik şok modeli uyarlamıştır. Eksozomlarla enkapsüle edilen kurkumin ile beslenen farelerin, lipopolisakarit kaynaklı septik şoka karşı korunduğu gösterilmiştir.

Eksozomların antiproliferatif ve antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra nörolojik hastalıklar üzerinde de önemli etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Beyindeki mikroglial hücrelerin şizofreni, menenjit, Parkinson, Alzheimer ve beyin tümörleri gibi merkezi sinir sisteminin iltihaplanmasına bağlı hastalıklarının çoğunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, intranasal olarak verilen eksozomal kurkuminin, mikroglial hücrelerin sayısında önemli bir azalmaya ve tümör apoptozisinde artmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Eksozomların kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebilmesi sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde eksozomal komplekslerin kullanılmasını ön plana çıkarmaktadır [101]. Alzheimer, beyin hücrelerinin normalden daha erken dönemde kayıp yaşaması sonucunda meydana gelen önemli nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Hücrelerin ölümü sonucunda hafıza ve bilinç kaybı gerçekleşmektedir. Alzheimer hastalığının patogenezinin belirsizliği ve tedavisinde kullanılacak ilaçların kan-beyin bariyerini geçemediği

başarısızlığı, Alzheimer tedavisinde kullanılacak terapötik yaklaşımları sınırlamaktadır. Wang ve ark. [102] yaptıkları çalışmada eksozomların kurkumin ile yüklenmesinin serbest kurkumine göre çözünürlüğü, stabiliteyi ve biyoyararlanımını arttırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca eksozomal kurkuminin kan-beyin bariyerini geçerek hafızada rolü olan hipokampusta biriktiği tespit edilmiştir. Böylece, eksozomal kurkuminin Alzheimer farelerde öğrenme ve hafıza eksikliklerinin etkili bir şekilde iyileştirilmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmalardan elde edilen bulgular kurkuminin eksozomal formülasyonunun ilerde kanser ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için değerli bir araç olarak kullanılabileceğini göstermektedir [103].

Parkinson hastalığı dünyada en çok rastlanan nörolojik hastalıklardan biridir. Parkinson'un, beyin iltihabı, mikroglia aktivasyonu ve reaktif oksijen türleri gibi nörotoksik aktivitelerle ilişkili olduğu bilinmektedir [104]. Aynı zamanda Parkinson hastalarının beyinlerinden elde edilen numunelerde redoks enzimleri, katalaz, süperoksit dismutaz ve diğer antioksidanların seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda Parkinson tedavisinde katalaz gibi güçlü antioksidan etkili bileşiklerin kullanımı fikri önem kazanmaktadır. Katalaz sahip olduğu bu antioksidan etkiden dolayı biyoaktif bileşik sınıfına dahil edilebilmektedir. Ne yazık ki kan-beyin engeli bu büyük proteinin taşınmasını ciddi şekilde sınırlandırmaktadır [105, 106]. Eksozomların bileşiklerin taşınmasındaki en önemli fonksiyonu kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebilmesidir [101]. Haney ve ark. [107], katalaz ile yüklü eksozomların beyindeki nöronlarda ve mikroglial hücrelerde etkin bir şekilde biriktiği ve güçlü bir nöroprotektif etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

SONUÇ

Hücreler arası iletişim görevinin yanı sıra hastalıkların tanı ve tedavisi ile ilişkisi olduğunu gösteren veriler dikkate alındığında, eksozomların hastalıkların tedavisinde kullanılması fikri öne çıkmaktadır. Hücre biyolojisi, biyokimya, onkoloji ve biyomedikal alanlarında eksozomlar ile ilgili çalışmalar bu yüzden daha yoğundur. Literatür verileri ışığında değerlendirme yapılması gerekirse, günümüze kadar elde edilen bulgular eksozomların tarım ve gıda alanlarında da uygulama bulabileceğini göstermektedir. Ancak eksozom konusunda bu alanlarda henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Günümüzde gıda olarak tüketilen çok sayıda bitkinin farklı işlevlere sahip biyoaktif bileşikler içerdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar biyoaktif bileşiklerin farklı hastalıklarda terapötik etkilere sahip olduğunu ortaya koysa da düşük biyoyararlanımları kullanımlarını sınırlamaktadır. Nanoteknolojik uygulamalar biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını arttırmasına rağmen bazı toksik etkileri de beraberinde getirebilmektedir. Oysa eksozomlar vücuttaki birçok dokudan elde edilebilen doğal ve hedef hücrelerin toleransının yüksek olduğu veziküllerdir. Dolayısıyla, eksozomların biyoaktif bileşiklerin etkili bir şekilde hedef hücre veya dokulara taşınımında rol alabileceğine dair umut vaat eden çalışmalar bulunmaktadır. Eksozomların farklı sağlık

etkileri olan biyoaktif bileşiklerin taşınımında kullanımı yakın zamanlara rastlamakta olup, günümüzde de üzerinde çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Eksozomların gerek herhangi bir modifikasyona gerek duymaması gerekse de doğal kaynaklardan elde edilebilmesi kullanımlarına olan ilgiyi arttırmaktadır. Özetle, eksozomların biyoaktif bileşiklerin taşınımında alternatif bir yöntem olarak başarı ile kullanılabilmesi ön görülmektedir. Günümüzde kullanılan kapsülasyon ajanlarından daha üstün özelliklere sahip olan eksozomlar ile ilgili gıda alanında daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Reece, J.B., Campbell, N.A. (2011). Campbell biology, Pearson Yayınları, Boston
- [2] Ahmad, A., Desai, N.N., Qureshi, M.Z., Librelotto, D.R.N., Gasparri, M.L., Bishayee, A., Nabavi, S.R., Curti, V., Daglia, M. (2018). Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds. *Biotechnology Advances*, 36(1), 328-334.
- [3] Reiner, A.T., Somoza, V. (2019). Extracellular vesicles as vehicles for the delivery of food bioactives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 2113-2119.
- [4] Akers, J., Gonda, D., Kim, R., Carter, B., Chen, C. (2013). Biogenesis of extracellular vesicles (EV): Exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *Journal of Neuro-Oncology*, 113(1), 1-11.
- [5] Kooijmans, S.A.A., Vader, P., Van Dommelen, S.M., Van Solinge, W.W., Schifflers, R.M. (2012). Exosome mimetics: A novel class of drug delivery systems. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1525-1541.
- [6] Beach, A., Zhang, H.G., Ratajczak, M.Z., Kakar, S.S. (2014). Exosomes: An overview of biogenesis, composition and role in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*, 7(1), 1-10.
- [7] Bozkurt, S. (2018). Eksozomlar ve kanserdeki rolleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(9), 209-217.
- [8] Ersöz, E., Can, O.B., Uzunoğlu, S. (2016). Eksozomların kanserdeki rolü. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(5), 144-152.
- [9] Boucheix, C., Rubinstein, E. (2011). Tetraspanins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 1189-1205.
- [10] Wang, J., Sun, X., Zhao, J., Yang, Y., Cai, X., Xu, J., Cao, P. (2017). Exosomes: A novel strategy for treatment and prevention of diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1-13.
- [11] Kahlert, C. (2014). Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *Journal of Molecular Medicine*, 91(4), 431-437.
- [12] El Andaloussi, S., Mäger, I., Breakefield, X.O., Wood, M.J.A. (2013). Extracellular vesicles: Biology and emerging therapeutic opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12, 347-357.
- [13] Li, Y., Zhang, Y., Li, Z., Zhou, K., Feng, N. (2019). Exosomes as carriers for antitumor therapy. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5, 4870-4881.
- [14] Isola, A., Chen, S. (2016). Exosomes: The messengers of health and disease. *Current Neuropharmacology*, 15(1), 157-165.
- [15] Kahraman, T., Güçlüler, G., Gürsel, İ. (2014). Exosomes: Natural nanovesicle candidates used in the diagnosis and treatment. *Turkish Journal of Immunology*, 2(2), 34-40.
- [16] Hessvik, N.P., Sandvig, K., Llorente, A. (2013). Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. *Frontiers in Genetics*, 4(36), 1-9.
- [17] Wang, M., Ji, S., Shao, G., Zhang, J., Zhao, K., Wang, Z., Wu, A. (2018). Effect of exosome biomarkers for diagnosis and prognosis of breast cancer patients. *Clinical and Translational Oncology*, 20(7), 906-911.
- [18] Lakhal, S., Wood, M.J.A. (2011). Exosome nanotechnology: An emerging paradigm shift in drug delivery exploitation of exosome nanovesicles for systemic in vivo delivery of RNAi heralds new horizons for drug delivery across biological barriers. *BioEssays*, 33(10), 737-741.
- [19] Lönnerdal, B. (2019). Human milk microRNAs/exosomes: Composition and biological effects. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 90, 83-92.
- [20] Martinez, B., Peplow, P. (2020). MicroRNAs in blood and cerebrospinal fluid as diagnostic biomarkers of multiple sclerosis and to monitor disease progression. *Neural Regeneration Research*, 15(4), 606-619.
- [21] Lässer, C., Seyed Alikhani, V., Ekström, K., Eldh, M., Torregrosa Paredes, P., Bossios, A., Sjöstrand, M., Gabriellsson, S., Lötvall, J., Valadi, H. (2011). Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: Uptake by macrophages. *Journal of Translational Medicine*, 9(1), 1-8.
- [22] Azmi, A.S., Bao, B., Sarkar, F.H. (2013). Exosomes in cancer development. *Cancer and Metastasis Reviews*, 32, 1-33.
- [23] Groza, M., Zimta, A., Irimie, A., Achimas-Cadariu, P., Cenariu, D., Stanta, G., Berindan-Neagoe, I. (2019). Recent advancements in the study of breast cancer exosomes as mediators of intratumoral communication. *Journal of Cellular Physiology*, 235(6), 1-15.
- [24] Huang, T., Deng, C.X. (2019). Current progresses of exosomes as cancer diagnostic and prognostic biomarkers. *International Journal of Biological Sciences*, 15(1), 1-11.
- [25] Neviani, P., Fabbri, M. (2015). Exosomal microRNAs in the tumor microenvironment. *Frontiers in Medicine*, 2, 1-6.
- [26] Gao, X., Wang, Z., Wang, F., Gu, Y., Zhang, J., Chen, S. (2019). Exosomes in coronary artery disease. *International Journal of Biological Sciences*, 15, 2461-2470.
- [27] Zhou, H., Wang, B., Yang, Y., Jia, Q., Qi, Z., Zhang, A., Lv, S., Zhang, J. (2019). Exosomes in ischemic heart disease: Novel carriers for bioinformation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 1-9.

- [28] Melling, G.E., Carollo, E., Conlon, R., Simpson, J.C., Raul, D., Carter, F. (2019). The challenges and possibilities of extracellular vesicles as therapeutic vehicles. *European Journal of Pharmacology and Biopharmaceutics*, 144, 50-56.
- [29] Segura, E., Nicco, C., Lombard, B., Véron, P., Raposo, G., Batteux, F., Amigorena, S., Théry, C. (2005). ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. *Blood*, 106(1), 216-223.
- [30] Zitvogel, L., Regnault, A., Lozier, A., Wolfers, J., Flament, C., Tenza, D., Ricciardi-Castagnoli, P., Raposo, G., Amigorena, S. (1998). Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: Dendritic cell-derived exosomes. *Nature Medicine*, 4(5), 594-600.
- [31] Ramírez-Flores, C.J., Cruz-Mirón, R., Arroyo, R., Mondragón-Castelán, M.E., Nopal-Guerrero, T., González-Pozos, S., Rios-Castro, E., Mondragón-Flores, R. (2019). Characterization of metalloproteases and serine proteases of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and their effect on epithelial cells. *Parasitology Research*, 118, 289-306.
- [32] Tavukçuoğlu, Z., Peynircioğlu, B. (2018). Exosomes in diagnostic and therapeutical approaches of infectious diseases. *Turkish Journal of Medicine Science*, 11(2), 33-39.
- [33] Vlassov, A.V., Magdaleno, S., Setterquist, R., Conrad, R. (2012). Exosomes: Current knowledge of their composition, biological functions and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820, 940-948.
- [34] Morse, M.A., Garst, J., Osada, T., Khan, S., Hobeika, A., Clay, T.M., Valente, N., Shreenivas, R., Sutton, M. A., Delcayre, A., Hsu, D., Pecq, J., Lyerly, H.K. (2005). A phase I study of exosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Translational Medicine*, 3(9), 1-8.
- [35] Nakamura, K., Sawada, K., Kobayashi, M., Miyamoto, M., Shimizu, A., Yamamoto, M., Kinose, Y., Kimura, T. (2019). Role of the exosome in ovarian cancer progression and its potential as a therapeutic target. *Cancers*, 11(8), 1-17.
- [36] Syn, N.L., Wang, L., Chow, E.K.H., Lim, C.T., Goh, B.C. (2017). Exosomes in cancer nanomedicine and immunotherapy: Prospects and challenges. *Trends in Biotechnology*, 35(7), 665-676.
- [37] Pitt, J.M., Kroemer, G., Zitvogel, L., Pitt, J.M., André, F., Amigorena, S., Soria, J., Eggermont, A. (2016). Dendritic cell-derived exosomes for cancer therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(4), 1224-1232.
- [38] Viaud, S., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., André, F., Novault, S., Escudier, B., Robert, C., Caillat-Zucman, S., Tursz, T., Zitvogel, L., Chaput, N. (2009). Dendritic cell-derived exosomes promote natural killer cell activation and proliferation: A role for NKG2D ligands and IL-15R α . *PLoS ONE*, 4(3), 1-12.
- [39] Kalani, A., Tyagi, A., Tyagi, N. (2014). Exosomes: Mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 1-19.
- [40] Fauré, J., Lachenal, G., Court, M., Hirrlinger, J., Chatellard-Causse, C., Blot, B., Grange, J., Schoenherr, G., Goldberg, Y., Boyer, V., Kirchhoff, F., Raposo, G., Garin, J., Sadoul, R. (2006). Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 31(4), 642-648.
- [41] Potolicchio, I., Carven, G.J., Xu, X., Stipp, C., Riese, R.J., Stern, L.J., Santambrogio, L. (2005). Proteomic analysis of microglia-derived exosomes: Metabolic role of the aminopeptidase CD13 in neuropeptide catabolism. *The Journal of Immunology*, 175(4), 2237-2243.
- [42] Lai, C.P., Breakefield, X.O. (2012). Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies. *Frontiers in Physiology*, 3(228), 1-14.
- [43] Zhang, M., Viennois, E., Xu, C., Merlin, D. (2016). Plant derived edible nanoparticles as a new therapeutic approach against diseases. *Tissue Barriers*, 4(2), 1-9.
- [44] Baldrich, P., Rutter, B., Zandkarimi, H., Podicheti, R., Meyers, B., Innes, R. (2018). Biological properties of plant-derived extracellular vesicles. *Food & Function*, 10(2), 529-538.
- [45] Pérez-Bermúdez, P., Blesa, J., Soriano, J.M., Marcilla, A. (2017). Extracellular vesicles in food: Experimental evidence of their secretion in grape fruits. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98, 40-50.
- [46] Aqil, F., Kausar, H., Kumar, A., Jeyabalan, J., Kyakulaga, A., Munagala, R., Gupta, R. (2016). Exosomal formulation enhances therapeutic response of celastrol against lung cancer. *Experimental and Molecular Pathology*, 101(1), 12-21.
- [47] Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Mudd, A.M., Kyakulaga, A., Singh, I., Vadhanam, M., Gupta, R.C. (2017). Exosomal formulation of anthocyanidins against multiple cancer types. *Cancer Letters*, 393, 94-102.
- [48] Vaswani, K., Mitchell, M.D., Holland, O.J., Qin Koh, Y., Hill, R.J., Harb, T., Davies, P., Peiris, H. (2019). A method for the isolation of exosomes from human and bovine milk. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2019, 1-6.
- [49] Yang, X.X., Sun, C., Wang, L., Guo, X.L. (2019). New insight into isolation, identification techniques and medical applications of exosomes. *Journal of Controlled Release*, 308, 119-129.
- [50] Chen, B., Sung, C.W., Chen, C., Cheng, C., Lin, D.P.C., Huang, C.T., Hsu, M.Y. (2019). Advances in exosomes technology. *Clinica Chimica Acta*, 493, 14-19.
- [51] Peterson, M.F., Otoc, N., Sethi, J.K., Gupta, A., Antes, T.J. (2015). Integrated systems for exosome investigation. *Methods*, 87, 31-45.
- [52] Yamada, T., Inoshima, Y., Matsuda, T., Ishiguro, N. (2012). Comparison of methods for isolating exosomes from bovine milk. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(11), 1523-1525.

- [53] Tauro, B.J., Greening, D.W., Mathias, R.A., Ji, H., Mathivanan, S., Scott, A.M., Simpson, R.J. (2012). Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation and immunoaffinity capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes. *Methods*, 56(2), 293-304.
- [54] Ha, D., Yang, N., Nadithe, V. (2016). Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: Current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(4), 287-296.
- [55] Lai, R.C., Yeo, R.W.Y., Tan, K.H., Lim, S.K. (2013). Exosomes for drug delivery: A novel application for the mesenchymal stem cell. *Biotechnology Advances*, 31(5), 543-551.
- [56] Oehlke, K., Adamiuk, M., Behnsilian, D., Gräf, V., Mayer-Miebach, E., Walz, E., Greiner, R. (2014). Potential bioavailability enhancement of bioactive compounds using food-grade engineered nanomaterials: A review of the existing evidence. *Food and Function*, 5(7), 1341-1359.
- [57] Tontul, I. (2019). Nanoencapsulation techniques in food industry. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(2), 220-233.
- [58] Sayiner, Ö., Çomoğlu, T. (2016). Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(3), 62-79.
- [59] Tüylek, Z. (2017). İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim. *Bozok Tıp Dergisi*, 7(3), 89-98.
- [60] Kırtıl, E., Öztop, M.H. (2014). Enkapsülasyon maddesi olarak lipozom ve gıdalarda kullanımı: Yapısı, karakterizasyonu, üretimi ve stabilitesi. *Akademik Gıda*, 12(4), 41-57.
- [61] Batist, G., Ramakrishnan, G., Rao, C.S., Chandrasekharan, A., Gutheil, J., Guthrie, T., Shah, P., Khojasteh, A., Nair, M.K., Hoelzer, K., Tkaczuk, K., Park, Y.C., Lee, L.W. (2001). Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 19(5), 1444-1454.
- [62] Narayanan, N.K., Nargi, D., Randolph, C., Narayanan, B.A. (2009). Liposome encapsulation of curcumin and resveratrol in combination reduces prostate cancer incidence in PTEN knockout mice. *International Journal of Cancer*, 125, 1-8.
- [63] Thangapazham, R., Puri, A., Tele, S., Blumenthal, R., Maheshwari, R. (2008). Evaluation of a nanotechnology based carrier for delivery of curcumin in prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 32(5), 1119-1123.
- [64] Chun, J.Y., Choi, M.J., Min, S.G., Weiss, J. (2013). Formation and stability of multiple-layered liposomes by layer-by-layer electrostatic deposition of biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 249-257.
- [65] Barenholz, Y. (2001). Liposome application: Problems and prospects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 6(1), 66-77.
- [66] Laye, C., McClements, D.J., Weiss, J. (2008). Formation of biopolymer-coated liposomes by electrostatic deposition of chitosan. *Journal of Food Science*, 73(5), 7-15.
- [67] Taylor, T.M., Davidson, P.M., Bruce, B.D., Weiss, J. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7), 587-605.
- [68] Aqil, F., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Kyakulaga, A.H., Munagala, R., Parker, L., Gupta, R.C. (2017). Exosomal delivery of berry anthocyanidins for the management of ovarian cancer. *Food and Function*, 8(11), 4100-4107.
- [69] Mazid, M., Khan, T.A., Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3(2), 232-249.
- [70] Soleti, R., Andriantsitohaina, R., Martinez, M.C. (2018). Impact of polyphenols on extracellular vesicle levels and effects and their properties as tools for drug delivery for nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 644, 57-63.
- [71] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- [72] Chuang, C.C., McIntosh, M.K. (2011). Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. *Annual Review of Nutrition*, 31(1), 155-176.
- [73] Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A., Sorrenti, V., Di Giacomo, C., Virgata, G., Barcellona, M.L., Vanella, A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology*, 16(2), 91-98.
- [74] Skibola, C., Smith, M. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, 375-383.
- [75] Yousuf, B., Gul, K., Wani, A.A., Singh, P. (2016). Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 2223-2230.
- [76] Stintzing, F.C., Carle, R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15,19-38.
- [77] Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., Exon, J.H. (2006) A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46,161-183.
- [78] Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., Lim, S.M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-21.
- [79] Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocco, E., Trombetta, D. (2016). Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *Phytotherapy Research*, 30, 1265-1286.

- [80] Zikri, N., Riedl, K., Wang, L.S., Lecher, J., Schwartz, S., Stoner, G. (2009). Black raspberry components inhibit proliferation, induce apoptosis and modulate gene expression in rat esophageal epithelial cells. *Nutrition and Cancer*, 61(6), 816-826.
- [81] Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J., Gupta, R.C. (2016). Bovine milk-derived exosomes for drug delivery. *Cancer Letters*, 371, 48-61.
- [82] Kumar, N., Gupta, S., Chand Yadav, T., Pruthi, V., Kumar Varadwaj, P., Goel, N. (2019). Extrapolation of phenolic compounds as multi-target agents against cancer and inflammation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 37(9), 2355-2369.
- [83] Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Yılmaz-Ersan, L., Delikanlı, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393-396.
- [84] Donoso-Quezada, J., Guajardo-Flores, D., González-Valdez, J. (2019). Exosomes as nanocarriers for the delivery of bioactive compounds from black bean extract with antiproliferative activity in cancer cell lines. *Materials Today: Proceedings*, 13, 362-369.
- [85] Kannaiyan, R., Shanmugam, M.K., Sethi, G. (2011). Molecular targets of celastrol derived from Thunder of God Vine: Potential role in the treatment of inflammatory disorders and cancer. *Cancer Letters*, 303(1), 9-20.
- [86] Salminen, A., Lehtonen, M., Paimela, T., Kaarniranta, K. (2010). Biochemical and biophysical research communications celastrol: Molecular targets of Thunder God Vine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394, 439-442.
- [87] Benet, L.Z. (2013). The role of BCS (Biopharmaceutics Classification System) and BDDCS (Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System) in drug development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(1), 34-42.
- [88] Yaşın, D., Teksin, Z.Ş. (2018). Biopharmaceutics classification system: Evaluation on international guidelines and countries. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 7(2), 160-174.
- [89] Li, Z., Wu, X., Li, J., Yao, L., Sun, L., Shi, Y., Zhang, W., Lin, J., Liang, D., Li, Y. (2012). Antitumor activity of celastrol nanoparticles in a xenograft retinoblastoma tumor model. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2389-2398.
- [90] Park, W., Ruhul Amin, A.R.M., Chen, Z.G., Shin, D.M. (2013). New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prevention Research*, 6(5), 387-400.
- [91] Alisi, I. O., Uzairu, A., Abechi, S.E., Idris, S.O. (2018). Evaluation of the antioxidant properties of curcumin derivatives by genetic function algorithm. *Journal of Advanced Research*, 12, 47-54.
- [92] Konak, Ş., Şener, E.H. (2019). Antioxidant effects of curcumin on the blood tissue in rats. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 8-14.
- [93] Jurenka, J.S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. *Alternative Medicine Review*, 14(2), 141-154.
- [94] Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B. (2007). Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
- [95] Aggarwal, B.B., Harikumar, K.B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(1), 40-59.
- [96] Aqil, F., Munagala, R., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Gupta, R. (2017). Exosomes for the enhanced tissue bioavailability and efficacy of curcumin. *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 19(6), 1691-1702.
- [97] Osterman, C.J.D., Lynch, J.C., Leaf, P., Gonda, A., Bennit, H.R.F., Griffiths, D., Wall, N.R. (2015). Curcumin modulates pancreatic adenocarcinoma cell-derived exosomal function. *PLoS ONE*, 10(7), 1-17.
- [98] Vashisht, M., Rani, P., Onteru, S.K., Singh, D. (2017). Curcumin encapsulated in milk exosomes resists human digestion and possesses enhanced intestinal permeability in vitro. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183, 993-1007.
- [99] Sun, D., Zhuang, X., Xiang, X., Liu, Y., Zhang, S., Liu, C., Barnes, S., Grizzle, W., Miller, D., Zhang, H. (2010). A novel nanoparticle drug delivery system: The anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *The American Society of Gene & Cell Therapy*, 18(9), 1606-1614.
- [100] Guden, D., Temiz, M., Tunçtan, B., Fırat, S. (2015). The role of endothelin-1 and new therapeutic approaches in sepsis and septic shock. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 5(3), 178-190.
- [101] Zhuang, X., Xiang, X., Grizzle, W., Sun, D., Zhang, S., Axtell, R. C., Ju, S., Mu, J., Zhang, L., Steinman, L., Miller, D., Zhang, H. (2011). Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *The American Society of Gene & Cell Therapy*, 19(10), 1769-1779.
- [102] Wang, H., Sui, H., Zheng, Y., Jiang, Y., Shi, Y., Liang, J., Zhao, L. (2019). Curcumin-primed exosomes potentially ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 β pathway. *Nanoscale*, 11(15), 7481-7496.
- [103] Oskouie, M.N., Aghili Moghaddam, N.S., Butler, A.E., Zamani, P., Sahebkar, A. (2019). Therapeutic use of curcumin-encapsulated and curcumin-primed exosomes. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6), 8182-8191.
- [104] Pascual, M., Ibáñez, F., Guerri, C. (2020). Exosomes as mediators of neuron-glia

- communication in neuroinflammation. *Neural Regeneration Research*, 15(5), 796-801.
- [105]Silva, G.A. (2010). Nanotechnology applications and approaches for neuroregeneration and drug delivery to the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1199, 221-230.
- [106]Pardridge, W.M. (2012). Drug transport across the blood-brain barrier. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32, 1959-1972.
- [107]Haney, M.J., Klyachko, N.L., Zhao, Y., Gupta, R., Plotnikova, E.G., He, Z., Patel, T., Piroyan, A., Sokolsky, M., Kabanov, A., Batrakova, E.V. (2015). Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *Journal of Controlled Release*, 207, 18-30.
-

Covid-19 Salgınlarının Yayılmasını Önleyici Hijyen Uygulamaları

Sibel Özçakmak¹  , Işıl Var² ¹Atakum Tarım ve Orman İlçe Müdürlüğü, Atakum, Samsun²Çukurova Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

Geliş Tarihi (Received): 06.10.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 22.12.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): sibel.ozcakkmak@tarimorman.gov.tr (S. Özçakmak)

☎ 0 362 437 00 77 📠 0 362-407 00 22

ÖZ

Tüm dünya ve ülkemizi de etkisi altına alan pandemi sürecinde güvenilir gıda arzı ve faaliyetleri ilk akla gelen süreçlerden biridir. Bu sancılı dönemde gıdaların ambalajlama, depolama, taşıma aşamalarında ürünlerin temas ve hijyen kurallarına uygun olarak tüketicilere sunulması beklenmektedir. Covid-19 salgınından korunmak ve yayılmasını engellemek için rutin hijyen uygulamaları yanında 1593 Sayılı Umumi Hıfzıssıhha Kanununun 23. maddesine istinaden belirlenen ilave tedbirler konulmuştur. Şimdiye dek Sağlık Bakanlığı tarafından Covid-19 tedbirlerine ilişkin toplam 13 rehber yayınlamış olup, işyerlerinde alınması gereken önlemler internet sitesi üzerinden açıklanmıştır. Yapılan resmi denetim ve kontrollerde salgınla mücadelede devletin öngördüğü kurallara aykırılığın tespiti halinde suçun niteliğine göre idari yaptırımlar uygulanmaktadır. Eylül ayı itibari ile vaka sayılarının beklenen düzeyde olmayışı ne yazık ki yasal zorunlulukların uyulmasında problemler yaşandığını veya yetersiz kalındığını göstermektedir. Diğer yandan Salgın Tedbir Planlarının hazırlanması ve uygulanması konularında, işletme yetkililerinin güncel bilgilere erişimi ve uygulama konusunda güçlük yaşadığı da görülmektedir. Bu çalışma ile 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem kanununun gerektirdiği hijyen uygulamaları yanında Covid-19 ile mücadele kapsamında alınması gereken ek tedbirler birleştirilerek salgın yönetiminde dikkat edilmesi gereken hususlar ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Gıda İşletmesi, Covid-19, Hijyen, Salgın tedbirleri

Good Hygiene Practices to Prevent Covid-19 Outbreak Spreading

ABSTRACT

Reliable food supply and activities are one of the first processes that come to mind during the pandemic process, which also affects the whole world. In this troublesome period, products are expected to be presented to consumers in accordance with the products contact and hygiene rules during the packaging, storage and transportation stages. In addition to routine hygiene practices, additional measures determined in accordance with Article 23 of the Public Health Law No. 1593 have been put in place to protect from the Covid-19 epidemic and to prevent its spread. A total of 13 guidelines on Covid-19 measures have been published by the Ministry of Health so far, and the measures to be taken at workplaces have been announced on its website. Administrative sanctions are imposed according to the nature of the crime in the event that violations of the rules stipulated by the state in fighting the epidemic are detected during official inspections and controls. The fact that the reduction in the number of cases was not at the expected level as of September, unfortunately, shows that there are problems or insufficient obedience to legal restrictions. On the other hand, it is observed that workplace authorities have difficulties in accessing up-to-date information and implementing them in the "subject of preparation and implementation of Outbreak Precautionary Plans". With this study, besides the hygiene practices required by the Food Law numbered 5996, additional measures to be taken within the scope of combating Covid-19 are combined and the issues to be considered in epidemic management are indicated.

Keywords: Food Business, Covid-19, Hygiene, Epidemic precaution

GİRİŞ

Yeni Tip Koronavirüs Hastalığı (Covid-19), ilk olarak Çin'in Wuhan Eyaleti'nde Aralık ayının sonlarında solunum yolu belirtileri (ateş, öksürük, nefes darlığı) gelişen bir grup hastada yapılan araştırmalar sonucunda 13 Ocak 2020'de tanımlanmıştır. Salgın başlangıçta bu bölgedeki deniz ürünleri satış yerinde ve hayvan pazarında tespit edilmiştir. Daha sonra insandan insana bulaşarak Wuhan başta olmak üzere Hubei eyaletindeki diğer şehirlere ve Çin Halk Cumhuriyeti'nin diğer eyaletlerine ve tüm dünyaya yayılmıştır [1]. Ülkemizde ilk kez *Coronavirus* pozitif vaka 11 Mart 2020 tarihinde tespit edilmiştir.

Coronavirinae alt familyasına ait olan *Coronavirus*'lar, pozitif polariteli, büyük, zarflı ve tek zincirli RNA virüsleri olarak tanımlanmaktadır [2]. *Coronavirus*'ların birçok hayvanda (kedi, köpek, at, sığır, domuz, kuş, kemiriciler, kümes hayvanları) aynı insanlarda olduğu gibi solunum yolu enfeksiyonlarına neden olurlar. Yarasalar *Coronavirus*'ların rezervuarı olarak bilinmektedir. İnsan *Coronavirus*'ları genetik olarak yarasa virüslerinin mutasyonlarıyla oluşmuşlardır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Çin'de nedeni bilinmeyen ve bir ay içinde hızla yayılan çok sayıda pnömoni vakası için 30 Ocak 2020'de uluslararası halk sağlığı riski ilan etmiş ve 11 Şubat 2020'de bu yeni virüs SARS-CoV-2 olarak isimlendirilmiştir. Uluslararası virüs taksonomi komitesi bu virüsü SARS-CoV-2 olarak, virüsün yol açtığı hastalığı da "Covid-19" olarak adlandırmıştır. Covid-19, yeni keşfedilen *Coronavirus*'un neden olduğu enfeksiyon hastalığının adıdır. Yeni tip virüs ve hastalık, 2019 Aralık ayında Çin'in Wuhan bölgesindeki salgından önce bilinmiyordu. Dünya genelindeki birçok kuruluştan gelen verilere göre, kişiye *Coronavirus* bulaştıktan sonra hastalık belirtilerinin ortaya çıkması 1 ile 14 gün arasında sürmektedir. Genellikle ilk belirtilerin 5 gün civarında kendini gösterdiği belirlenmiştir. Ateş, yorgunluk, kuru öksürük, koku ve tat kaybı ve ağır vakalarda nefes alma güçlüğünün yanı sıra kas ağrısı, baş ağrısı, burun tıkanıklığı, burun akıntısı, boğaz ağrısı, ishal, sersemlik, iştah kaybı gibi orta şiddette belirtilere de rastlanmaktadır. Bazı kişilerde *Coronavirus* tespiti yapılmış olsa da kişide herhangi bir hastalık belirtisi görülmemekte ve kişi kendini kötü hissetmemektedir. Yaşlı bireyler ve tansiyon, kalp hastalığı veya diyabet gibi başka bir rahatsızlığı bulunanların hastalığı ağır geçirme ihtimali daha yüksek görülmektedir [28]. King's College London araştırmacıları tarafından yapılan Covid Belirti Çalışması sonucu, 6 farklı Covid-19 tipi olduğu ortaya koyulmuştur. Her tipin ise ayrı belirtilerle kendini gösteriyor olduğu belirtilmiştir [3].

Coronavirus, enfekte kişilerin öksürmesi, hapşırması veya konuşması ile çevreye yayılan solunum sekresyonlarının direkt olarak solunması yoluyla ya da yüzeylere bulaşmış olan virüsün eller aracılığı ile alınıp burun veya ağıza temas edilmesiyle indirekt yoldan bulaşabilmektedir. Diğer zarflı virüslerin aksine gastrointestinal sistem koşullarına dayanıklıdır ve fekal-oral yolla da bulaşabilir [4].

Tüm dünyada alınan önlemler ve kısıtlamalara rağmen virüsün insidansı artmaya devam etmektedir. Küresel bir krize dönüşen Covid-19 salgın hastalığı ile mücadele etme ve kamu sağlığının korunması amacıyla, tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de birtakım önlemler alınmıştır. 29/05/2020 tarihli ve 31139 sayılı Mükerrer Resmi Gazete'de Cumhurbaşkanlığı tarafından "*Covid-19 Kapsamında Kamu Kurum ve Kuruluşlarında Normalleşme ve Alınacak Tedbirler*" konulu 2020/8 sayılı genelge yayınlanarak yürürlüğe girmiştir [5]. İlerleyen tarihlerde tüm iş yerlerinde alınması gereken önlemleri kapsayan "*Covid-19 Salgın Yönetimi ve Çalışma Rehberi*" [6] yayınlanmış, bu doğrultuda tüm kamu ve özel sektör kuruluşları yeni normalleşme sürecine ilişkin tedbirler almaya başlamıştır.

Ülkemizde güvenilir gıda arzının kontrolünü sağlamada bilindiği üzere 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu [6] uygulanmaktadır. Gıda işletmelerinin genel ve özel hijyen esaslarına yönelik şartlar 2011 yılında kanunun ilgili maddeleri ve 852/2004/EC sayılı Gıdaların Hijyenine İlişkin Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğüne paralel olarak hazırlanan "*Gıda Hijyen Yönetmeliği*" [7] ve bu yönetmeliğin kurallarına ek olarak uyması gereken özel hijyen gerekliliklerini belirten Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliğinde belirtilmiştir [8]. Gıda güvenilirliği açısından tüketicinin korunmasını sağlamak amacıyla gıda işletmecisi, gıdanın birincil üretiminden son tüketiciye arzına kadar uyması gereken gıda hijyenine ilişkin genel kurallara yasal olarak uymak zorundadır. Salgın yönetimini etkin bir şekilde yürütmek için öncelikle temel hijyen gereklilikleri uygulanmalıdır. Bununla birlikte, DSÖ tarafından "*Pandemi*" kapsamına alınan Covid-19 salgınının yayılmasının önlenmesine yönelik tedbirler yerine getirilmelidir.

Bu çalışmada, gıda üretim, depolama ve taşıma faaliyeti gösteren işletmelerde genel ve özel hijyen esasları temel alınarak, işletme genelinde Covid-19 ve hijyen kuralları/uygulamalarını kapsayan tedbirler dikkate alınarak güncellenen bilgiler sunulmuştur.

GIDA İŞLETMELERİNDE GENEL VE ÖZEL HİJYEN ESASLARINA İLİŞKİN COVID-19 KAPSAMINDA ALINMASI GEREKEN İLAVE TEDBİRLER

Son dönemde dünya genelinde yayılan Covid-19 salgınının yayılmasının önlenmesi amacıyla uygulamaya konulan önlemler ve kısıtlamalar kapsamında herhangi bir sorun yaşanmaması için, salgınla mücadele sürecinde İçişleri Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı, Tarım ve Orman Bakanlığı ve diğer kurum-kuruluşlar tarafından genelgeler ve uyulması gereken tedbirleri içeren genel esaslar yayınlanmıştır. Bu genelge eklerinde zorunlu hale getirilen çoğu kurallar geleneksel hijyen esasları temeline dayanmaktadır. Gıda işletmeleri yetkilileri ve çalışanları, faaliyette oldukları sürece Yeni Koronavirüs salgınına karşı işyerlerinde etkin mücadele için, özellikle Sağlık Bakanlığı [8,9], Tarım ve Orman Bakanlığı [10], Aile Çalışma ve Sosyal Hizmetler Bakanlığı [11], İş Sağlığı ve Güvenliği Kanunu [12] ve diğer yetkili mercilerce bildirilen tedbirlere hassasiyetle uyulması önerilmektedir. *Coronavirus* tedbirlerine ilişkin Sağlık

Bakanlığı şimdiye kadar toplam 13 rehber yayınlamış olup gıda işletmeleri ile ilgili olarak, pazar yerleri, bakkal, büfe, kantin, kasap-manav-kuruyemişçi-balıkçı ve diğer gıda satış yerlerinde alınması gereken önlemler, Sağlık Bakanlığı internet sitesi üzerinden yayınlanmıştır. Bakkal, kasap ve manavlara maskesiz olan ve maskeyi uygun kullanmayan müşterilerin alınmaması, şantiyelerde, kişisel temizlik ve çevre temizliğine dikkat edilip, tedbirlere uyulması, büfe, kantin ve bayilerde müşterilerin temassız ödeme yapmasının teşvik edilmesi, kasap, manav, kuru yemişçi, balıkçı ve diğer

satış yerlerinin her gün su ve deterjanla düzenli olarak temizlenmesi gerektiği belirtilmiştir.

Gıda işletmeleri açısından temel enfeksiyondan korunma yollarının en önemlisi, sürdürülebilir iyi hijyen uygulamalarından geçmektedir. Yeni Tip *Coronavirus* riskine karşı Sağlık Bakanlığı [8,9] gıda işletmeleri için Tarım ve Orman Bakanlığı [10] bazı kurallar yayınlamıştır. Tablo 1'de Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan kurallar belirtilmiştir.

Tablo 1. *Coronavirüs* ile mücadelede Sağlık Bakanlığının yayınladığı tedbirler

<i>Coronavirüs</i> riskine karşı 14 kural	Gıda Marketlerinde Alınması Gereken Önlemler
¹ Ellerini sık sık su ve sabun ile en az 20 saniye boyunca ovarak yıkayın.	¹ Kapalı alanlardaki zemin ve diğer yüzeylerin rutin temizliğinin su ve deterjanla yapılması yeterlidir.
² Soğuk algınlığı belirtileri gösteren kişilerle aranıza en az 3-4 adım mesafe koyun.	² Özellikle eller ile sık dokunulan yüzeyler; kapı kolları, bataryalar, sık dokunulan düğmeler, telefon ahizesi, ortak kullanım alanlarındaki tuvalet ve lavabo temizliğine özen gösterilmelidir. Bu alanların temizliği için su ve deterjan ile temizlik yapıldıktan sonra 1:100 oranında sulandırılmış çamaşır suyu veya klor tablet (ürün tarifine göre) kullanılmalıdır.
³ Öksürme ve hapşırma sırasında ağız ve burunu tek kullanımlık mendille kapatın. Mendil yoksa dirseğin iç kısmını kullanın.	³ Mikroorganizmalara (bakteri, virüs, mantar vb.) yönelik daha etkili olduğu öne sürülen birtakım özel ürünlerin temizlikte kullanılmasının fazladan koruma sağladığına dair bilimsel kanıt yoktur.
⁴ Tokalaşma, sarılma gibi yakın temaslardan kaçınınız.	⁴ Gıda marketi çalışanları, el temizliğine dikkat etmelidir. Eller en az 20 saniye boyunca sabun ve suyla yıkanmalı, sabun ve suyun olmadığı durumlarda alkol bazlı el antiseptikleri kullanılmalıdır. Antiseptik veya antibakteriyel içeren sabun kullanmaya gerek yoktur, normal sabun yeterlidir.
⁵ Ellerinize gözlerinize, ağızınıza ve burnunuza dokunmayın.	⁵ Herhangi bir solunum yolu enfeksiyonu (ateş, öksürük, solunum sıkıntısı vb.) bulguları olan personel şikâyetleri düzelene kadar çalıştırılmamalıdır.
⁶ Yurt dışı seyahatlerinizi iptal edin veya erteleyin.	⁶ Sürekli bir şekilde insanlar ile yüz yüze arada 1 metre veya daha kısa mesafe kalacak şekilde temas eden çalışanlar (kasiyer) tıbbi maske takmalıdır. Maskenin burun, ağız ve çeneyi de kapatacak şekilde takılması, dış yüzeyine dokunulmaması, dokunulur ise alkol içerikli el antiseptikleri ile el hijyeni sağlanması gerekmektedir. Maske ön yüzüne dokunulmadan yanlarda yer alan lastiklerinden, bağcıklı ise bağcıklarından tutularak çıkartılmalı ve el hijyeni sağlanmalıdır.
⁷ Bulduğunuz ortamları sık sık havalandırın.	⁷ Gıda marketi çalışanlarının eldiven kullanmaları, el temizliğine olanak vermeyip, çevresel bulaşı artıracığından, önerilmemektedir. El hijyeni sağlanması için alkol içerikli el antiseptiklerinin ulaşılabilir noktalarda bulundurulmalıdır.
⁸ Kıyafetlerinizi 60-90°C'de normal deterjan ile yıkayın.	Gıda marketi çalışanlarına personel hijyen uygulamaları konusunda eğitim sağlanması istenmiştir.
⁹ Kapı kolları, armatürler, lavabolar gibi sık kullandığınız yüzeyleri su ve deterjanla her gün temizleyin.	
¹⁰ Soğuk algınlığı belirtileriniz varsa yaşlılar ve kronik hastalığı olanlarla temas etmeyin, maske takmadan dışarı çıkmayın.	
¹¹ Havlu gibi kişisel eşyalarınızı ortak kullanmayın.	
¹² Bol sıvı tüketin, dengeli beslenin, uyku düzeninize dikkat edin.	
¹³ Yurt dışından dönüşte ilk 14 günü evinizde geçirin.	
¹⁴ Düşmeyen ateş, öksürük ve nefes darlığınız varsa, maske takarak bir sağlık kuruluşuna başvurun.	

Tarım ve Orman Bakanlığı, gıda işletmelerine yönelik olarak Covid-19'a karşı alınması gereken tedbirler konusunda afiş/broşür yayınlamış olup belirtilen uyarılar arasında; personelin sağlığına dikkat edilmesi, çalışanların mutlaka maske kullanması, öksürüğü, ateşi, nefes darlığı olan personelin çalıştırılmaması, işletmeye girebilecek kişi sayısının (personel, teslimat işçileri, müşteriler) sınırlandırılması, işletmenin her bölümünde yeterli sayıda dezenfektan bulundurulması, ekmek dolaplarının önüne tek kullanımlık eldiven konulması yer almıştır. Pandemi başlangıcından itibaren salgınla mücadelede gıda üretim zincirlerinde alınması gereken tedbirler hususunda pek çok ulusal/uluslararası derleme/araştırma çalışmaları yayınlanmış olup [11-18],

ülkemizde yetkili otoriteler tarafından zorunlu kılınan koşulların, küresel olarak öngörülen tedbirlerle uyum içinde olduğu görülmektedir. Açıkta satışı sunulan gıda maddelerinde virüsün elle temasının engellenmesi amacıyla Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yeni düzenlemeler (Ekmek için *Coronavirus* Genelgesi) getirilmiştir. Böylece piyasaya arz edilen, ekmek ve ekmek çeşitlerinin satışında tüketicinin ürünlere doğrudan teması engellenmiştir [19].

Coronavirus salgını ile mücadelede, gıda işlemleri sırasında temas noktalarının periyodik temizlik ve dezenfeksiyonuna her zamankinden daha fazla dikkat etmek gerekmektedir [20]. Ekipmanların (bıçak, tezgah,

servis materyali vb.) temizliğine dikkat edilmesi, çöplerin düzenli aralıklarla işletmeden uzaklaştırılması, işletmenin temizlik ve hijyenine dikkat edilmesi ve hijyen eğitimlerinin artırılması, en fazla 2 saatte 1 kere tüm ortak alanların temizlik-dezenfeksiyonun sağlanması, kullanılmayan boş kasa ve ambalaj materyallerin işletmeden uzaklaştırılması, açıkta satılan gıdaların (peynir, zeytin vb.) tüketici ile temasının engellenmesi, personelin hijyenine dikkat edilmesi, tüm çalışanlara koruyucu kıyafet (maske, eldiven, bone vb.) temini, işletmenin sık sık havalandırılması, çalışanlar arasına mutlaka en az 2 metrelik mesafenin koyulması, soyunma odalarında, yemekhanede, servislerde, sosyal mesafenin korunması için gerekli önlemlerin alınması yer almaktadır [10, 11, 16].

CORONAVİRUS SALGIN DÖNEMİNDE İYİ HİJYEN UYGULAMALARI NASIL OLMALIDIR?

Görsel/Yazılı basında ve farklı yayın organlarında yeni uygulamalarını gibi lanse edilen Covid tedbirleri, 2011 yılından bu yana ülkemizde gıda işletmelerinde uygulanması zorunlu olan "Gıda Hijyen Yönetmeliği" şartlarıdır. *Coronavirus* ile mücadele kapsamında getirilen tüm zorunluluklar, uygulanmakta olan genel ve özel hijyen esasları (Gıda Hijyen Yönetmeliği) [7] temeline dayanmakta olup, bu bölümde ek tedbirlerin neler olması gerektiği hususunda bilgilendirmeler yapılmıştır.

CORONAVİRUS PANDEMİSİ İLE MÜCADELEDE GIDA İŞLETMECİSİNİN SORUMLULUKLARI

Gıda güvenilirliğinin sağlanmasında sorumluluk, öncelikle gıda işletmecisindedir. İşletme içerisinde sürdürülebilir iyi hijyen uygulamalarının sağlanabilmesi için işletmelerin alt yapı ve donanımı çapraz bulaşmaları önleyecek şekilde olmalıdır. Gıda işletmecisi yetkilisi, enfeksiyon bulaşma riskini azaltmaya yönelik önleyici tedbirler ve uygulamalar (maske, mesafe, hijyen) ile hijyen gereklilikleri ve kontrolünü sağlamalıdır [11, 13, 20]. Her işletme, Sağlık Bakanlığının "*Covid-19 Salgın Yönetimi ve Çalışma Rehberi*"nde belirtilen kurallara uygun olarak "İşletme İçi Salgın Tedbir Planı" hazırlamakla yükümlüdür. Gıda işletmelerinde çalışan personelin Covid-19 testinin pozitif çıkması veya belirtileri göstermesi halinde "Acil Eylem Planı"na hayata geçirecek bir "Kriz Yönetim Ekibi" oluşturulmalı ve gerekli prosedürler yerine getirilmelidir [9].

BİRİNCİL ÜRETİM VE İLGİLİ FAALİYETLER İÇİN GENEL HİJYEN KURALLARINA İLK KEZ GETİRİLEN ŞARTLAR

Coronavirus pandemisi ile mücadele sürecinde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından "*Çiftçilere yönelik Coronavirus tedbirleri*" yayınlanmıştır [24]. Buna göre; tarımsal faaliyet öncesi, el hijyenine dikkat edilmesi, tarımsal üretim ve faaliyetler sırasında sosyal mesafe kuralına dikkat edilmesi, çalışanlar arasına en az 2 metre mesafe koyulması kuralına uyulmasının sağlanması, öksürük-yüksek ateş-kas ağrısı gibi şikâyetleri olan kişilerle yakın temastan kaçınılması, bu

kişilerin hızlıca en yakın sağlık kuruluşuna başvurularının sağlanması gerektiği belirtilmiştir. Bununla birlikte çalışma süresi boyunca ellerin ağız-göz-burun ile temasının olmaması, asla sigara içilmemesi, sera-ağıl-ahır gibi kapalı faaliyet alanlarının sık sık havalandırılması, hayvanların temizliğine özen gösterilmesi, ürünlerin işlenmesi, taşınması sırasında kullanılan tüm alet-ekipmanların temizliğine her zamankinden fazla dikkat edilmesi, alet-ekipmanların her kullanımdan sonra dezenfekte edilmesi, ortak alet ve makineler kullanılır iken mutlaka koruyucu eldiven ve maske takılması, tek kullanımlık maske-eldiven vb. eşyaların poşete koyularak çöpe atılması, faaliyetten sonra iş kıyafetlerinin temizlenerek korunaklı bir yerde tutulması, dışarıda giyilen kıyafetlerin değiştirilmesi ve 60°C'de normal deterjanla yıkanması, eve girer girmez ellerin su ve sabunla en az 20 s olarak yıkanması, tabak-bardak-havlu vb. eşyaların kesinlikle ortak kullanılmaması ve evin mümkün olduğunca sık sık havalandırılması gerektiği belirtilmiştir [12, 13, 15, 17, 20, 22].

PAZAR YERLERİ İÇİN COVID-19 TEDBİRLERİ

Coronavirus salgınına karşı alınan tedbirler kapsamında pazar yerlerinde de önlemler artırılmış, pazar yerlerinin tüm giriş ve çıkışlarının kontrol altına alınması sağlanmıştır. Büyükşehir Belediyeleri tarafından seyyar satıcılar kayıt altına alınarak, tek tip araç ve kıyafetlerinin standartları belirlenmiştir. *Coronavirus* Salgını ile Mücadele Kapsamında Pazar/Satış Yerleri İle İlgili İç İşleri Bakanlığı tarafından 27.03.2020 tarihinde Ek Genelge [25] yayınlanmıştır. Buna göre; mevcut pazar yerlerinde ve yoğunluğu dağıtmak için belirlenen yeni pazar/satış yerlerinde her bir satış yeri (tezgah/sergi) arasında en az 3 metre mesafe olacak şekilde pazar/satış yerlerinin düzenlenmesi, pazar/satış yerlerinde ambalajsız satılan yaş sebze ve meyvelerin tüketicilerce temas edilmeden, doğrudan pazarcı esnafı tarafından hijyen koşullarına dikkat edilerek poşetlenmesi/satışının yapılması, pazar/satış yerlerinde görevlendirilecek zabıta memurları tarafından sürekli kontrol edilmesi, pazarcı esnafı kişisel hijyen kurallarına uyması konusunda uyarılarak koruyucu önlemleri alınması (maske, eldiven, bone vb.), bu hususun belediye zabıtası ve ilgili esnaf odaları tarafından denetlenerek gerekli işlemlerin yapılması, pazar yerleri/satış yerlerinde pazar esnafı ve vatandaşlar için belediyelerin el dezenfektanı konusunda destek olması, belediyelerce pazar/satış yerlerinde çöp toplama, hijyen ve dezenfeksiyon hususunda gerekli tedbirlerin alınması yönünde gereklilikler bildirilmiştir.

BİRİNCİL ÜRETİM VE İLGİLİ FAALİYETLER HARIÇ GENEL HİJYEN KURALLARINA İLK KEZ GETİRİLEN ŞARTLAR

Gıda işletmelerinin genel hijyen şartları, faaliyet gösterdikleri süre boyunca zaten yapılması gereken uygulamalardır. Covid-19 salgının önlenmesi için yayınlanan ek tedbirler doğrultusunda rutin hijyen şartları revize edilmelidir. Bu bölüm, rutin genel hijyen kuralları ile birlikte Covid-19 ile mücadelede alınması

gereken tedbirlerle ilgili genel esaslar ve kurallar dikkate alınarak hazırlanmıştır [7, 9, 10, 13, 20, 26, 27].

İŞLETME İÇİ SALGIN TEDBİR PLANI ZORUNLULUĞU

Covid-19 salgınına yönelik küresel ölçekte yeni tedbirler alınmaya başlanmıştır [13, 17, 21, 23, 26]. Bu kapsamda ülkemizde tüm işletmeler için temizlik/hijyen uygulamaları ve süreçleri ile personel, müşteri, misafir vb giriş-çıkış yapan kişilerde hasta-belirtili-şüpheli durumların varlığı ve acil hallerde ulaşacak veya yönlendirilecek kişi/kurumları, hastalık belirtileri gösteren kişilere yaklaşım ve alınacak önlemleri kapsayan “*İşletme İçi Salgın Tedbir Planı*” [9, 10] hazırlanması zorunlu kılınmıştır. Gıda işletmelerinin genel hijyen uygulamaları yanında salgın ile mücadelede alınması gereken tek tedbirler olarak; İşletmenin tamamı sosyal mesafe planına uygun olarak düzenlenmeli, sıra oluşturulabilecek her yerde en az 1.5 metre ara ile sosyal mesafe işaretlemeleri yapılmalı, işletmede asansör kullanılıyor ise, asansör içine 1’er metre ara ile mesafe yer işaretleri yapılarak, toplam kapasitenin üçte birini geçmemek kaydıyla kapasite belirlenerek yazılı/görsel bilgilendirme yapılması zorunluluğu getirilmiştir. Ortak kullanım alanlarında temas veya damlacık yoluyla bulaşmaların önlenmesi için işletmelerin faaliyet öncesi, mola sonrası ve faaliyet bitiminde temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin uygulaması, kayıt altına alınması, ortak alanlarının sık sık havalandırılması, ürünlerin işlenmesi, taşınması sırasında kullanılan tüm alet-ekipmanların her kullanımdan sonra mutlaka dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Ayrıca işletmede çalışan tüm personelin mesai kayıtlarının tutulması, girişlerde ateş ölçümlerinin yapılarak kaydedilmesi, ortak alet ve makineler kullanılır iken mutlaka koruyucu eldiven ve maske takılması zorunlu hale getirilmiştir [9, 11, 16, 17].

SALGIN TEDBİR PLANINDA YER ALMASI GEREKEN GENEL HUSUSLAR

Covid-19 İle Mücadelede 3 Altın Kuraldan Biri: Maske Kullanımı

Covid-19’un, enfekte bir kişinin saçtığı solunum damlacıkları ile temas edildiğinde kolayca yayılabilmesi nedeni ile sosyal mesafe ve hijyen kuralına uymakla beraber yüz maskesi kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Kullanılacak maskenin teknik özellikleri “*Solunum Yoluyla Bulaşabilecek Mikroorganizmalara (Bakteri, Maya-Küf, Virüs) Karşı Korumaya Uygun Olmalıdır*”. Bu kriterler arasında; TS EN 14683 standardı, CE deklarasyon beyanı, filtreleme özelliği, hijyenik, antialerjik ve kokusuz özellikte olması, hava geçirgen ve sıvı geçirmeyen özellikte olması, tüm ağız ve burnu kapatacak biçimde olması, elyaf ihtiva etmemesi, ISO 13485 “CE İşaretlemesi kapsamında üretim kalite güvencesi modülünün seçilmesi halinde firmaların kurması gerekli olan bir kalite yönetim sistem belgesi”, maskenin burun üzerine gelen kenarında tel destek bulunması, kolay tüylenmemesi, maskede en az 3 adet pli ve üç katlı olması, tüm dikişlerin ultrasonik olması, iplik dikışı olmaması sayılabilir [18, 20, 27].

Sosyal Mesafe Kuralı

İşletme yetkilileri, tüm işletme sahasında sosyal mesafe önlemlerini almakla yükümlüdür. İşletmeye girebilecek kişi sayısını (personel, teslimat işçileri, müşteriler) sınırlandırılması ve kayıtlarının tutulması, soyunma odalarında, yemekhanede, servislerde, sosyal mesafenin korunması için gerekli önlemlerin alınması sağlanmalıdır. Yemek yenilen alanlara belli sayıda personel alınmalı, oturma düzeninin en az 1.5-2 metre aralıklarla olmasına dikkat edilmelidir. Aynı anda yemek yiyecek çalışanların mesafeli oturabileceği şekilde bir düzen kurulması veya çalışanın her gün aynı masaya oturmasını sağlayacak numaralandırma sistemi vb uygulamalara geçilmelidir. Az sayıda insanın mesafe kuralına uygun yemek yemesi ve büyük işletmelerde farklı ekiplerin birbirini görmemesi için yemek saatleri buna göre gerekirse uzatılmalı, ekipler arası ve yemek sonrası masalar ve dokunulan alanlar dezenfekte edilmelidir [5, 9, 10, 20].

Personel Hijyeni

Coronavirus pandemisi ile mücadelede, tüketime sunulan gıda maddelerinin tekniğine ve hijyenik koşullara uygun şekilde üretilmesinde, dağıtımında, muhafazasında ve tedarikinde, personel hijyen uygulamaları hayati önem arz etmektedir. *Coronavirus*, insandan insana damlacık veya temas yolu ile bulaştığı için, el hijyeni bir kere daha önem kazanmıştır. Çalışan bütün personelin ellerini sık sık su ve sabunla en az 20 sn olarak iyice yıkamasının sağlanması, mutlaka maske kullanılmasının sağlanması, çalışanlardan herhangi birinin *Coronavirus* belirtilerinden birini göstermesi durumunda çalıştırılmaması ve filyasyon takibinin yapılması gerekmektedir [6, 12, 13, 16, 20, 21]. Personele yönelik hijyen eğitim sıklığının artırılması, soyunma odalarında, yemekhanede, servislerde, sosyal mesafenin korunması için gerekli önlemleri alınması sağlanmalıdır Gıda İşletmelerinde çalışan herkes, ilgili işletme kapısından içeri giren çalışan, taşeron, nakliyecisi, servis sağlayıcı, ziyaretçi veya herhangi bir nedenle işletmeye giren devlet görevlisi dâhil herkesin, basit bir formla sağlık/seyahat anket kaydı tutulmalı ve dijital termometre ile ateşi ölçülmelidir. Gıda işletmelerinde tedarikçiler dahil tüm giren-çıkan kişilerin kontrol ve gerekli kayıtların yapılması hayati önem kazanmaktadır [9,10,26].

Temizlik-Dezenfeksiyon

El temasının yoğun olduğu tüm noktalarda dezenfeksiyon sağlanması (uygun olan yüzeyler için 1/100 oranında çamaşır suyu ile) işletmedeki her bölümün temizlik-dezenfeksiyon işlemlerinin saatlerinin kayıt altına alınması ve görünür şekilde asılması gerekmektedir. İşletme girişinde dezenfektan bulundurulacak, işletme giriş ve ıslak zemin mekanlara çıkan kapılar hariç iç mekan kapıları sensörlü değilse mutlaka açık bulundurulmalıdır. İşletmenin her tedbir alanı “*İşletme İçi Salgın Önleme Tedbir Planı*”na uygun olmalı, günlük/periyojik izleme formları ve kontrol listeleri hazırlanmalıdır. El temizleme lavabolarında yeterli sayıda dezenfektan, el yıkama broşürü, işletme

girişlerinde dezenfektanlı paspas ve el dezenfektanı bulundurulmalıdır [9, 10, 11, 13].

Havalandırma Koşulları

İşletme içinde Covid-19 tedbirleri kapsamında vantilatör kullanımı yasaklanmıştır. İşletmenin %100 temiz havanın sirkülasyonunu sağlayacak şekilde havalandırma yapılmalıdır. Merkezi havalandırma sistemleri bulunan iş yerlerinin havalandırması temiz hava sirkülasyonunu sağlayacak şekilde düzenlenmeli, havalandırma sistemlerinin bakımı ve filtre değişimleri üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmalıdır. Dış mekâna açılan pencerelerde kolay temizlenebilen sineklikler kullanılmalıdır. Tavanlar kir birikmesine, nem yoğunlaşmasına ve küflenmeye izin vermeyecek yapıda olmalı, periyodik olarak bakımları yapılmalı, tavan yüksekliği havalandırmaya uygun olmalıdır. Bulaşık alanından temiz alana mekanik hava akımının önlenmesi şeklinde iş akışı sağlanmalıdır. Havalandırma sisteminin filtrelerin temizliği, bakım-onarımı periyodik olarak yapılmalıdır [9, 10].

Atık Yönetimi

Gıda atıklarının Gıda Hijyen Yönetmeliği Madde 15’de belirtildiği şekilde uzaklaştırılması gerekir [7] Drenaj sistemi, bulaşma riskini önleyecek şekilde oluşturulmalı, dışkı ile çevre kirlenmesinin önlenmesi için standart önlemler alınmalı, yeterli sayı ve boyutta drenaj kanalı bulundurulmalı, atık su kanalları zararlı girişine, koku yayılmasına ve atıkların kanaldan geri dönüşüne karşı güvenilir, temizlenebilir ve dezenfekte edilebilir olmalıdır. Çapraz bulaşmalara sebebiyet vermemesi açısından atıkların faaliyet alanından uzaklaştırılması önemlidir. Atıkların gıda maddelerinin bulunduğu mekânlardan yığılma olmaksızın uzaklaştırılması, üzerleri örtülebilen kaplar içinde toplanması, ağız açık şekilde bırakılmaması vardiya sonlarında veya işyeri mesaisi bitiminde atık kapların boşaltılması ve temizlenmesi, atıklar uzaklaştırılırken, gıda maddelerinin sevkiyatının yapılmaması, atık depoları, periyodik olarak temizlik ve dezenfeksiyona tabii tutulması rutin uygulanması gereken işlemlerdir. *Coronavirus* pandemisinde atık yönetimi (tıbbi, evsel, diğerleri) sağlık ve çevre üzerindeki olası ikincil etkileri en aza indirmek için önemlidir. Böyle bir salgın sırasında, maskeler, eldivenler, diğer koruyucu ekipmanlar tehlikeli atık oluşturabilmektedir. Kontamine maskeler, eldivenler, kullanılmış veya süresi dolmuş ilaçlar ve diğer maddeler gibi tıbbi atıklar işletmenin çöpüyle kolayca karışabilir. Bu nedenle tüm bunlar tehlikeli atık gibi işlem görmeli ve ayrı olarak atılmalıdır. Bu atıklar, diğer atıklardan ayrı olarak ve belediye veya atık yönetimi uzman operatörleri tarafından toplanması sağlanmalıdır. Atık prosedürünü uygulayan personelin kişisel koruyucu ve ekipmanları olmalı, kaplarla veya torbalarla doğrudan temastan kaçınmalı, sık sık ellerin yıkanması konusunda uyarılarda bulunulmalıdır [9, 29, 30].

Yemek Servisleri

Salata bar varsa iptal edilerek, salata, soslar, yağ, sirke, tuz, karabiber vb ek sunumlar çeşit sayısı düşürülerek

servis tezgâhında aşçılar tarafından dağıtılması, ekmeklerde ve çay kahve servislerinde paketli ürünlere geçilmesi, yemekhane girişlerine dezenfektan aparatı monte edilmesi ve kullanımın sağlanması, toplu bulunan kaşık, çatal ve bıçakların kâğıt keselere koyulup, görevli servis personeli tarafından tepsilere yerleştirilip verilmesi, çalışanların yakın temasta bulunmaları ve ekipman, araç, gereçlerin ortak kullanımının önlenmesi ve aynı anda yemek yiyen çalışan sayısının azaltılması zorunlu hale getirilmiştir [9, 10, 11, 31, 32, 33].

SALGIN HASTALIKLARIN ÖNLENMESİNDE GÜVENLİ SU TEMİNİ

Coronavirus salgını da dahil olmak üzere tüm bulaşıcı hastalık salgınları sırasında insan sağlığının korunması için güvenli su, sanitasyon ve hijyenik koşulların sağlanması esastır. Mevcut kriterlere (su içilebilir nitelikte olmalı, ısıtma, soğutma vb yerlerde, prosete kullanılan suların bulaşma riski taşımaması gibi kriterler) ek olarak, DSÖ tarafından 3 Mart 2020’de “*Coronavirus İçin Su, Sanitasyon, Hijyen ve Atık Yönetimi*” konusunda yayınlanan kılavuzda [29] belirtilen hususların göz önünde bulundurularak işletmede kullanılan suyun sağlıklı ve güvenilir olması sağlanmalıdır. Bu kılavuzda özellikle “Wash” (sık el yıkama ve uygun el hijyeni) uygulamalarının enfeksiyonu önlemede en etkili yöntem olduğu vurgulanmış, su ve sanitasyon hizmetlerinin salgının önlenmesinde faydalı olacağı belirtilmiştir. Covid-19 virüsünün dışkı ile kontamine sularda günlerce haftalarca bulaşıcı kalabileceğini gösteren laboratuvar çalışmaları nedeni ile su güvenliğini sağlamaya yönelik merkezi su arıtma yöntemleri *Coronavirus*’u inaktive edecek şekilde kurulmalıdır. Virüslerin inaktivasyonu için, ultraviyole ışığı veya klorlama ve diğer dezenfeksiyon işlemlerinden biri uygulanabilir. Klorlama yolu ile dezenfeksiyon işleminin etkili, olabilmesi için, serbest klor konsantrasyonunun ≥ 0.5 mg/L olarak uygulanması ve bunun da pH < 8.0’da en az 30 dakika süre ile temas ettirilmesi gerekmektedir [34, 35]. Merkezi su arıtma ve güvenli borulu su kaynaklarının bulunmadığı yerlerde, yüksek performanslı ultra-filtrasyon veya nano-membran filtreler, güneş ışınları, suyun kaynatılması, bulanık olmayan sularda UV veya serbest klor dozlaması uygulamalarının virüsün gelişimini önlemede etkili olduğu belirtilmiştir. DSÖ kapalı hat üzerinden drenajların sağlanması ve geri akış vanaları bulunan sistemlerin kullanılmasını önermektedir. Sıhhi tesisattaki ve havalandırma sistemindeki zayıflık Hong Kong’ta 2003 yılında yüksek katlı binadan ARS korona virüsünün yayılmasına neden olmuştur. Covid-19 virüsünün yüksek katlı binalarda arızalı tuvaletlerden yayılması konusunda da benzer kaygılar dile getirilmiştir [36, 37]. Evlerde, okullarda, pazar yerlerinde ve sağlık tesislerinde iyi ve sürekli olarak uygulanan WASH ve atık yönetimi uygulamalarının hayata geçirilmesi, *Coronavirus*’un insandan insana bulaşmasını önlemeye yardımcı olacaktır.

COVID-19'UN YAYILIMI, GIDA VEYA GIDA AMBALAJINDAN İNSANA GEÇMESİ

Ülkemizde 21 Aralık 2020 tarihi itibari ile toplam vaka sayısının 2.043.704, toplam vefat edenlerin 18.351 kişiye ulaştığı Covid-19 pandemisinin hızla yayılımında; Hasta bireylerin öksürmeleri, aksırmaları ile ortama saçılan damlacıkların solunması, Saçılan damlacıkların yüzeye teması, Kirlenmiş yüzeylere temas edilmesi ve ellerin yıkanmadan yüz, göz, burun veya ağıza götürülmesi etkili olmaktadır.

Hastalığın seyirinde belirtisiz olgular olabileceği bildirilmekle birlikte, en çok karşılaşılan belirtiler ateş, öksürük, halsizlik, kas ve kemik ağrıları ve nefes darlığıdır. Şiddetli olgularda zatürre, ağır solunum yetmezliği, böbrek yetmezliği ve ölüm gelişebilmektedir [3,4, 20, 22, 27]. Covid-19 pozitif kişinin öksürdüğünde veya hapşırduğunda ortaya çıkan damlacıklar gıda ambalajına bulaşması halinde, yüzeyde canlı kalma süresine bağlı olarak (3 saatten 72 saate kadar) [1, 11, 15, 17, 21, 30, 34] yayılmayı sağlamaktadır. Bu nedenle gıda paketleme materyalleri yolu ile viral dahil tüm mikrobiyal bulaşma riskini azaltmak için ambalaj malzemelerinin hijyenik koşullarda muhafaza edilmesi, personelin kişisel hijyen kurallarına ve maske kullanımına azami ölçüde dikkat göstermesi büyük önem taşımaktadır.

Pandemi sürecinde DSÖ ve ABD Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) tarafından yapılan açıklamalarda Covid-19'un gıdadan veya gıda ambalajlarından insana geçmesinin çok düşük bir ihtimal olduğu bildirilmiştir [27, 35]. Ancak Çin'de bugüne kadar 7 bölgede ithal edilen **gıda ürünlerinin paketlerinde** koronavirus tespit edildiği rapor edilmiştir. Bunlardan birisi de Longgang eyaletine bağlı Shenzhen kentine Brezilya'dan ihraç edilen donmuş tavuk kanatlarından test için alınan örneklerde koronavirus tespitidir. Bu vakanın ilginç başka bir tarafı da Shenzhen sağlık yetkililerinin yaptığı açıklamaya göre virüse rastlanan ürünler ile temas kuran kişilerde yapılan tüm testlerin negatif çıktığıdır. *Coronavirus'a* tavukların üst yüzeyinden alınan örneklerde rastlandığı açıklanırken, diğer kentlerde görülen *Coronavirus* pozitif örneklerin deniz ürünlerini içeren paketlerin dış yüzeyinde görüldüğü bildirilmiştir [38]. İnsanlar ve hayvanlar üzerinde etkili olan virüslerle ilgili daha önce yapılmış çalışmaları inceleyen araştırmacılar, virüsün birçok yüzeyde 9 güne kadar canlı kalabildiğini, örneğin cam ve banknotlarda 4. güne kadar, paslanmaz çelik ve plastikte 7. güne kadar bulunduğu ancak bulaşıcı etki yaratmadığını, %62-71 etanol veya %0.5 hidrojen peroksit veya %0.1 sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyon işlemi ile 1 dakika içinde etkili bir şekilde inaktive olabildiğini belirtmişlerdir [26, 35].

GIDALARA UYGULANAN ISIL İŞLEMİN VİRÜSÜN İNAKTİVASYONUNDAKİ ETKİSİ

Herhangi bir bakteri veya virüsün etkinliği için sıcaklık ve zaman önemli bir faktördür. Isıl işlem, çeşitli bulaşıcı ajanların özellikle virüslerin inaktivasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda ve İlaç Dairesi 27.02.2020

tarihli bildirisinde yeni tip koronavirusun gıda ya da gıda ambalajı yoluyla bulaşabileceğini gösterir bir bilginin olmadığını, ancak iyi hijyen uygulamalarının sağlanmasının bütün hastalıklardan korunmada her zaman önemli olduğunu bildirmiştir [26]. DSÖ, 21.02.2020 tarihli raporunda Covid-19'un etkeni olan SARS-CoV-2 virüsünün gıda aracılığıyla bulaştığına dair bir kanıtın olmadığını, fakat benzer virüslerin ve bu virüsün de hayvansal kaynaklı çığ gıdalarda bulunabileceği konusunda şüpheler olduğunu ifade etmiştir [28, 38]. Sağlık Bakanlığının Covid-19 Salgın Yönetimi Rehberinde virüslerin tahrip olması için 65 derecelik sıcaklığın yeterli olacağı belirtilmiştir. Bu nedenle gıda işleme prosesinde uygulanan ısıl işlemde kullanılan pastörizasyon, ultra yüksek sıcaklık/UHT veya sterilizasyon gibi yöntemlerin tekniğine uygun olarak yapılması durumunda, virüsün inaktivasyonunu sağlamada yeterli olacağı görülmektedir [9,18, 39]. Gıda Hijyen Yönetmeliğinin [7] 18. maddesinde yer alan "Gıdalara Uygulanabilen Hükümler" başlığı atındaki tedbirlere uyulması ile çapraz bulaşmaların önlenmesi sağlanmış, dolayısı ile virüsün ısıl işlem sonrası ürün güvenliğinde problem yaratması önlenmiş olacaktır.

SONUÇ

Covid-19 salgınına karşı işyerlerinde etkin mücadele için "*İşletme İçin Salgın Tedbir Planı*" [9] zorunlu hale getirilmiş olup, salgın yönetimi çerçevesinde yapılan resmi denetim ve kontrollerde uygunsuzluğun niteliğine göre idari yaptırımlar uygulanmaktadır. Ancak sürecin yönetilmesinde işyerlerinin maske, sosyal mesafe, hijyen kuralları başta olmak üzere Covid-19 ile mücadelede henüz yeterince bilgi ve bilinç düzeyinin oluşmadığı, vaka sayılarının beklentiler yönünde azalmaya geçemeyişi nedeni ile bu konuda daha fazla eğitim ve denetimlerin yürütülmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Gıda işletmelerinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik tehlikeler dikkate alınarak bulaşma kaynakları kontrol altına alınabilir, hammaddeden gelen problemler veya genel hijyen kurallarına uyulmaması sonucu oluşan gıda kaynaklı enfeksiyonlar önenebilir" [40].

Gıda sektöründe gıda güvenliği ve Covid-19'un yayılmasını sınırlandırmak için her adımda ek hijyen tedbirlerinin alınması zorunludur. Gıda hizmetleri ve perakende sektörü resmi otorite onaylı dezenfektanlar kullanmalı, el hijyeni ve işletme personelinin ve tüm tedarikçilerin sağlığını takip etmelidir [11, 15, 20, 21]. Gıda işletmeleri yetkilileri ve çalışanları tarafından temel enfeksiyondan korunma ve kontrol ilkelerinin yerine getirilmesi hayati önem taşımaktadır. Çin'de görülen Yeni *Coronavirus* (Covid-19) hastalığı sebebi ile gıda işletmesinde kapıdan girişten itibaren bulaşma riskleri göz önüne alınarak gerekli tüm tedbir ve önlem yolları alınması her zamankinden daha çok önem arz etmektedir [26, 27, 28, 31]. İş sağlığı ve güvenliği kurulunun bulunduğu işyerlerinde kurul tarafından, diğer işyerlerinde ise işveren veya vekili yönetiminde, bulunması halinde işyeri hekimi, iş güvenliği uzmanı ve diğer sağlık personeli ile çalışan temsilcisi ve mümkünse ilk yardım eğitimi almış/tecrübesi olan kişilerden oluşan ekip tarafından "Acil Durum Planı ve Risk

Değerlendirmesi” yapılırken, sağlık hizmeti sunan işyerlerinde, İş Sağlığı ve Güvenliği Kurulu bulunması halinde “Enfeksiyon Kontrol Komiteleri” ile işbirliği içerisinde faaliyetlerini yürütmesi gerekmektedir. Gıda işletmelerinde temizlik-hijyen standartları en yüksek seviyeye çıkartılarak ve Covid-19’a yönelik ek önlemlerin alınması ile pandemi sürecinin etkin kontrolü sağlanmış olacaktır. Resmi kurumlar tarafından yapılan denetim ve kontrollerde tespit edilen eksikliklerin giderilmesi için Belediye, Tarım ve Orman İl/İlçe Müdürlükleri, İl/İlçe Halk Sağlığı Müdürlükleri, Emniyet Müdürlüğü gibi kamu kurum ve kuruluşları ile gerekli işbirliği sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] Akgül, Ö. (2020). SARS-CoV-2/COVID-19 pandemisi. *Tıp Fakültesi Klinikleri*, 3(19), 1-4.
- [2] Cui, J., Li, F., Shi, Z.L. (2019). Origin and evolution of pathogenic *Coronaviruses*. *Nature Reviews Microbiology*, 171 (3), 81-192.
- [3] GH, (2020). Gıda hattı: 6 farklı korona virüs tespiti belirlendi, hangisi ne kadar hasta ediyor? <https://www.gidahatti.com/6-farkli-korona-virus-tipi-belirlendi-hangisi-ne-kadar-hasta-ediyo-171964/> (Erişim Tarihi: 19.07.2020)
- [4] TMC, (2020). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derneği, Yeni koronavirüs hakkında bilgiler. https://www.tmconline.org/Uploads/Editor/files/Yeni_Coronavirüs_Hakkında_Bilgiler-4_Subat_2020.pdf (Erişim Tarihi: 19. 04.2020).
- [5] Anonim, (2020a). Covid-19 kapsamında kamu kurum ve kuruluşlarında normalleşme ve alınacak tedbirler. 29 Mayıs 2020 tarih ve 31139 sayılı Resmi Gazete. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2020/05/20200529M1-1.pdf> (Erişim Tarihi: 15.08.2020).
- [6] Anonim, (2010). Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu, Kanun No: 5996, Kabul No: 11/06/2010. Resmi Gazete Sayısı: 27610. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2010/06/20100613-12.html> (Erişim Tarihi: 26.09.2017).
- [7] Anonim, (2011a). Gıda hijyen yönetmeliği. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111217-5.htm> (Erişim Tarihi: 15.02.2013).
- [8] Anonim, (2020b). Covid-19 Yeni Koronavirüs Hastalığına Karşı 14 Kural. <https://covid19bilgi.saglik.gov.tr/tr/afis> (Erişim Tarihi: 10.06.2020).
- [9] Anonim, (2020c). Covid-19 Salgın yönetimi ve çalışma rehberi. Bilimsel Danışma Kurulu çalışması. <https://covid19.saglik.gov.tr/Eklenti/3870/0/0/Covid19salginyonetimivecalismarehberipdf.pdf> (Erişim Tarihi: 01.08.2020).
- [10] Anonim, (2020d). Tarım ve Orman Bakanlığı, Covid-19 tedbirleri. <https://www.tarimorman.gov.tr/Sayfalar/Detay.aspx?Sayfalid=52> (Erişim Tarihi: 08.06.2020).
- [11] Shahbaz, M., Bilal M., Moiz A., Zubair S.S., Iqbal H.M.N. (2020). Food safety and COVID-19: precautionary measures to limit the spread of Coronavirus at food service and retail sector. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(Special Edition), 1-8.
- [12] Zuber,S., Brüssow, H. (2020). COVID-19: Challenges for virologists in the food industry. *Microbial Biotechnology*, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13638>.
- [13] CCDC. (2020). Chinese Center for Disease Control and Prevention. Notes from the field: Reemergent cases of COVID-19-Xinfadi Wholesales Market, Beijing municipality, China, June 11, 2020. <http://weekly.chinacdc.cn/en/article/doi/10.46234/ccdcw.2020.132>. Accessed 2 Sept 2020.
- [14] Gabutti, G., d’Anchera, E., Sandri, F., Savio, M., Stefanati A. (2020). Coronavirus: Update Related to the Current Outbreak of COVID-19. *Infectious Diseases and Therapy*, 9, 241-253. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00295-5>.
- [15] Fraser, A. M., Pascall, M. A. (2010). Cleaning and sanitization of food-contact surfaces in retail/food service establishments. Available online at: <http://www.foodsafetymagazine.com>. [Last accessed: 6 April 6, 2020].
- [16] Dyal, J.W., Grant, M.P., Broadwater, K., Bjonk A., Waltenburg M.A., Gibbins J.D., et al. (2020). COVID-19 Among Workers in Meat and Poultry Processing Facilities-19 States, April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 69(18).
- [17] Olaimat A.N., Shahbaz H.M., Fatima, N., Munir, S., Holley R.A. (2020). Food Safety During and After the Era of COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1-6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01854>.
- [18] Oğur, S., Hayta, Ş., Bekmezci, H.D. (2020). Covid-19 Pandemisi sürecinde gıda güvenliği riskleri ve önlemleri, *Sağlık, Tarım ve Gıda*, 91-100. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/343714120>.
- [19] Anonim, (2020e). Tarım ve Orman Bakanlığı, Ekmek İçin Covid-19 Genelgesi. <https://www.tarimorman.gov.tr/Haber/4446/Tarim-Ve-Orman-Bakanligindan-Ekmek-Icin-Kovid-19-Genelgesi> (Erişim Tarihi: 03.12.2020).
- [20] WHO. (2020). World Health Organization. Coronavirus Disease (COVID-19) Pandemic. Geneva: WHO.
- [21] Aboubakr HA, Sharafeldin TA, Goyal SM (2020) Stability of SARSCoV- 2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: a review. *Transbound Emerg Dis* 0:1–17. <https://doi.org/10.1111/tbed.13707>.
- [22] Naserghandi, A., Allameh, S. F., and Saffarpour, R. (2020). All about COVID-19 in brief. *New Microb. New Infect.* 35:100678. doi: 10.1016/j.nmni.2020.100678.
- [23] Alkin, K. (2020). COVID-19 Küresel Virüs Salgınına Yönelik Senaryolar; Küresel Ölçekte Alınan Tedbirler. https://www.imsad.org/Uploads/Koronavirüs_Krizi_Etkileri_Dunyanin_Aldigi_Tedbirler_27.03.2020.pdf.
- [24] Anonim, (2020f). Tarım ve Orman Bakanlığı, Çiftçilere yönelik Covid-19 tedbirleri. <https://www.tarimorman.gov.tr/Sayfalar/Detay.aspx?Sayfalid=52> (Erişim Tarihi: 03.04.2020).

- [25] Anonim, (2020g). Koronavirüs salgını ile mücadele kapsamında pazar/satış yerleri ile ilgili ek genelge. <https://www.icisleri.gov.tr/koronavirüs-salgini-ile-mucadele-kapsaminda-pazar-satis-yerleri-ile-ilgili-ek-genelge>. (Erişim Tarihi: 03.07.2020).
- [26] FDA, (2020). U.S. Food and Drug Administration. Guidance for food businesses on *Coronavirus* (COVID-19). <https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-guidance-for-food-businesses/guidance-for-food-businesses-on-coronavirüs-covid-19> (Erişim Tarihi: 01. 09. 2020).
- [27] CDC, (2020). Centers for Disease Control and Prevention, *Coronavirus* disease 2019 basics. <https://www.cdc.gov/coronavirüs/2019-ncov/faq.html> (Erişim Tarihi: 10. 08.2020).
- [28] WHO, (2020a). Dünya Sağlık Örgütü, COVID-19 hastalığında maske kullanımına ilişkin öneriler. <https://www.ttb.org.tr/userfiles/files/WHO-maske.pdf> (Erişim Tarihi: 20. 09.2020).
- [29] WHO, (2020b). Dünya Sağlık Örgütü, Covid-19 için su, sanitasyon, hijyen ve atık yönetimi. <https://www.tarimorman.gov.tr/SYGM/Belgeler/Su%20ve%20Atksuda%20Koronavir%C3%BCs20.03.2020/WHO-COVID2019-TR-%C3%87EV%C4%B0R%C4%B0.pdf> (Erişim Tarihi: 10. 09.2020).
- [30] Anonim, (2020g). T.C. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Covid-19 hijyen malzeme atıkları genelgesi. <https://webdosya>.
- [31] Fonseca, C., Jorge, C., Reis, D., do Carmo, M. (2020). Pandemic tourism: the new era of catering sector after Covid-19. *An International Journal of Tourism and Hospitality Research*, 1-4, <https://doi.org/10.1080/13032917.2020.1851092>.
- [32] Anonim, (2020e). Aile, Çalışma ve Sosyal Hizmetler Bakanlığı, Yeni Koronavirüs (Covid-19) salgınına karşı işyerlerinde etkin mücadele için alınması gereken tedbirler. https://www.ailevecalisma.gov.tr/media/41159/isyerlerinde_koronavirüs_covid19_karsi_alinan_onlemler.pdf (Erişim Tarihi: 21.07.2020).
- [33] Anonim, (2012). İş Sağlığı ve Güvenliği Kanunu. 30/6/2012 tarih ve 28339 sayılı Resmi Gazete. <https://www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.6331.pdf> (Erişim Tarihi: 01.08.2020)
- [34] Chin, A.W.H, Chu, J.T.S., Perera, M.R.A., Hui, K.P.H., Yen, N., Chan, M.C.W., Peiris, M., Poon, L.L.M. (2020). Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*, 1 (e10). <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S2666-5247%2820%2930003-3> (Erişim Tarihi: 25. 09. 2020)
- [35] Kampf, G., Todt, D., Pfaenders, S., Steinmann, E. (2020). Persistence of *Coronaviruses* on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection*, 104 (3), 246-251.
- [36] van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G., Gamble, A., Williamson, B.N., Lloyd-Smith, J.O. (2020). Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *The New England Journal of Medicine*, 382(16), 1564-1567.
- [37] Kaiser, J. (2020). Can you catch COVID-19 from your neighbor's toilet? <https://www.sciencemag.org/news/2020/09/can-you-catch-covid-19-your-neighbor-s-toilet>. (Erişim Tarihi: 03. 12. 2020)
- [38] Reuters, 2020. Coronavirus contaminated chicken came from Brazil's Aurora, Chinese local government says. <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-brazil-china-idUSKCN25922T> (Erişim Tarihi: 01. 12.2020)
- [39] Özçakmak, S., Var, I. (2020). Yasal mevzuat çerçevesinde gıda güvenliği. 144. 2. Baskı: Mart, 2019, ISBN: 6055267506, Savaş Yayınları, Çankaya, İzmir. 144s.

Akademik Gıda Dergisi Yazım Kuralları

Akademik Gıda dergisi gıda bilimi ve teknolojisi alanında hazırlanmış özgün araştırma ve derleme makalelerin yayınlandığı **hakemli** bir dergidir. Araştırma notu, mini derleme, görüş ve editöre mektup gibi yazılar da yayın için değerlendirilir. Dergi 3 ayda bir basılmakta olup 4 sayıda bir cilt tamamlanır. Dergide Türkçe ve İngilizce makaleler yayınlanır.

Akademik Gıda dergisinde yayınlanması istenen çalışmalar derginin www.academicfoodjournal.com web sayfasında bulunan elektronik makale gönderim sistemi üzerinden gönderilmelidir. E-posta ile gönderilen makaleler değerlendirilmeyecektir. Elektronik makale gönderim sistemi ile ilgili sorularınız için ogursoy@yahoo.com e-posta adresinden editörlere irtibata geçebilirsiniz.

- Gönderilecek çalışmanın dergide hangi tür makale olarak (Araştırma Makalesi, Derleme Makale, Araştırma Notu, Mini Derleme, Görüş ve Editöre Mektup) yayınlanması istendiği yazar(lar) tarafından mutlaka belirtilmelidir.
- Yazar(lar) tarafından çalışmayı değerlendirebileceği düşünülen ve yazar(lar)la çıkar çatışması/çakışması olmayan en az 3 potansiyel hakem iletişim bilgileri de (yazışma adresi, e-posta ve telefon numarası) verilerek önerilmelidir. Önerilecek hakemler yazarın kendi kurumu dışından olmalıdır.
- Gönderilecek çalışmalar yazım ve imla hataları içermemelidir. İngilizceden Türkçeye tercüme edilen teknik terimler "Gıda Mühendisliği Teknik Terimler Rehberi"nde [Gıda Mühendisleri Odası, Kitaplar Serisi No: 17, Filiz Matbaacılık, Ankara, 232s, ISBN: 978-9944-89-407-4] tavsiye edilen şekliyle kullanılmalıdır.
- Gönderilen çalışmaların daha önce hiç bir yerde yayınlanmadığı yazar(lar) tarafından garanti edilmelidir.
- Yayın Kurulu yayına kabul edilmiş çalışmalarda gerekli değişiklikleri yapmaya yetkilidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Yayımlanmak üzere Akademik Gıda dergisine gönderilen çalışmalar öncelikle Editörlerin ön incelemesinden geçmektedir. İlk incelemeyi geçen çalışmalar, değerlendirilmek üzere en az iki bağımsız hakeme gönderilmektedir. Çalışmaların değerlendirilmesinde hakemlerin makale yazar(lar)ını, makale yazar(lar)ının hakemleri görmediği çift-kör (double-blind) değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Editörler (i) dergi kapsamı dışında olan, (ii) teknik açıdan yetersiz, (iii) kendi içerisinde bütünlük ve

tutarlılık arz etmeyen sonuçlar içeren veya (iv) kötü yazılmış çalışmaları doğrudan reddetme hakkına sahiptir.

Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makale yayınlanması için herhangi bir ücret talep edilmemektedir.

Etik Beyanı

Dergi yayın politikası, makalelerin değerlendirilmesi ve etik hususlar ile ilgili detaylı bilgilere Etik Beyanı kısmından ulaşılabilir.

Çalışmaların Hazırlanması

1. Çalışmalar A4 boyutunda hazırlanmalı, üstten 2.45 cm, alttan 2.45 cm, sağ ve soldan 1.75 cm boşluk bırakılmalı ve tek kolon olarak hazırlanmalıdır. Metin çift satır aralıklı yazılmalı, paragraflar arasında tek satır boşluk bırakılmalıdır. Metinde bütün satırlar (sürekli) numaralandırılmalıdır.

2. Çalışma başlığı 14 punto Arial, koyu, küçük harflerle ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılmalı (11 punto); yazar isimleri (yalnızca ilk harfler büyük) 10 punto Arial ve ortalanmış olarak verilmelidir. Yazarların adresleri, telefon ve faks bilgileri ile yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi hemen alt satırda 9 punto Arial, ilk harfler büyük olacak şekilde ve ortalanmış olarak yazılmalıdır. Yazarların çalıştıkları kuruluşlar (ve/veya adresler) farklı ise her bir yazar isminin sonuna rakamlarla üst indis konulmalıdır.

3. Metin içindeki kısımların başlıkları (ÖZ, ABSTRACT, GİRİŞ vb.) 10 punto Arial ve koyu olarak büyük harflerle yazılmalı, başlıktan sonra bir satır boşluk bırakılarak metine geçilmelidir. Alt başlıklarda ilk harfler büyük, 10 punto Arial ve koyu yazı karakteri kullanılmalıdır. ÖZ'ün altına bir satır boşluk bırakıldıktan sonra en fazla 5 adet Anahtar Kelime konmalıdır. Anahtar Kelimelerden sonra bir satır boşluk bırakılarak İngilizce başlık ve altına ABSTRACT ve Keywords yazılmalıdır. Bir satır boşluk bırakılarak ana metine geçilmelidir.

4. Ana metin 9.5 punto Arial olarak hazırlanmalıdır.

5. Çalışma başlıca şu kısımlardan oluşmalıdır: Başlık, Yazar İsimleri, Adresleri, İletişim Bilgileri, Yazışmalardan Sorumlu Yazarın E-posta adresi, Öz,

Abstract, Ana Metin (Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular ve Tartışma, Sonuç), Teşekkür (gerekliyse), Kısaltmalar (gerekliyse), Kaynaklar.

6. Öz ve Abstract 250 kelimeyi geçmemeli, çalışmanın amacını, metodunu ve önemli sonuçlarını içermelidir. Öz tek paragraf olarak yazılmalı ve öz içinde kaynaklara atıf yapılmamalıdır.

7. Çalışma içerisinde geçen mikroorganizma isimleri ile Latince ifade ve isimler italik olarak yazılmalı ve kısaltmalarda uluslararası yazım kuralları göz önünde bulundurulmalıdır.

8. Tablo başlıkları tablonun üstüne, şekil başlıkları ise şeklin altına yazılmalı ve numaralandırılmalıdır. Kullanılan tablo ve şekillere metin içinde mutlaka atıf yapılmalıdır. Metin içinde geçen veriler tablo ve şekillerin tekrarı olmamalıdır. Tablo ve şekillerin başlıkları içerikleriyle uyumlu ve anlaşılabilir olmalıdır. Şekiller ve resimlerin yüksek çözünürlükte olmasına dikkat edilmelidir. Resimler (ve gerekliyse Şekiller) *.jpg formatında metin içerisinde yer almalıdır.

9. Metin içerisinde atıflar köşeli parantez içerisinde rakamlarla yapılmalı [1] ve Kaynaklar bölümünde bu numara sırasıyla detayları yazılmalıdır. Kaynakların numaralandırılması MS Word Numaralandırma Kitaplığı kullanılarak yapılmalıdır.

10. Kullanılan matematiksel denklemler numaralandırılmalı ve metin içerisinde bu denklemlere atıf yapılmalıdır.

11. Kaynaklar kısmı APA yazım stili kullanılarak hazırlanmalıdır. Kaynakların yazımında aşağıdaki örnek yazım biçimleri kullanılmalı ve makalelerin yayımlandığı dergi isimleri kısaltma kullanılmadan ve italik olarak yazılmalıdır. Web adreslerine atıf yapılacağına (mümkün olduğunca Resmi web sayfalarına atıf yapılmalıdır) mutlaka ilgili web adresine erişim tarihi verilmelidir.

Makale

- [1] Bozkurt, H., İçier, F. (2009). İnegöl köfte üretiminde ohmik pişirmenin uygulanabilirliğinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 9(1), 6-12.

Kitap

- [2] Kılıç, S. (2001). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.

Kitap Bölümü

- [3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.

Kongre-Sempozyum Bildirisi

- [4] Gürsoy, O., Akdemir, O., Hepbaşı, A., Kınık, Ö. (2004). Recent situation of energy consumption in Turkey dairy industry. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. Hakem görüşleri doğrultusunda düzeltilmek üzere yazar(lar)a gönderilen çalışmaların gerekli düzeltmeleri yapılarak yayın ofisine ulaştırılması gereklidir. Editörler tarafından belirtilen süre zarfında gönderilmeyen çalışmalar "ilk defa gönderilmiş çalışma" olarak değerlendirilecektir.

13. Yukarıdaki kurallara uygun olarak hazırlanmamış çalışmalar değerlendirmeye alınmaz.

Guidelines to Authors

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) is a peer reviewed journal where original research and review articles are published in the field of food science and technology. Research notes, mini-reviews, opinions and letters to the editor are also considered for publication. The journal is published trimonthly and each volume is composed of 4 issues per year. Journal articles are published either in Turkish or English. Manuscripts in either good American or British English usage are accepted, but not a mixture of these.

Manuscripts for the Akademik Gıda® (Academic Food Journal) must be sent via the electronic article submission system, which can be located in the official website of the journal, www.academicfoodjournal.com. Manuscripts sent by e-mail are not considered for evaluation. For questions related to the electronic article submission system, contact the editor via e-mail at ogursoy@yahoo.com.

- Authors must specify the type of the manuscript (research articles, review articles, research briefs, mini-review articles, comments and letters to the editor).
- Authors should provide at least 3 potential referees and their contact information (mailing address, e-mail address and phone number).
- Manuscripts to be submitted should be free from any spelling or grammatical error.
- Authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.
- The editorial board is authorized to make necessary changes in manuscripts accepted for publication.

Peer review policy

Manuscripts pass through initial screening in the editorial office followed by internal review by Editors. After the first evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.

Publication fee

Akademik Gıda® (Academic Food Journal) welcomes article submissions and does not charge a publication fee.

Ethics Statement

Detailed information about journal publication policy, evaluation of manuscripts and ethical issues can be found in the Ethics Statement section.

Preparation of a manuscript

1. Manuscripts should be prepared in A4 size, and the text must be prepared in a single column format. The text must be double-spaced, and a single space should be left between paragraphs. All lines and pages must be continuously numbered.

2. The title must be 14pt Arial, bold, small letters and centered. A blank line should be left after the title, and the names of authors should be given in 10pt Arial and centered. In addition to each author's contact address, the phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be provided. If the institutions of the authors are different, superscript numbers should be used to indicate their addresses.

3. The headings (e.g. Abstract, Introduction, Materials and Methods etc.) must be 10pt Arial, and should be typed in bold capital letters. Each heading should appear on its own separate line. A blank line should be left after each heading. A list of keywords, a maximum of 5, should be provided below the abstract section of the manuscript.

4. The main text should be prepared in 9.5pt Arial.

5. Typical articles mainly consist of the following divisions: Title, Author Names, Addresses, Contact Information, Corresponding author's e-mail address, Abstract, Main text (Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions), Acknowledgements (if necessary), Abbreviations (if necessary) and References.

6. The abstract should not exceed 250 words, and the main purpose and method and the most significant result and conclusion should be presented in the abstract. The abstract should be prepared as a single paragraph, and should not include any citation.

7. Latin names in the text should be in italics, and names and abbreviations should follow international rules. If abbreviations that are not standard are unavoidable, they must be defined at their first mention in the text. Consistency of abbreviations throughout the article must be ensured. Internationally accepted rules and conventions must be followed, and the international

system of units (SI) must be used. If other units are mentioned, their equivalents in SI must be provided.

8. Table headings should be on the top of each table and figure captions below each figure. Each table or figure must be numbered consecutively in accordance with their appearance in the text. All figures and tables should be cited in the text. The data presented in the tables and figures should not be repeated in the text. Table headings and figure captions should be self-explanatory. Figures and pictures must be provided in high resolution, and pictures (and, if necessary figures) should be included in the text as *.jpg format.

9. References in the text should be cited in numbers in square brackets [1] and details of the citations must be provided in the Literature or References section with their respective numbers.

10. Mathematical equations should be numbered and cited in the text.

11. References should be given according to the APA manual of style. The following formats should be used for the details of cited references, and the journal names must be typed in italics. References to the Web addresses (if necessary, the official web pages should be preferred) must include full web address and the date of access.

Article

[1] Güzeler, N., Kaçar, A., Say, D. (2011). Effect of milk powder, maltodextrin and polydextrose use on

physical and sensory properties of low calorie ice cream during storage. *Akademik Gıda*, 9(2), 6-12.

Book

[2] Kilic, S. (2001). Lactic Acid Bacteria in Dairy Industry. Ege University Faculty of Agriculture Publications, Ege University Press, Bornova, Izmir, Turkey.

Book Chapter

[3] Gibson, G.R., Saavedra, J.M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. (1997). Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London, England, 212p.

Proceedings of the Congress-Symposium

[4] Gursoy, O., Akdemir, O., Hepbasli, A., Kinik, O. (2004). Recent situation of energy consumption in dairy industry in Turkey. *International Dairy Symposium: Recent Developments in Dairy Science and Technology*, May 24-28, 2004, Isparta, Turkey, Book of Proceedings, 10-16p.

12. A list of the corrections requested by the referees must be provided by the authors, and it must be sent to the editorial office.

13. Studies that are not prepared in accordance with the rules above will not be considered for evaluation.

Etik Beyanı

Akademik GIDA®, gıda bilimi ve teknolojisi alanında orijinal araştırma ve derleme makalelerinin yayınlandığı hakemli bir dergidir. Dergi üç ayda bir Sidas Medya Ltd. Şti. (Çankaya, İzmir, Türkiye) tarafından yayınlanmaktadır. Derginin genel bilimsel kalitesini iyileştirmek için yayıncı tarafından aşağıdaki yönergeler belirlenmiştir.

Yayın Politikası

Akademik Gıda dergisine gönderilen tüm makaleler Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları için Davranış Kurallarında ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) belirtilen Genel Kılavuzlara uygun olarak değerlendirilmektedir. Bilimsel yazılar dergiye gönderilmeden önce derginin Yazım Kurallarının okunmasını önemle tavsiye ederiz. Yazarlar aynı zamanda Avrupa Bilim Editörleri Birliği'nin (EASE) ([European Association of Science Editors](#)) İngilizce olarak basılacak makaleler için "Bilimsel Makalelerin Yazarları ve Çevirmenleri İçin Rehber"e uymalıdır. Yazarlar, insan veya hayvan verilerini içeren araştırmaları için Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([International Committee of Medical Journal Editors](#)) önerilerini takip etmelidir.

Makalelerin Değerlendirilmesi

Dergiye gönderilen tüm makaleler, bilimsel içeriklerinin özgünlüğü ve kalitesi ölçütlerine göre değerlendirilir.

- Dergiye gönderilen tüm yazılar, ilk olarak yayın ofisindeki (teknik ve genel kalite değerlendirilmesi açısından) eleme işleminden geçer ve ardından teknik ve bilimsel editörler tarafından değerlendirilir.
- İlk değerlendirmeden sonra, editörler (i) dergi kapsamı dışında kalan bir konu hakkında hazırlanmış makaleleri (ii) teknik olarak eksik/yetersiz makaleleri, (iii) kısmi ve marjinal artan sonuçları içeren makaleleri veya (iv) kötü yazılmış makaleleri reddetme hakkına sahiptir.
- İlk inceleme sonucunda makalenin ileri değerlendirme için uygun olduğuna karar verilirse, dergide yayımlanmak üzere kaliteli makalelerin seçimini yapmak amacıyla, makaleler çift-körlü (hakemin ve yazar/yazarların birbirlerini görmedikleri) değerlendirme sistemi ile en az iki bağımsız hakemden oluşan bir değerlendirme sürecinde bilimsel incelemeye alınır.
- Hakemler tarafından talep edilirse, makalenin hakem görüşleri doğrultusunda yazarlar tarafından revize edilmiş versiyonu orijinal hakemler tarafından tekrar değerlendirilir. Değerlendirmelerin ardından

editörler hakem önerileri doğrultusunda makale hakkındaki nihai kararlarını verirler. Gerekirse editörler, hakemlerin istedikleri tüm şartların yerine getirilmesi için yazarlardan ilave revizyon isteyebilir.

- Kabul edilen makalelerin son versiyonu, yayın öncesi taslağın (galley proof) hazırlanması için teknik editörlere gönderilir. Yazarlardan, makalelerinin dizgisi hazırlanmış taslaklarını son kontrol için yayın öncesinde incelemeleri istenir.
- Tüm makaleler, nihai formlarında DOI numarası almış ve çevrimiçi olarak pdf dosyaları halinde yayımlanır. İlgili veritabanlarında bu şekilde indekslenir.

Yayın Ücreti

Akademik Gıda dergisinde makalelerin yayınlanması için herhangi bir yayın ücreti talep edilmemektedir.

Gizlilik

Editörler, Akademik Gıda'ya gönderilen tüm makaleleri tam bir gizlilikle ele alır. Editörler, hakemler haricinde, COPE tavsiyelerine uyulmadığı takdirde, üçüncü şahıslara makale ile ilgili hiçbir bilgi vermezler. Yayımlanmak üzere dergiye gönderilen makaleler hakemler için de gizlidir ve bilimsel değerlendirme için aldıkları makalelerin herhangi bir bölümünü üçüncü şahıslarla paylaşmalarına veya dağıtmalarına izin verilmez. Suiistimal şüphesi olduğunda, hakemlerin derhal gizli bir şekilde yayın ofisine başvurmaları önerilir. Hakemler ayrıca, Dergi Editörleri için Davranış Kuralları ve En İyi Uygulama Kuralları ile Dergi Yayıncıları için Davranış Kuralları'nı ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederek editöre gizli yorumlarında belirli bir eylem önerebilirler.

Akademik Gıda, çift-kör bir hakem inceleme süreci yürütür, yani çalışmanın eleştirel değerlendirmesini sağlamak için hakemlerin isimleri gizlidir. Hakemlerden, raporlarında adlarını veya irtibat bilgilerini açıklamamaları istenir. Hakem raporları yazarlara gönderilemeden önce bu açıdan kontrol edilir.

Yazarlık

Bir yazar, bir araştırmanın fikrine veya tasarımına, verilerin elde edilmesine, verilerin analizine veya yorumlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunan, makalenin hazırlanmasında, yazılmasında veya gözden geçirilmesinde entelektüel içeriğe eleştirel katkı yapan bireydir. Katkıda bulunanlar diğer kişiler makalenin Teşekkür bölümünde belirtilmelidir ve çalışmanın yazarı olarak kabul edilemez. Tüm yazarların doğru ve tam isimleri ile ORCID kimlikleri dergiye gönderilen

makalenin başlık sayfasında yer almalıdır. Yazarların isimlerinin yanında çalıştıkları kurumlar ve yazışmalardan sorumlu yazarın geçerli bir adresi verilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazarın telefon ve faks numaraları ile e-posta adresi makalenin ilk sayfasında belirtilmelidir. Tüm yazarlar, gönderilen makalenin daha önce herhangi bir yerde yayınlanmadığını ve makale hakkında Akademik Gıda dergisi nihai bir karar vermeden önce makaleyi başka bir dergiye göndermeyeceklerini garanti etmelidir.

Destekleyen/Finans Sağlayan Kuruluşlar

Araştırmanın tüm finans kaynaklarına ilişkin detaylar, Teşekkür bölümünde belirtilmelidir. Yazarlar, resmi finansman kurum/larının tam isimlerini ve proje/hibe numaralarını belirtmelidir.

Yazarlarda Değişiklik

Makalenin Akademik Gıda'ya sunulmasından sonra yazar isimlerinde değişiklik ancak revizyon sırasında gerekli olan ek çalışmalar durumunda olabilir. Makalenin yayına kabul edilmesinden sonra herhangi bir değişikliğe izin verilmez. Yazarlıktaki değişiklik, hakem görüşlerine verilen cevaplar sırasında yazışmalarda belirtilmeli ve tüm yazarlar tarafından kabul edilmelidir. Yazışmalardan sorumlu yazar, yazarların sırası da dahil olmak üzere makalenin revize edilmiş versiyonundaki değişikliklerden sorumludur.

Çalışma Verilerinde Düzeltme

Yayınlanan verilerin doğruluğundan tüm yazarlar sorumlu olmalıdır. Verilerin düzeltilmesi için, yazışmalardan sorumlu yazardan yayın öncesi taslağı (galley proof) incelemesi ve makalenin yayınlanmasından 4 gün önce dikkatlice düzeltilmesi istenir.

Makalenin Geri Çekilmesi

Bir makalenin geri çekilmesi, gönderim veya yayın hatalarını düzeltmek için kullanılır. Yazarlar makaleyi geri çekebilir ve bu durumda Yayın Etiği Komitesi (COPE) Geri Çekme Kurallarına [(COPE) retraction guidelines] uymalıdır. Tekrarlanan veya benzerlik oranı yüksek bir yayın, verilerin hileli kullanımını, intihal veya etik dışı araştırma yapılması durumunda, makale editör tarafından geri çekilecek ve geri çekilen makale linklerine bağlantı korunacak ancak elektronik veri tabanına (makale sayfasına) bir geri çekme bildirimi eklenecektir.

Etik Hususlar

Çıkar çatışması:

- Yazar/lar başvuru sırasında herhangi bir çıkar çatışması varsa beyan etmelidir. Yazar/ların başvuru sırasında bilimsel değerlendirme için en az üç potansiyel hakem önermeleri istenir. Önerilen hakemler çalışma arkadaşları, ortak çalıştıkları kişiler veya çalıştıkları kurumların üyeleri olamazlar.
- Hakemler makaleyi değerlendirmelerini önleyen herhangi bir çıkar çatışması olması durumunda

Editörleri bilgilendirmesi ve bu konuda COPE kurallarına uyması tavsiye edilmektedir.

- Editörler Kurulu üyeleri veya kurul üyelerinin ortak çalıştıkları kişiler tarafından dergiye gönderilen makaleler için, değerlendirme sırasındaki önyargıları en aza indirmek amacıyla, değerlendirme süreci ilgili kurul üyelerini dışarıda tutacak şekilde değiştirilerek uygulanır.
- Düzeltmeler (revizyonlar) sırasında, editörler Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzu ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip ederler.

İnsan denekleri, hayvan veya bitki içeren araştırmalar

- Araştırmanın insan denekleri veya hayvanları içermesi durumunda, yazarların Uluslararası Tıp Dergisi Editörleri Komitesinin ([the International Committee of Medical Journal Editors](#)) yönergelerini izlemeleri önerilir.
- İnsan denekleri içeren çalışmalarda, deneklerin çalışmaya katılmak için imzaladıkları onamlar yazarlar tarafından sağlanmalıdır. 18 yaşın altındaki deneklerin çalışmaya katılmaları için ebeveyn veya velileri tarafından izin verilmelidir.
- Test edilen tüm denekler için, makalenin, ilgili kurallara ve/veya uygun izinlere veya lisanslara uyumunu gösteren belgelerin sunulması gerekir.
- Hayvanlar üzerinde yapılacak her türlü araştırma kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalı ve etik kurul tarafından onaylanmalıdır.
- Bitki materyallerinin toplanması dahil, bitkiler üzerinde yapılan deneysel araştırmalar, kurumsal, ulusal veya uluslararası kurallara uygun olmalıdır.
- Saha çalışmaları yerel mevzuata uygun olarak yapılmalı ve uygun izinleri ve/veya lisansları belirten bir açıklama makalede yer almalıdır.

Yayın suistimali

- Akademik Gıda dergisi, Dergi Editörleri İçin Davranış Kuralları ile En İyi Uygulama Kılavuzları ve Dergi Yayıncıları İçin Davranış Kurallarını ([Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#)) takip eder.
- Makalenin aynı anda birden fazla dergiye gönderilmesi, intihal, yayınlanmış makalenin yeniden yayınlanması, etik kuralların ihlali vb. şüpheli bir suistimal durumunda, araştırmacılar, hakemler veya okuyucular Yayın Ofisi (ogursoy@yahoo.com) ile iletişime geçmeye teşvik edilir.
- Makaledeki benzerlik oranı tek bir kaynaktan %10'dan fazla olmamak üzere en fazla %25 ile sınırlandırılmıştır. Bu koşula uymayan makaleler reddedilir. Bu şartların ihlal edilmesi durumunda, COPE ([COPE recommendations](#)) tavsiyeleri izlenecek ve ilgili tüm taraflara bildirilecektir.

Telif Hakkı

Akademik Gıda, yayınlanan bütün makalelere orijinal eserin uygun şekilde belirtilmesi ve ticari amaçlarla kullanılmaması şartıyla, herhangi bir ortamda kullanılmasına, dağıtılmasına ve çoğaltılmasına izin veren "Creative Commons Attribution 4.0 CC BY-NC" lisansını ([Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)) tüm yayınlanmış makalelere uygular. Yayınlanmadan önce, Telif Hakkı Devir Formu yazışmalardan sorumlu yazar tarafından imzalanmalı ve derginin yayın ofisine gönderilmelidir. Yayınlanan yazıların telif hakkı Sidas Medya Limited Şirketi'ne (Çankaya, İzmir) aittir. Yazarlar, yayınladıkları makaleleri serbestçe ve ticari olmayan amaçlarla, bütünlüğü korunduğu ve yazarları, alıntı detaylarını ve yayıncıları açıkça belirtildiği sürece kullanma hakkına

sahiptir. Bireysel kullanıcılar, yazarların fikri ve ahlaki haklarının, saygınlığının ve bütünlüğünün tehlikeye atılmaması şartıyla, Akademik Gıda'da yayınlanan yazılara erişebilir, indirebilir, kopyalayabilir, görüntüleyebilir ve uyarlayabilir. Kullanıcılar herhangi bir yeniden kullanımın, sahiplerin telif hakkı politikalarına uygun olmasını sağlamalıdır. Yayınlanan yazıların içeriği, ticari olmayan araştırma ve eğitim amaçlı kopyalanır, indirilir veya başka bir şekilde yeniden kullanılırsa, uygun şekilde bir atıf yapılmalı ve ilgili makaleye bir link [yazarlar, dergi unvanı, el yazması adı, cilt, yıl ve sayfa numaraları ve yayınlanan link] Derginin web sitesinde sürüm] sağlanmalıdır. Telif hakkı bildirimleri ve feragatnameler silinmemelidir.

Ethics and Publication Malpractice Statement

Akademik GIDA® is a peer-reviewed journal where original research and review articles are published quarterly by Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey) in the field of food science and technology. In order to improve the overall scientific quality of the journal, following guidelines have been established by the publisher.

Editorial Policy

General Guidelines stated in the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#) are followed by all papers submitted to Academic GIDA. Prior to submission, authors are highly recommended to read the [Journal's Instructions to Authors](#). Authors should also follow the [European Association of Science Editors \(EASE\) Guidelines for Authors and Translators of Scientific Articles to be Published in English](#). For any research involving human or animal data, the recommendations of the [International Committee of Medical Journal Editors](#) should be followed by the authors of the manuscripts.

Peer Review

All contributions are evaluated according to the criteria of originality and quality of their scientific content.

- All manuscripts pass through an initial screening process (technical and overall quality evaluation) in the editorial office followed by an internal review by the technical and scientific editors.
- After the first evaluation, editors have the right to decline formal review of a manuscript if it is (i) on a topic outside the scope of the Journal, (ii) lacking technical merit, (iii) fragmentary and providing marginally incremental results or (iv) poorly written.
- If the manuscript is considered suitable for further evaluation, manuscripts are double-blind-reviewed by a peer review system involving at least two independent reviewers to ensure high quality of manuscripts accepted for publication.
- If requested, the revised version is evaluated by the reviewers, and editors make a decision about final acceptance based on their suggestions. If necessary, further revision can be asked for to fulfil all the requirements of the reviewers.
- The final version is then sent to the technical editor in order to produce a galley proof, and the authors receive this proof for final check before publishing.
- All manuscripts are posted online as pdf files in their final form, indexed in databases with the assigned DOI numbers.

Publication Fee

Akademik GIDA welcomes article submissions and does not charge any publication fee.

Confidentiality

Editors handle all papers submitted to Akademik GIDA in strict confidence. With the exception of reviewers, they do not disclose any information regarding submissions to third parties, unless in case of a suspected misconduct, where COPE recommendations are followed. Submissions are also confidential for reviewers and they are not allowed to share or distribute any part of the manuscripts which they receive for evaluation to third parties. For a case of suspected misconduct, reviewers are encouraged to contact the editorial office immediately in a confidential manner. Reviewers can also recommend a particular course of action in their confidential comments to the editor, following [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Akademik GIDA conducts a double-blind peer review process, i.e. the names of the reviewers are confidential to ensure the critical evaluation of the work. Reviewers are asked not to disclose their names or contact details in their comments for authors.

Authorship

An author is an individual who substantially contributed to the idea or design of a research, acquisition of data, analysis or interpretation of data, was involved in drafting, writing or revising the manuscript critically for important intellectual content. Other contributors should be mentioned in the Acknowledgements section of the manuscript and cannot be considered as authors of the study. Correct and full names of all authors and their [ORCID](#) IDs should be on the title page of the manuscript. Names of authors must be supplemented with their affiliations and a valid address of the corresponding author. The phone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be stated in the first page of the manuscript. All authors must guarantee that the submitted manuscript is not published anywhere previously and will not be submitted to anywhere before the editorial board makes a final decision on the manuscript.

Funding Sources

Details for all funding sources of the research should be stated in the Acknowledgements. Authors should provide

the full official funding agency name(s) and grant number(s).

Alteration in Authorship

Alteration in authorship after the submission of the manuscript to Akademik GIDA can be justified only by the additional work required during the revision. Any change is not allowed after the acceptance of the manuscript for publication. Alteration in authorship should be indicated in the responses to reviewers, and should be accepted by all authors. The corresponding author is primarily responsible for any alteration in the revised version of the manuscript, including the order of authors.

Correction of Data

All authors should be responsible for the accuracy of the published data. For the correction of data, the corresponding author receives the galley proof of the paper and is asked to correct it carefully within 4 days before publication.

Retraction of an Article

A retraction of an article is used to correct errors in submission or publication. Authors can retract the paper and should follow the Committee on Publication Ethics (COPE) [retraction guidelines](#). In case of a duplicate or overlapping publication, fraudulent use of data, plagiarism or unethical research, the paper will be retracted by the editor, and a retraction notice will be included into the electronic database while all links to the retracted article will be maintained.

Ethical Considerations

Conflict of interest:

- Authors should declare any conflict of interest in their submission form. Authors are requested to suggest at least three potential reviewers before submission, and these reviewers cannot be their colleagues, collaborators or members of their institutions.
- Reviewers should notify the editors on any conflict of interest which prevents them from reviewing the paper, and they are recommended to follow the [COPE guidelines](#).
- For the manuscripts submitted by the members of the Editorial Board or their collaborators, peer reviewing is modified to exclude them from the entire evaluation process in order to minimize any bias during the evaluation.
- During revision, the editors follow the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).

Research involving human subjects, animals or plants:

- If the research involves humans or animals, the authors are recommended to follow the guidelines of the [International Committee of Medical Journal Editors](#).

- In studies involving human subjects, their informed consent to participate in the study should be supplied by the authors. For subjects under the age of 18, their parents or guardians should give the permission for their participation in the study. For all tested subjects, the manuscript must accompany with a statement detailing compliance with relevant guidelines and/or appropriate permissions or licenses.
- Any research on animals must comply with institutional, national or international guidelines and, where possible, should be approved by an ethics committee.
- Any experimental research on plants, including collection of plant materials, must comply with institutional, national, or international guidelines.
- Field studies should be conducted in compliance with local legislation, and a statement specifying the appropriate permissions and/or licences should be included in the manuscript.

Publication misconduct:

- The Journal follows the [Code of Conduct and Best Practice Guidelines for Journal Editors and Code of Conduct for Journal Publishers](#).
- In a case of a suspected misconduct such as redundant or duplicate submission, plagiarism, text recycling, violation of ethical norms, etc., researchers, reviewers or readers are encouraged to contact the Editorial Office (ogursoy@yahoo.com).
- The overlapping in the manuscript is highly restricted to the maximum of 25% with no more than 10% from a single source; otherwise, the manuscript will be rejected. If these terms are violated, COPE recommendations will be followed and all parties involved will be notified.

Copyright

Akademik GIDA applies the [Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 CC BY-NC license](#) to all published papers, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes. Before publication, the [Copyright Transfer Form](#) must be signed by the corresponding author and returned to the editorial office of the journal. Copyright of published papers is retained by the Sidas Media Agency Advertisement Consultation Ltd. (Cankaya, Izmir, Turkey). Authors have the right to use their published article freely and in noncommercial purposes, as long as its integrity is maintained and its original authors, citation details and publisher are clearly stated. Individual users may access, download, copy, display, and adapt the manuscripts published in Akademik GIDA, provided that the authors' intellectual and moral rights, reputation and integrity are not compromised. Users must ensure that any reuse complies with the copyright policies of the owners. If the content of the published manuscripts is copied, downloaded or otherwise reused for noncommercial research and educational purposes, a link to the appropriate bibliographic citation (authors, journal title, manuscript title, volume, year and page

numbers, and the link to the published version on the [Journal's website](#) should be provided. Copyright notices and disclaimers must not be deleted.

Fevzipaşa Blv. Çelik İş Merkezi No:162 K:3 D:302 Çankaya / İZMİR
Tel: +90 232 441 60 01 Fax: +90 232 441 61 06 E-mail: sidasmedya@gmail.com

SIDAS MEDYA